

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI ÇEREZLİK KABAKLARIN (Cucurbita pepo L.)
MOLEKÜLER MARKÖRLER İLE İNCELENMESİ

NESLİHAN EL
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

GEBZE
2022

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI ÇEREZLİK KABAKLARIN
(*Cucurbita pepo* L.) MOLEKÜLER
MARKÖRLER İLE İNCELENMESİ

NESLİHAN EL
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMANI
DOÇ. DR. FUNDA ŞENTÜRK AKFIRAT

GEBZE
2022

T.R.
GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

**INVESTIGATION OF DIFFERENT
PUMPKIN (*Cucurbita pepo* L.)
POPULATIONS WITH MOLECULAR
MARKERS**

NESLİHAN EL

**A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS**

**THESIS SUPERVISOR
ASSOC. PROF. FUNDA ŞENTÜRK AKFIRAT**

**GEBZE
2022**



YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 16/06/2022 tarih ve 2022/29 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 23/06/2022 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Neslihan EL'in tez çalışması MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI)

: Doç. Dr. Funda ŞENTÜRK AKFIRAT

ÜYE

: Prof. Dr. Meltem YEŞİLÇİMEN AKBAS

ÜYE

: Doç. Dr. Aysun ÇAVUŞOĞLU

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

...../...../..... tarih ve/..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR

ÖZET

Cucurbita pepo L., dünyanın her yerinde yetiştirilen yaklaşık 130 türden oluşan *Cucurbitaceae* familyasına aittir. *Cucurbita* cinsi içerisinde bulunan *C. maxima* Duch., *C. moschata* Pour ve *C. pepo* L. kabak türlerinin tohumlarının çerez olarak tüketilmesi yaygındır. Moleküler markörler; genetik haritalama, yeni geliştirilen çeşitlerin koruma altına alınması, genetik akrabalıkların belirlenmesi ve ıslah programında kullanılacak ebeveynlerin belirlenmesinde kullanılır. Bu çalışmada 14 lokasyondan sağlanan 81 adet çerezlik kabak genotipinde RAPD, kloroplast ve transpozon markörleri ile genetik çeşitlilik incelenmiştir. 10 RAPD, 8 kloroplast, 25 transpozon primerinden lokus büyüklükleri 110-3280 bp arasında değişen 463 alel üretilmiştir. RAPD, kloroplast ve transpozon markörleri için ortalama polimorfizm oranları sırasıyla %75.49, %35 ve %86.26, PBI ise 0.65-0.94 değerleri arasında bulunmuştur. POPGENE (Nei'nin genetik mesafe hesaplaması) ve XLSTAT (Jaccard's Coefficient Yöntemi) istatistiksel analiz programları ile kabak genotiplerine ait genetik uzaklık ve genetik benzerlik mesafe matrisleri oluşturulmuştur. Nei'nin genetik mesafe hesaplamasına göre genetik benzerlik 0.52-0.85 değerleri arasında, genetik uzaklık ise 0.16-0.65 değerleri arasında iken Jaccard's yöntemine göre genetik benzerlik 0.42-0.79 değerleri arasındadır. NTSYS-pc versiyon 2.02i ile programı kabak genotiplerinin dendrogramı çizilmiştir. Bu yüksek lisans tez çalışması kabak genotiplerinde 25 adet transpozon primer kombinasyonunun bir arada kullanıldığı ilk çalışmadır. Araştırma sonuçlarının, ıslahta kullanılacak ebeveynlerin seçilimi, mevcut çerezlik kabak yetiştiriciliği ve genetik kaynaklarının korunması konularında katkısı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Moleküler markör, *Cucurbita pepo* L., RAPD, Kloroplast, Transpozon.

SUMMARY

Cucurbita pepo L. belongs to the *Cucurbitaceae* family, which consists of about 130 species cultivated all over the world. It is common to consume the seeds of *C. maxima* Duch., *C. moschata* Pour and *C. pepo* L. pumpkin species in the *Cucurbita* genus as snacks. Molecular markers are used in genetic mapping, protection of newly developed varieties, determination of genetic relatedness and identification of parents to be used in breeding programs. In this study, genetic diversity was investigated with RAPD, chloroplast and transposon markers in 81 pumpkin squash genotypes from 14 locations. From 10 RAPD, 8 chloroplast, 25 transposon primers, 463 alleles with locus sizes ranging from 110-3280 bp were generated. Mean polymorphism rates for RAPD, chloroplast and transposon markers were found to be 75.49%, 35% and 86.26% and PBI values between 0.65-0.94% respectively. Genetic distance and genetic similarity distance matrices of pumpkin genotypes were created with POPGENE (Nei's genetic distance calculation) and XLSTAT (Jaccard's coefficient method) statistical analysis programs. According to Nei's genetic distance calculation, genetic similarity is between 0.52-0.85 values, genetic distance is between 0.16-0.65 values, while genetic similarity is between 0.42-0.79 values according to Jaccard's method. Dendrogram of pumpkin genotypes was drawn with NTSYS-pc version 2.02i. This master's thesis is the first study in which 25 transposon primer combinations were used together in these genotypes. It is thought that the results of the research will contribute to the selection of parents to be used in breeding, the cultivation of existing pumpkin and the protection of genetic resources.

Keywords: Molecular marker, *Cucurbita pepo* L., RAPD, Chloroplast, Transposon.

TEŞEKKÜR

Bu yüksek lisans tez çalışmam sırasında başta kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan, yardımlarını, fikirlerini ve bilgilerini esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Funda ŞENTÜRK AKFIRAT'a saygı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmam boyunca yanımda olan ve tecrübelerini benimle paylaşan sevgili laboratuvar arkadaşım Şeyma Tuğçe HAKÇI'ya ve aynı ofisi paylaştığım sevgili Dr. P. Hülya AKDEMİR KOÇ'a bütün desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasına kabak çalışma örnek materyallerini sağlayan Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Koordinatörü sayın Göksel EVCİ'ye teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Gebze Teknik Üniversitesi, Temel Bilimler Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bitki Moleküler Sistematiği Laboratuvarında tamamlanmış ve GTÜ Bilimsel Araştırma Birimi (BAP) tarafından desteklenen 2021-A101-12 nolu araştırma projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen her zorlukta yanımda olan değerli ev arkadaşlarım Serap SAKARYA, Tuğçe ARIT, İlkay İLHAN, Buse Nur URAL'a ve yüksek lisans eğitimim boyunca her daim yanımda olan Gülcan AKKÖK ve Hilal CİVELEK'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan annem Ayşe EL, babam Ali EL, abim Necip Fazıl EL, teyzem Havva DOKUR ve kuzenlerim Ayşegül DOKUR, Hatice DOKUR ve Fatmagül DOKUR'a sonsuz teşekkürler ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1. Kabağın Bilimsel Sınıflandırılması ve Genel Özellikleri	4
2.2. Türkiye’de ve Dünyada Kabağın Üretimi	6
2.3. Kabak Bitkisinin Kökeni	8
2.4. Kabağın Besinsel Kullanımı	8
2.5. Kabağın Yetiştirme Koşulları	9
2.6. Moleküler Markörler	10
2.6.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	11
2.6.2. RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA- Rastgele Çoğaltılmış DNA)	12
2.6.3. Kloroplast Markörler	13
2.6.4. Tranpozon Markörler	14
3. MATERYAL VE METOT	18
3.1. Materyal	18
3.1.1. Kullanılan Bitki Materyali	18
3.1.2. Moleküler Markörler	20
3.1.2.1. RAPD Primerleri	20
3.1.2.2. Kloroplast Primerleri	20
3.1.2.3. Transpozon Primerleri	21
3.2. Metot	22

3.2.1. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlama Yöntemleri	22
3.2.2. Moleküler Analizler	24
3.2.2.1. DNA İzolasyonu	24
3.2.2.2. Genomik DNA Konsantrasyon ve Kalitesinin Belirlenmesi	25
3.2.3. RAPD, Kloroplast ve Transpozon Primer Analizleri	25
3.2.3.1. Agaroz Jel Elektroforezi	27
3.2.3.2. Bantların Skorlanması	28
3.2.3.3. Primerlerin Polimorfizm Oranlarının Belirlenmesi	28
3.2.3.4. Primerlerin Polimorfizm Bilgi İçeriklerinin (PBI) Belirlenmesi	29
3.2.4. Verilerin İstatistiksel Analizi	29
4. SONUÇLAR	31
4.1. DNA İzolasyon Sonuçları	31
4.2. RAPD, Kloroplast ve Transpozon Analizleri	32
4.2.1. Moleküler Markör Analiz Sonuçları	32
4.2.2. RAPD Markörü Analizi Sonuçları	34
4.2.2.1. RAPD Verilerine Dayalı Kümeleme Analizi	36
4.2.2.2. RAPD Verilerine Dayalı Temel Bileşen Analizi	41
4.2.3. Kloroplast Markör Analizi Sonuçları	42
4.2.3.1 Kloroplast Verilerine Dayalı Kümeleme Analizi	45
4.2.3.2. Kloroplast Verilerine Dayalı Temel Bileşen Analizi	49
4.2.4. Transpozon Markör Analizi Sonuçları	50
4.2.4.1. Transpozon Verilerine Dayalı Kümeleme Analizi	54
4.2.4.2. Transpozon Verilerine Dayalı Temel Bileşen Analizi	58
4.2.5. RAPD, Kloroplast ve Transpozon Verilerine Dayalı Kümeleme Analizi	59
4.2.5.1. RAPD, Kloroplast ve Transpozon Verilerine Dayalı Temel Bileşen Analizi	65
5. TARTIŞMA	67

5.1. Moleküler Markörlerde Bant Analizi	67
5.1.1. RAPD Marköründe Bant Analizleri	67
5.1.2. Kloroplast Marköründe Bant Analizi	69
5.1.3. Transpozon Marköründe Bant Analizi	70
5.2. Kümeleme Analizleri	71
 KAYNAKLAR	 76
ÖZGEÇMİŞ	82
EKLER	83
Diğer Ekler (CD)	83



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve</u>	<u>Açıklamalar</u>
<u>Kısaltmalar</u>	
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
AFLP	: Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism)
Bp	: Baz çifti
Ca	: Kalsiyum
cpDNA	: Kloroplast DNA
CTAB	: Cetyl Trimethylammonium Bromide
dk.	: Dakika
dH ₂ O	: Distile su
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksi-Nükleotid Trifosfat
EDTA	: Etilen diamin tetraasetik asit
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
G	: Gram
gDNA	: Genomik DNA
H	: Hidrojen
HCl	: Hidrojen klorür
Hz	: Hertz
IRAP	: Retrotranspozonlar Arası Güçlendirilmiş Polimorfizm (Inter-retrotransposon amplified polymorphism)
ISSR	: Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizmi (Inter-Simple Sequence Repeats)
L	: Litre
LTR	: Uzun Uç Tekrar Dizileri (Long Terminal Repeat)
M	: Molar
MAS	: Markör destekli seçim

Mb	: Mega Baz Çifti
Mg	: Miligram
ml	: Mililitre
Mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
NaAc	: Sodyum Asetat
NaCl	: Sodyum klorür
Ng	: Nanogram
NTSYS	: Sayısal Taksonomi ve Çok Değişkenli Analiz Sistemi
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
P	: Fosfor
PBI	: Polimorfizm Bilgi İçeriği
PCA	: Temel Bileşen Analizi
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
QTL	: Kantitatif Karakter Lokusu
Rpm	: Dakikada devir sayısı
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış DNA (Randomly Amplified Polymorphic DNA)
RBIP	: Retrotranspozon Bazlı Ekleme Polimorfizmi (Retrotransposon-based insertional polymorphism)
REMAP	: Retrotranspozon-Mikrosatelit Güçlendirilmiş Polimorfizm (Retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism)
RFLP	: Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism)
R-RAP	: RAPD-Retrotranspozon Kuvvetlendirilmiş Polimorfizm (Randomly amplified polymorphic DNA-Retrotransposon amplified polymorphism)
Sn	: Saniye
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism)
S-SAP	: Diziye Özgü Güçlendirilmiş Polimorfizm (Sequence-specific amplified polymorphism)
SSR	: Basit Dizi Tekrarları Polimorfizmi (Simple Sequence Repeats)
Ta	: Bağlanma Sıcaklığı

TE	:	Hareketli Elemanlar, transpozon, (Transposable elements)
TE	:	Tris-EDTA Tamponu
TIR	:	Ters Çevrilmiş Tekrarlar (Terminal Inverted Repeat)
TBE	:	Tris-Borik Asit-EDTA
TÜİK	:	Türkiye İstatistik Kurumu
UPGMA	:	Aritmetik Ortalama ile Ağırlıklandırılmamış Çift Grup
UV	:	Ultraviyole
V	:	Volt
Zn	:	Çinko



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Kabağın çerezlik olarak kullanılan türleri	5
2.2: 2019 yılı ülkelere göre dünya kabak üretimi.	6
2.3: 2019-2020 yılı Türkiye sakız kabak üretimi.	8
2.4: Polimeraz zincir reaksiyonu ile DNA çoğaltımı.	12
2.5: RAPD markör analizi basamakları.	13
2.6: cpDNA'nın üç kodlanmayan bölgesini çoğaltmak için kullanılan evrensel primerlerin konumları ve yönleri.	14
2.7: Transposable elementlerin iki ana mekanizması.	15
2.8: LTR ve LTR olmayan transpozonlar.	16
3.1: Kabak bitki örneklerinin alındığı bölgeler.	19
3.2: CTAB yöntemiyle DNA izolasyon aşamaları.	25
3.3: Gradient PZR ile optimum bağlanma sıcaklığının belirlenmesi.	26
3.4 PZR cihaz görüntüsü.	26
4.1: Çerezlik kabak örneklerinin genomik DNA izolasyon jel görüntüsü.	31
4.2: 4 farklı transpozon primerine ait 42-46-50-55 °C'deki gradient PZR agaroz jel elektroforez görüntüsü.	33
4.3: Elde edilen markörlerin 100 bp DNA standartı kullanılarak Image Lab programı ile bant büyüklüklerinin tespit edilmesi.	34
4.4: OPH-18 primerinin agaroz jel elektroforezi sonucu.	35
4.5: RAPD markör verileri kullanılarak 81 adet kabak genotipinin UPGMA yöntemi ile oluşturulan dendrogramı.	38
4.6: 81 kabak genotipinde RAPD markör verileri ile oluşturulan 2D PCA sonuçları.	41
4.7: 81 kabak genotipinde RAPD markör verileri ile oluşturulan 3D PCA sonuçları.	41
4.8: B49317- A50272 (c-f) primerinin agaroz jel elektroforezi sonucu.	43
4.9: psbJ-petA primerinin agaroz jel elektroforezi sonucu.	44
4.10: Kloroplast markör verileri kullanılarak 81 adet kabak genotipinin UPGMA yöntemi ile oluşturulan dendrogramı.	47

4.11:	81 kabak genotipinde kloroplast markör sonuçları ile oluşturulan 2D PCA sonuçları.	49
4.12:	81 kabak genotipinde kloroplast markör sonuçları ile oluşturulan 3D PCA sonuçları.	50
4.13:	BARE -1-C0700 primerinin agoroz jel elektroforezi sonucu.	52
4.14:	Transpozon markör verileri kullanılarak 81 adet kabak genotipinin UPGMA yöntemi ile oluşturulan dendrogramı.	55
4.15:	81 kabak genotipinde transpozon markör sonuçları ile oluşturulan 2D PCA sonuçları.	59
4.16:	81 kabak genotipinde transpozon markör sonuçları ile oluşturulan 3D PCA sonuçları.	59
4.17:	RAPD, kloroplast ve transpozon markör verileri kullanılarak 81 adet kabak genotipinin UPGMA yöntemi ile oluşturulan dendrogramı.	61
4.18:	81 kabak genotipinde tüm moleküler markör sonuçları ile oluşturulan 2D PCA sonuçları.	65
4.19:	81 kabak genotipinde tüm moleküler markör sonuçları ile oluşturulan 3D PCA sonuçları.	66

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Kabak bitkisinin sistematigi ve sınıflandırılması.	4
2.2: 2019 yılı ülkelere göre dünya kabak üretimi.	6
2.3: 2004-2019 yıllarına göre Türkiye’de sakız ve çerezlik kabak üretim miktarı (Ton).	7
3.1: Araştırmada kullanılan <i>Cucurbita</i> sp. bitki materyalleri.	18
3.2: Çalışmada kullanılan RAPD primer dizileri.	20
3.3: Çalışmada kullanılan kloroplast primer dizileri.	20
3.4: Çalışmada tekli kullanılan IRAP primer dizileri.	21
3.5: Çalışmada ikili kullanılan IRAP primer dizileri.	22
3.6: dNTP mix. (2.5 µM) hazırlanması.	23
3.7: 2X Master mix. içeriği.	27
3.8: Her bir tüp için PZR Reaksiyon içeriği.	27
3.9: PZR reaksiyonunda kullanılan basamaklar ve süreleri.	27
4.1: Kabak DNA’larının spektrofotometrik ölçüm sonuçları ve saflık miktarları.	30
4.2: Kullanılan RAPD primerleri ile elde edilen polimorfizm bilgileri, alel boyutları ve bağlanma sıcaklıkları (Ta).	34
4.3: Kullanılan RAPD primerlerinin toplam ve polimorfik bant sayıları, polimorfizm oranları (%) ve polimorfizm bilgi içerikleri (PBI).	36
4.4: RAPD markörlerinin POPGENE ile en yüksek genetik benzerlik matriksi.	39
4.5: RAPD markörlerinin XLSTAT ile en yüksek genetik benzerlik matriksi.	39
4.6: RAPD markörlerinin POPGENE ile en düşük genetik benzerlik matriksi.	40
4.7: RAPD markörlerinin XLSTAT ile en düşük genetik benzerlik matriksi.	40
4.8: Kullanılan kloroplast primerleri ile elde edilen polimorfizm bilgileri, alel boyutları ve bağlanma sıcaklıkları (Ta).	42

4.9: Kullanılan kloroplast primerlerinin toplam ve polimorfik bant sayıları, polimorfizm oranları (%) ve polimorfizm bilgi içerikleri (PBI).	45
4.10: Kloroplast markörlerinin POPGENE ile en düşük genetik benzerlik matriksi.	48
4.11: Kloroplast markörlerinin XLSTAT ile en düşük genetik benzerlik matriksi.	49
4.12: Kullanılan transpozon primerleri ile elde edilen polimorfizm bilgileri, alel boyutları ve bağlanma sıcaklıkları (Ta).	50
4.13: Kullanılan kloroplast primerlerinin toplam ve polimorfik bant sayıları, polimorfizm oranları (%) ve polimorfizm bilgi içerikleri (PBI).	53
4.14: Transpozon markörlerinin POPGENE ile en yüksek genetik benzerlik matriksi.	56
4.15: Transpozon markörlerinin XLSTAT ile en yüksek genetik benzerlik matriksi.	56
4.16: Transpozon markörlerinin POPGENE ile en düşük genetik benzerlik matriksi.	57
4.17: Transpozon markörlerinin XLSTAT ile en düşük genetik benzerlik matriksi.	58
4.18: RAPD, kloroplast ve transpozon markörlerinin POPGENE ile en yüksek genetik benzerlik matriksi.	62
4.19: RAPD, kloroplast ve transpozon markörlerinin XLSTAT ile en yüksek genetik benzerlik matriksi.	63
4.20: RAPD, kloroplast ve transpozon markörlerinin POPGENE ile en düşük genetik benzerlik matriksi.	64
4.21: RAPD, kloroplast ve transpozon markörlerinin XLSTAT ile en düşük genetik benzerlik matriksi.	64

1. GİRİŞ

Çerezlik kabak yetiştiriciliğinin son yıllarda ülkemiz ve dünya genelinde yaygınlaşmaya başladığı bilinmektedir. Kabak yetiştiriciliğinde üretimin artmasındaki en önemli sebep olarak tohumlarının uzun süreli saklama koşullarına uygun olması ve kabak bitkisinin yetiştirme masraflarının az olması söylenebilir [Altınok vd., 2019]. Ekonomik değerini gün geçtikçe artıran çerezlik kabağın ülkemizdeki en önemli ekim alanlarından birisi Trakya yöresidir. Genel karakter özelliği olarak çerezlik kabak ılık, sıcak bir iklim bitkisi ve yazlık bir sebzedir. Kabak bitkisinin daha çok olgunlaşma sonunda çerezlik olarak tüketilmesi yaygın olmakla birlikte sebze olarak tüketimi de olmaktadır [Durgut, 2008].

Kabakgillerin, *Cucurbitaceae* familyasında yer alan meyvesi yenen, tek yıllık bitkiler olduğu bilinmektedir. *Cucurbita* cinsi içerisinde *C. moschata* Pour (bal kabağı), *C. maxima* Duch. (Kestane kabağı) ve *Cucurbita pepo* L. (sakız kabağı), tohumları çerez olarak tüketilen yaygın kabak türleridir. Kabak yetiştiriciliğinde öncelikli tercih edilen *C. pepo* 'nun anavatanı, Kuzey ve Orta Amerika, Meksika'nın yüksek kesimleri, olarak bildirilmiştir. Sakız kabağı ise Yunanistan'dan Trakya yöresine giriş yaparak ülkemiz geneline yayılmıştır [Altınok vd., 2019].

Markör, kısaca tanımlanan DNA'nın bir parçasıdır. Moleküler markörlerin morfolojik markörlere göre çok daha fazla polimorfik lokusa sahip olduğu bilinmektedir. Bitkisel karakterleri kontrol eden genlerle ilişkileri vardır ve basit kalıtım gösterirler. Moleküler markörler iki kategoride sınıflandırılırlar ve bunlar DNA markörleri ile biyokimyasal markörlerdir [Altun, 2006]. Genomda bulunan herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilişkili DNA parçaları moleküler markörlerdir. DNA molekülündeki polimorfik bölgelerin saptanmasında moleküler markör yöntemlerinin kullanılması yaygındır. Popülasyonda bir özelliğin ya da herhangi bir genin birden fazla formu varsa, o fenotipik özellik ya da gen polimorfik olarak kabul edilir. Polimorfizm, fenotipik özellikler, kromozomal yapı, DNA dizisi ya da amino asit dizisi gibi birkaç düzeyde bulunabilir. [Yorgancılar, 2015]. Moleküler markörler; QTL (Quantitative Trait Loci) analizleri, yeni geliştirilen çeşitlerin koruma altına alınması, genetik akrabalıkların belirlenmesi, genetik kaynağın tekrar organizasyonu, genetik haritalama, gen kaynaklarının karakterizasyonu, kültür çeşitlerinin tanımlanması, duplike olan genotiplerin belirlenmesi, tohumculukta safiyet analizleri,

genetik kaynağın yapısını anlama ve ıslah programında kullanılacak ebeveynlerin belirlenmesi alanlarında kullanılmaktadırlar.

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), tesadüfi bir DNA parçasının sentetik primerler ve PZR tekniği kullanılarak çoğaltılmasına dayanan bir metottur. Hem ileri hemde geri primer görevi gören tek bir primer kullanılır ve 0.5-5 kb arasında değişen büyüklükte DNA parçaları çoğaltılır [Filiz ve Koç, 2011]. Primerlerin bağlanma bölgelerindeki çeşitliliklerinden ve bu nedenle oluşan değişik uzunluktaki DNA parçacıklarından polimorfizm oluşur. RAPD markör tekniğinin avantajları arasında diğer tekniklere göre ucuz olma, az miktarda ve düşük kalitede DNA'ya ihtiyaç duyma, çabuk sonuç verme, otomasyona uygun olma ve az işi gücü gerektirme bulunur [Altun, 2006].

Bitkilerde nükleer, kloroplast ve mitokondriyal olmak üzere üç ayrı genom vardır. Kloroplast genomunun varlığı ilk olarak 1950'lerde keşfedilmiş ve daha sonra 1960'larda doğrulanmıştır. Filogenetik akrabalık ilişkilerini ortaya çıkarmada ve popülasyon genetiği çalışmalarında bitki organel genomları (mitokondriyal DNA ve kloroplast DNA) yaygın olarak kullanılmaktadır. Çoğu bitkide anneye bağlı olarak gerçekleşen organel genom kalıtımı, kloroplast ve mitokondri allelleri çekirdek allelleriye göre farklı bir genetik yapı sergilemektedir. Kloroplast genomlarından türetilen genetik markörler genellikle basit, tek ebeveyn kalıtımı gösterir, bu da onları popülasyonun genetik ve filogenetik çalışmaları için değerli kılar; bu özellik aynı zamanda transgen transferinin izlenmesini de kolaylaştırır [Woo, 2013].

Transpozonlar genom içinde bir yerden başka bir yere gidebilen tekrar dizileridir ve etki şekillerine göre iki ana gruba ayrılırlar. Ara RNA'lar yoluyla çoğalıp yeni genom bölgelerine giren ve kes-yapıştır mekanizmasını kullanan transpozonlar Sınıf I (veya retrotranspozonlar) olarak adlandırılırlar. Ara bir RNA kullanmayıp genom içinde kendi yerinden çıkıp başka bir konuma yine kes-yapıştır mekanizmasını kullanan transpozonlar ise Sınıf II (veya DNA transpozonları) olarak adlandırılır. Bazı moleküler markör sınıfları transpozon elementlerin bolluğunu ve polimorfizmlerini kullanarak geliştirilmiştir. Bu markörlerin büyük bir kısmı transpozon elementlerin insersiyon bölgelerini kullanır ve bu insersiyonlar içine girdikleri DNA dizileri arasındaki sınırlarda oluşan eşsiz birleşme bölgelerinden oluşur. Transpozonlar, özellikle de uzun bitiş tekrarları "long terminal repeat" (LTR) retrotranspozonlar, bitki genomlarının yüksek bir yüzdesini oluştururlar. "Kes-yapıştır" mekanizmasından

dolayı retrotranspozonlar; RNA ara aşaması ile bir genomda, farklı yerlere girebilmekte ve mutasyonlara neden olabilmektedirler.

Bu yüksek lisans tez çalışması, 27 adet farklı popülasyondan (Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen) oluşan *Cucurbita moschata*, *Cucurbita pepo* ve *Cucurbita maxima* türlerine ait genotiplerin aralarındaki moleküler farklılık ve benzerliklerini saptamak amacıyla RAPD, transpozon ve kloroplast markörleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Geleneksel ıslah çalışmalarında hedefe yönelik çeşitlerin oluşturulmasındaki seçimlerde ve yeni popülasyonların oluşturulmasında başarı şansının arttırılmasına bu çalışmadan elde edilecek moleküler veriler de ayrıca yol gösterici olacaktır. Bu yüksek lisans çalışma sonuçlarının, mevcut çerezlik kabak yetiştiriciliğine ve genetik kaynakların korunmasına yardımcı olacağı düşünülmektedir. Bunun yanı sıra yapılan tüm çalışmalar, ileriki çalışmalar için markörlerin seçilmesi, genetik kaynağın karakterizasyonu, çerezlik kabak kaynak seçiminde karar vermede yol gösterebilecektir. Ayrıca, bu çalışmada çerezlik kabak popülasyonlarında bu üç tip markörü kullanılarak elde edilen veriler ile kısa bir süre içinde gözlenebilen genetik benzerlik ve akrabalık verilerinin, ilgili araştırma enstitüleri ile paylaşarak sahip olduğumuz genetik çeşitlilik bilgisinin bu bitkinin ıslah çalışmalarında kullanılır birer bilgi haline gelmesi mümkün hale gelmiş olacaktır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Kabağın Bilimsel Sınıflandırılması ve Genel Özellikleri

Plantae alemi *Cucurbitales* takımı *Cucurbitaceae* familyasında yer alan tek yıllık meyvesi yenen bitkilere kabakgiller denir ve bu aile içerisinde bulunan türler ise Cucurbits olarak adlandırılır (Tablo 2.1). Kabakgillerin tropik kökenli ve sıcak illim bitkileri olduğu bilinmektedir [Altınok vd., 2019], [Coşkun vd., 2016].

Tablo 2.1: Kabak bitkisinin sistematigi ve sınıflandırılması.

Alem	Bölüm	Sınıf	Takım	Familiya	Cins
<i>Plantae</i> (Bitkiler)	<i>Magnoliophyta</i> (Kapalı Tohumlular)	<i>Dicotyledoneae</i> (Çift Çenekliler)	<i>Cucurbitales</i>	<i>Cucurbitaceae</i> (Kabakgiller)	<i>Cucurbita</i> L.

Kabak bitkisinin türleri; *Momordica charantia*, *Sechium edule*, *Benincasa hispida*, *Cucurbita turban formis*, *Lagenaria sicareria* (Su Kabakları), *Luffa cylindrica* (Lif Kabakları), *Cucurbita mixta* (Kışlık Kabaklar), *Cucurbita moschata* (Bal Kabakları), *Cucurbita maxima* (Kestane Kabağı, Helvacı Kabağı), *Cucurbita pepo* (Sakız Kabağı, Yazlık Kabaklar)'dır.

Karpuz, kavun, hıyar ve kabağında içerisinde yer aldığı *Cucurbitaceae* (kabakgiller) ailesi yetiştiriciliği dünyada yoğun olan sebzelerdir [Altınok vd., 2019]. Ekolojik koşulların uygun olmasından dolayı kabakgil sebzeleri tüm dünyada ve Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilir. [Kulczyński and Gramza-Michałowska, 2019]. *Cucurbita pepo* bilinen en eski ekili türlerden biridir. Kabağın olgunlaşmamış meyveleri sebze olarak tüketilirken olgun meyveleri tatlı yapmak için ve çerezlik olarak kullanılır. Farklı kullanım alanlarının olması kabağın ekonomik değerini ve tüketimdeki önemini arttırmaktadır [Perez Gutierrez, 2016], [Ratnamet et al., 2017].

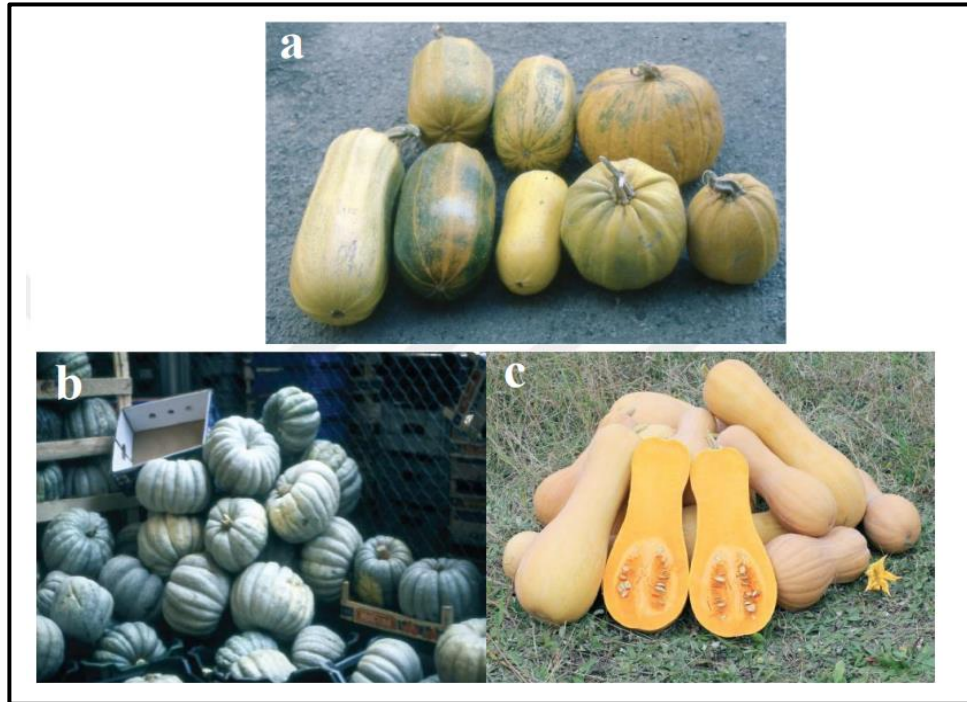
Cucurbita pepo L., *Cucurbita maxima* Duch. ve *Cucurbita moschata* Duch. *Cucurbita* cinsinin yaygın olarak yetiştirilen türleridir. [Wu et al., 2007]. Türkiye'de çerezlik olarak kullanım için yetiştirilen kabak çeşitleri *C. maxima*, *Cucurbita pepo* L. *C. moschata*'dır (Şekil 2.1) [Yanmaz, 2015]. En fazla tercih edilen sakız kabağı

olmakla beraber bu üç kabak türünün tohumları çerezlik olarak yetiştirilir [Menemencioğlu vd., 2013].

Kabak meyveleri şekil, renk ve boyut bakımından değişkendir. Oval, silindirik, düzleştirilmiş, küresel, bir veya her iki ucuda kavisli veya düz bir boyuna doğru konik olabilir. Yumuşak ile sert kabuklu kabakların birden fazla rengi vardır: beyaz, sarı, açık ila koyu yeşil, neredeyse siyah, krem ve / veya turuncu, kabağın iç kısmının rengi (beyaz, sarı, turuncu) ve kalınlığı da değişkendir [Perez Gutierrez, 2016], [Ratnamet et al., 2017].

Cucurbita pepo L. meyve şekli yönünden sekiz gruba ayrılmaktadır. Bunlar;

- Düz, disk şeklinde (scallop),
- Uzun ince boyunlu, siğilli (crookneck),
- Düz ve kalın boyunlu, sarı ve yeşil meyve rengine sahip, siğilli (straightneck),
- Düzgün silindirik (zucchini),
- Uzun silindirik (cocozele),
- Konik, ters yumurtamsı çizgili (acorn),
- Sebzelik kabak (vegetable marrow),
- Yuvarlak, yumurtamsı ve basık (pumpkin) [Ermiş, 2010].



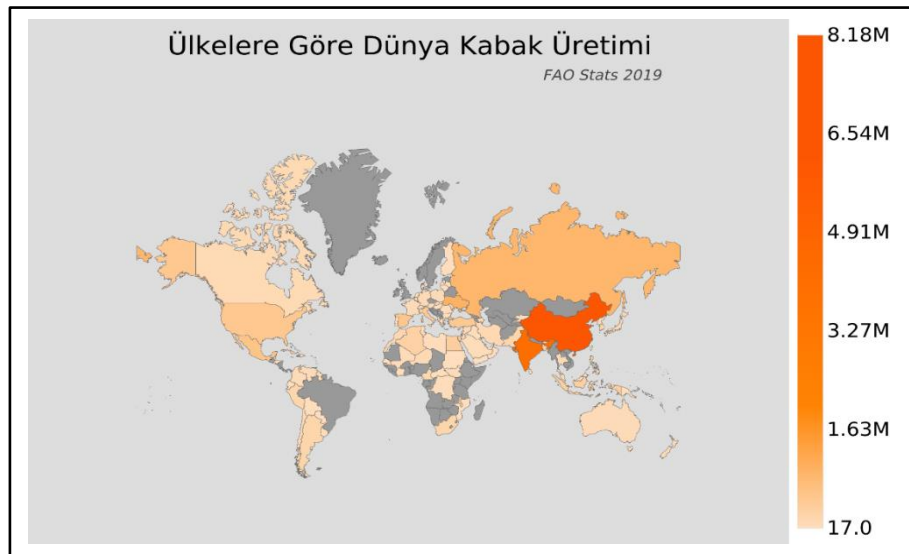
Şekil 2.1: Kabağın çerezlik olarak kullanılan türleri a) *Cucurbita pepo*, b) *Cucurbita maxima*, c) *Cucurbita moschata*.

2.2. Türkiye’de ve Dünyada Kabağın Üretimi

Türkiye’de ve dünyada bol miktarda üretimi yapılan kabağın büyük bir bölümü Asya kıtasında üretilmektedir (%61). Çin Halk Cumhuriyeti, yılda 8 milyon ton üretim ile dünyanın en büyük balkabağı üreticisidir. Hindistan 5.5 milyon ton yıllık üretimiyle ikinci sırada gelmektedir. Yılda 1.3 milyon ton üretimle Ukrayna, üçüncü büyük balkabağı üreticisidir. Türkiye’de kabak üretimi 616 bin tondur. (Tablo 2.2). Ükelere göre Dünya kabak üretimi (2019 yılı) Şekil 2.2.’de görülmektedir [FAO, 2019], [Web 2, 2019].

Tablo 2.2: 2019 yılı ülkelere göre dünya kabak üretimi.

Ülke	Üretim (Ton)	Yüzölçümü (Hektar)	Verim (Kg / Hektar)
Çin Halk Cumhuriyeti	8.186.851	444.679	18.410,7
Hindistan	5.569.809	580.244	9.599,1
Ukrayna	1.338.000	61.100	21.898,5
Amerika Birleşik Devletleri	683.038	26.669	25.611,7
Türkiye	616.777	99.510	6.198,1
Bulgaristan	26.339	1.725	15.269
Macaristan	16.677	1.393	11.972



Şekil 2.2: 2019 yılı ülkelere göre dünya kabak üretimi.

Dünyada en büyük kabak üretim miktarı Çin ve Hindistan'da olmasına rağmen verimin Ukrayna ve Amerika Birleşik Devletleri'nde çok daha yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 2.2). Bu durum ekim alanlarının daha verimli kullanıldığını göstermektedir.

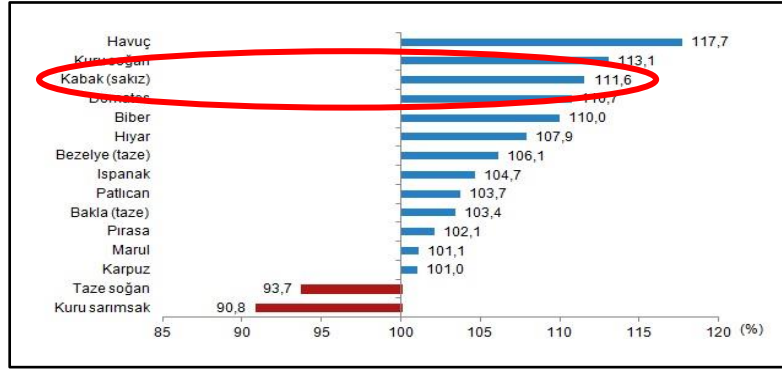
2004 ile 2019 yıllarına ait Türkiye'de sakız ve çerezlik kabak üretim miktarı aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 2.3).

Tablo 2.3: 2004-2019 yıllarına göre Türkiye'de sakız ve çerezlik kabak üretim miktarı (Ton).

Yıl/Kabak Türü	Sakız (Ton)	Çerezlik (Ton)
2004	292.000	10.500
2005	294.000	11.500
2006	288.336	17.286
2007	267.142	31.262
2008	279.451	18.340
2009	307.419	21.971
2010	314.340	26.694
2011	317.705	32.396
2012	302.374	32.144
2013	293.709	35.586
2014	299.858	36.331
2015	312.923	41.612
2016	351.550	42.181
2017	449.561	41.326
2018	474.527	55.043
2019	447.830	50.265

Türkiyede son 15 yılda üretilen kabak miktarına bakıldığında her yıl bir önceki yıla göre arttığı görülmektedir. Hem sakız hem çerezlik kabağın üretiminin artması ekonomik olarak daha değerli olduğunu göstermektedir.

TÜİK verilerine göre toplam sebze ürünlerinde, 2019-2020 piyasa döneminde yurt içi üretimin, yurt içi talebi karşılama derecesi %107,2 olmuştur. Sebzelerde en yüksek yeterlilik derecesi havuçta %117,7 olurken, kuru soğanda %113,1, sakız kabakta ise %111,6 olarak gerçekleşmiştir. Yeterlilik derecesi, üretimin yurt içi kullanımı ya da talebi ne ölçüde karşılayacağı anlamına gelmektedir (Şekil 2.3). Sebze grubunun önemli ürünlerinden sakız kabakta 2021 yılı üretiminde %10,9 oranında artış olacağı TÜİK tarafından tahmin edilmiştir [TÜİK, 2021].



Şekil 2.3: 2019-2020 yılı Türkiye sakız kabak üretimi.

2.3. Kabak Bitkisinin Kökeni

Kabak bitkisinin köken olarak nereden geldiği hakkında farklı görüşler vardır. Kabak türlerinin anavatanının Amerika olduğunu söyleyen araştırmacıların yanı sıra Asya olduğunu iddia eden araştırmacılar da bulunmaktadır.

Arkeolojik kazılarda tespit edilen bilgilere göre kabak türlerinin büyük bir bölümünün Amerikan kökenli olduğu ve günümüzden 10.000 yıl önce Oaxaca (Meksika)'daki Guila Naquits yerlileri tarafından tohumlarının yetiştirildiği, hatta en eski bilinen fasulye ve mısır türlerinden 4000 yıl daha önce bu bölgede bulunduğu bilinmektedir [Smith at el., 1997], [Ermiş, 2010].

Orta Amerika'nın kuzeyi ve Meksika'nın yüksek yerleri *Cucurbita pepo* L.'nin anavatanı olarak kabul edilmektedir.

Birçok çalışmada *Cucurbita pepo* L. ile *Cucurbita moschata* – Kışlık Bal Kabağının orijinin Amerika, *Cucurbita maxima* Duch.'ın ise Asya kökenli olduğu yer almaktadır. Kabağın Avrupa'ya girmesi 500 yıl kadar öncedir ama en az 10.000 yıl önce kültüre alınmıştır. Türkiye'ye Yunanistan üzerinden girdiği ve ilk önce Trakya bölgesindeki çiftçiler tarafından üretilerek buradan yetiştiriciliğinin yaygınlaştığı bilinmektedir [Web 4, 2020].

2.4. Kabağın Besinsel Kullanımı

Kabak insan beslenmesinde önemli bir rol oynar, çünkü 100 g kabak meyvesi 1.4 g protein, 3.9 g karbonhidrat, 0.2 g yağ, 22 cal enerji, 140 IU vitamin A, 0.07 mg B1 (Tiamin), 0.04 mg B2 (Riboflavin), 18 mg askorbik asit (Vit-C), 0.6 mg niasin, 17

mg Ca, 38 mg P, 0.5 mg Fe, 340 mg K içerir [Vural vd., 2000]. Ayrıca kabak çekirdeği %17,85 yağ, %17,85 protein ve %53,57 karbonhidrat içerir ve tohumlar E vitamini bakımından zengindir [Paksoy ve Aydın, 2004].

Yaz kabağı olgunlaşmamış meyveleri için yetiştirilir, ancak kış kabağı ve balkabağının olgun meyveleri tüketilir. Bu türlerin tohumları bitkisel yağ kaynağıdır ve meze olarak kullanılır [Seymen vd., 2019]. *C. maxima* x *C. moschata* melezleri ayrıca kavun, karpuz ve salatalık için anaç olarak kullanılmaktadır [Karaağaç ve Balkaya, 2013]. Günümüzde F1 çeşitleri üstün özelliklerinden dolayı *Cucurbita* türlerinin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır [Kurtar vd., 2020], [Yeşil, 2019].

Kabak (*Cucurbita* L.), sağlığı geliştiren özellikleri belgelenmiş çeşitli fitokimyasalların kaynağıdır. Bitkinin tüm anatomik kısımları yenilebilir ancak tohumu ve küspesi gıda işleme ve beslenme için önemlidir [Kulczyński and Gramza-Michałowska, 2019].

Cucurbita pepo L. yenilebilir olmasının yanı sıra mesane rahatsızlıkları, mide rahatsızlıkları, bağırsak kurtları, yatak ıslatma, romatizma, iyi huylu prostat hiperplazisi, yanıklar ve yaraların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kabak tohumları kuruyemiş olarak tüketilmekle birlikte gıda, kozmetik sanayi ve hayvan beslemesinde de kullanılmaktadır.

2.5. Kabağın Yetiştirme Koşulları

Kabak, Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen bir sebzedir ve tohumları önemli bir protein kaynağı olarak kabul edilir. Kabak tohumu 10 °C'de çimlenmeye başlarken, optimum çimlenme sıcaklığı 20- 25 °C arasında değişmektedir ve çimlenme süresi 4 ila 8 gün arasındadır. Tarla koşullarında, önerilen ekim zamanı, 10 °C'nin üzerindeki toprak sıcaklıklarıyla ilkbahar son donlarından sonradır. Yaz kabağının bitki örtüsü süresi yaklaşık 100 gündür. En yüksek verim tohumların derin, iyi drene edilmiş veya geçirgen, su tutma kapasitesi yüksek, organik ve mineral içeriği yüksek topraklara ekilmesinden elde edilir. İstenilen toprak pH'sı 6-7 arasındadır [Vural vd., 2000]. Genel olarak yüzey sulama yöntemleri uygulanmakta ve bazen yenilebilir kabak üretimi için kuru tarım yapılmaktadır [Paksoy ve Aydın, 2004].

Dünyada sürekli artan küresel nüfus daha fazla mahsul üretimini gerektirmektedir ancak mahsul verimindeki artış miktarının azalmakta olduğu

bildirilmektedir [Pingali and Heisey, 2001], [Collard and Mackill, 2008]. Mahsul üretimindeki azalmanın nedenleri olarak artan su kıtlığı, ekilebilir alanların azalması, çevresel bozulma, artan kirlilik, patojen ve zararlıların yeni ırklarının kaçınılmaz olarak ortaya çıkması ve iklim değişikliğinin olumsuz etkileri gösterilebilir. Bu nedenle, mahsul verimini arttırmak için, bitki yetiştiricileri ve tarım bilimciler tarafından bitki ıslahı çalışmaları yapılmaktadır. Bitki ıslahında klasik yöntemler kullanıldığında emek, zaman ve işgücü gibi problemlerle karşılaşmaktadır. Bitki ıslahında başarı olasılığını en üst düzeye çıkarmak için biyoteknoloji gibi yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır [Huang et al., 2002], [Collard and Mackill, 2008].

Biyoteknolojinin bir alanı olan moleküler genetik ve genomik araştırmalarından elde edilen DNA markör teknolojisi, bitki ıslahı için büyük umutlar sunmaktadır. Bitki ıslahına yardımcı olmak için DNA markörleri kullanılarak verimlilik ve hassasiyet büyük ölçüde arttırılabilir. Bitki ıslahında DNA markörlerinin kullanımına markör yardımıyla seçim (MAS) denir ve yeni “moleküler ıslah” disiplininin bir bileşenidir [Collard and Mackill, 2008].

2.6. Moleküler Markörler

Markör, kısaca tanımlanan bir gen yani DNA'nın bir parçasıdır. Moleküler markörler ve morfolojik markörler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Moleküler markörlerin morfolojik markörlere göre daha polimorfik lokusa sahip olduğu bilinmektedir. Moleküler markörler ise DNA markörleri ve biyokimyasal markörler olmak üzere iki grupta sınıflandırılabilirler [Altun, 2006].

Genomun içindeki bir DNA parçasının farklılığını moleküler markörler temsil eder ve bu farklılıklar ise silinmeler, eklenmeler, duplikasyonlar, yer değiştirmeler gibi olaylardan meydana gelir. DNA markörleri fizyoloji, embriyoloji, taksonomi, genetik mühendisliği vb. alanlarda kullanılan çok yönlü araçlardır [Schlötterer, 2004]. Polimer zincir reaksiyonun (PZR) bulunmasından sonra DNA markörleri kullanılarak genetik haritalama, genetik çeşitlilik çalışmaları, gen etiketleme, markör yardımıyla seçim (MAS), harita temelli tarımsal açıdan önemli genlerin belirlenmesi, filogenetik analiz çalışmaları kolaylaşmıştır [Joshi et al., 2000].

İdeal bir moleküler markör tekniği genetik farklılıkların ortaya çıkarılmasında yeterli olmalı, polimorfik ve bütün genomda olmalı, çok sayıda, bağımsız ve güvenilir

markörler üretmeli, basit, hızlı, ucuz olmalı, farklı fenotiplerle bağlantı oluşturmali ve az mikatda DNA veya dokuya ihtiyaç duymak gibi özelliklerin olması istenir ama hiçbir markör tekniği bu avantajların hepsine aynı anda sahip değildir.

Moleküler markörler, bitki popölasyonundaki çeşitlilik veya o popölasyon içindeki bitki genotipleri arasındaki ilişkilerin tespitinde %100'e yakın güvenirlikle değerlendirilirler. Bugün moleküler markörler bitki ıslahında, bitki sistematiiğinde ve gen kaynaklarının değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Markörlerin sınıflandırılması;

- Hibridizasyon Temelli Olanlar

- RFLP

- PZR Temelli Olanlar

- RAPD

- AFLP

- SSR

- ISSR

- Dizi Temelli Olanlar

- SNP

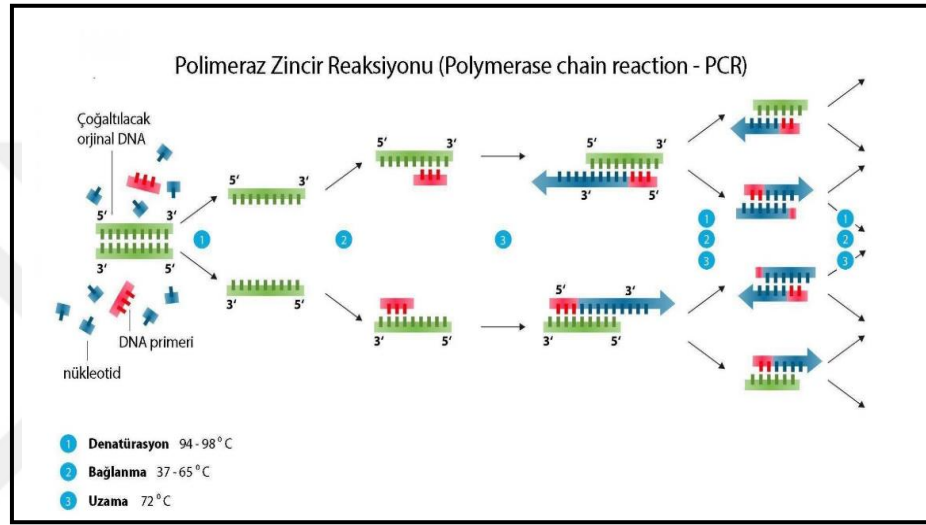
2.6.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (*Polymerase chain reaction*-PCR), dizisi bilinen DNA içerisinde yer alan iki bölge arasında bulunan zgn bir bölgenin enzimatik olarak çoğaltılması ve uygulanan tepkimeye verilen isimdir. 1985 yılında spesifik DNA dizilerini amplifiye etmek için icat edilmiş ve reaksiyonun duyarlılığı, özgüllüğü, hızı ve basitliği nedeniyle, PZR son yıllarda çeşitli uygulamalarda kullanılmıştır. PZR; genetik parmak izlerinin tanımlanması, genlerin klonlanması, tıbbi ve biyolojik araştırma laboratuvarlarında kalıtsal hastalıkların teşhisi, babalık testi, bulaşıcı hastalıkların teşhisi, DNA hesaplaması gibi değişik konularda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [Newton et al., 1997].

PZR basitçe nükleik asitlerin uygun koşullarda çoğaltılması esasına dayanır. Bir çeşit "*in vitro* klonlama" olarak da tanımlanan PZR; 94 C-98 C aralığında gerçekleştirilen denatürasyon, 37 C-65 C aralığında gerçekleştirilen bağlanma ve

72 °C’de gerçekleştirilen uzama aşamalarından oluşur ve bu döngülerin belirli sayıda tekrarlanmasına dayanır (Şekil 2.4). PZR yönteminin gelişmesinde en büyük katkıyı Taq DNA Polimeraz enziminin bulunması yapmıştır.

PZR yöntemine dayalı olarak birçok primer olarak adlandırılan başlatıcı DNA teknikleri geliştirilmiştir. Bu başlatıcı DNA'lar belli dizilere sahip ve sentetik olarak üretilen moleküllerdir. PZR'a dayalı RAPD, AFLP, SSR ve ISSR gibi markör teknikleri geliştirilmiştir. Bu teknikler birçok bitki ve hayvanda genetik akrabalığın teşhisinde tür içi ve türler arasında kullanılmaktadır [Web 3, 2021].



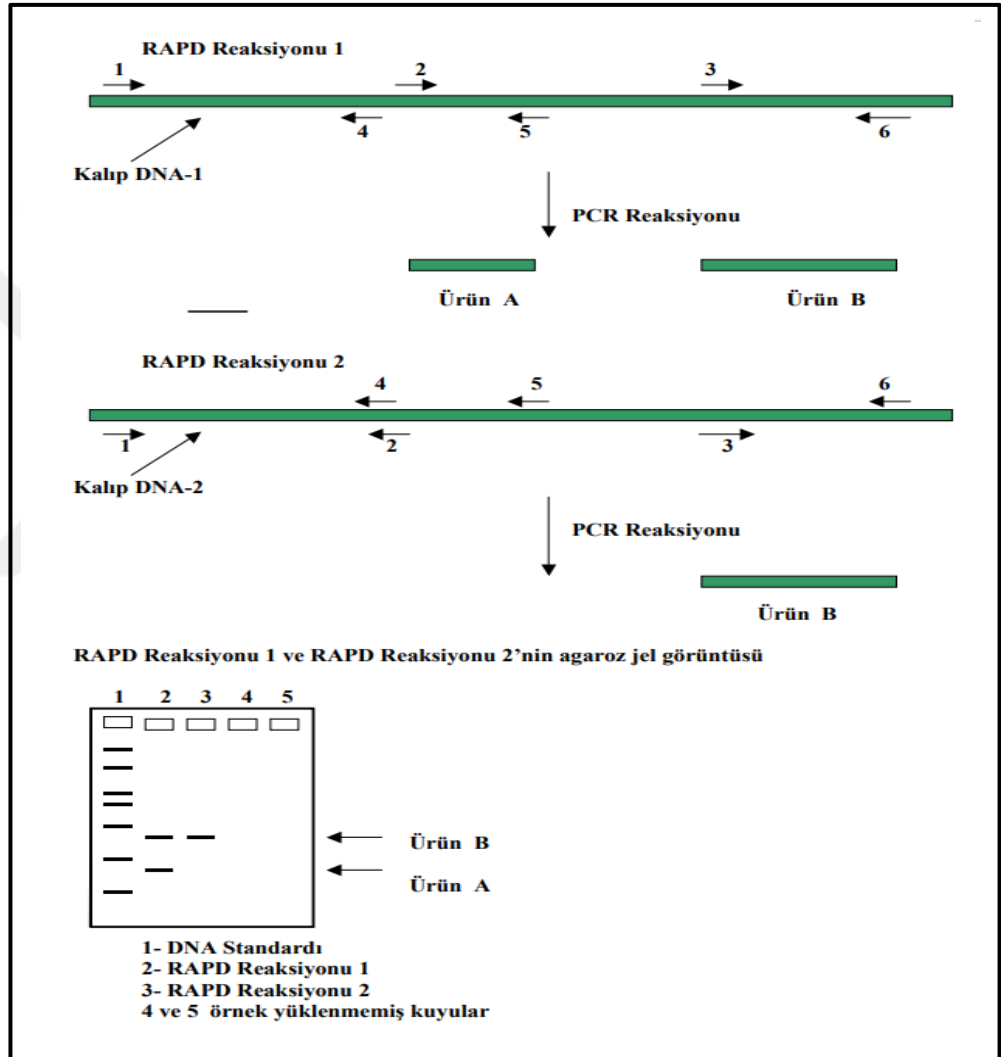
Şekil 2.4: Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile DNA çoğaltımı.

2.6.2. RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA- Rastgele Çoğaltılmış DNA)

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), PZR tekniği kullanarak sentetik primerlerin yardımıyla (genelde 10 baz uzunluğunda) yapılan tesadüfi DNA parçası çoğaltımına dayanan bir metottur [Aydın, 2004]. Kullanılan primerler hem ileri hem de geri primer görevi görür ve çoğaltılan parçacıkların büyüklüğü genelde 0.5–5 kb arasında değişmektedir (Şekil 2.5). Polimorfizm, primerlerin bağlanma bölgelerinin çeşitliliği ve buna bağlı olarak oluşan farklı uzunluktaki DNA parçacıklarından kaynaklanmaktadır [Filiz ve Koç, 2011].

Çabuk sonuç vermesi, diğer tekniklere göre ucuz olması, az iş gücü gerektirmesi, az miktarda ve düşük kalitede DNA'ya ihtiyaç duyması, polimorfizm oranının yüksek olması ve otomasyona uygun olması avantajlarıdır. En büyük dezavantajı ise güvenilirliğinin sınırlı olmasıdır.

RAPD primerleri tarafından bağlanma bölgeleri için primere karşı rekabetin bir sonucu olarak, yoğunluğu aşan spesifik bir gen amplifikasyonu meydana gelir. Bunun nedeni spesifik olmayan bağlanmadır ve PZR ürünleri düşük yoğunlukta sonuçlanabilir. Bağlanacak daha fazla bölge, primerin bağlanması için rekabetle sonuçlanır ve bu nedenle jel sonuçları, spesifik gen amplifikasyon sonuçlarından daha düşük yoğunluk gösterir [Tüyel, 2015].

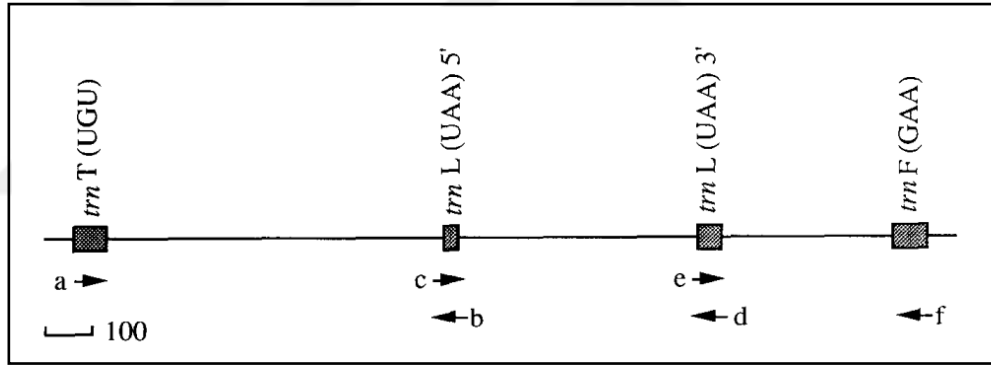


Şekil 2.5: RAPD markör analizi basamakları.

2.6.3. Kloroplast Markörler

Kloroplast DNA (cpDNA) dizi varyasyonları artık anjiyospermiler ve diğer bitkiler arasındaki türler arası ilişkileri araştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır

ancak bu molekülün düşük evrim hızı, tür içi düzeyde ciddi bir sınırlamadır [Taberlet et al., 1991]. Bitkilerin moleküler filogenisini incelemek için teknikler büyük ölçüde kloroplast genom dizisi verilerine dayanmaktadır. Bunun nedeni, kloroplast genomunun basit ve kararlı bir genetik yapıya sahip olması, haploid olması, rekombinasyon (veya çok nadir) olmaması, genellikle tek ebeveynli olarak iletilmesi ve hedef dizileri yükseltmek için evrensel primerlerin kullanılabilmesidir. Bir diğer önemli neden PZR amplifikasyonunun ve kloroplast genlerinin diziliminin kolaylığıdır. *AtpB*, *atpB-rbcL*, *matK*, *ndhF*, *rbcL*, *rpl16*, *rps4-trnS*, *rps16*, *trnH-psbA*, *trnL-F*, *trnS-G*, vb. (Şekil 2.6) [Taberlet et al., 1991] dahil olmak üzere kodlama bölgelerinin, intronların ve intergenik ara parçaların birçok parçası, çeşitli taksonomik seviyelerde filogenetik rekonstrüksiyonlar için kullanılmıştır ve bitki DNA barkodlaması, aday markörlerin geliştirilmesi için büyük ölçüde güvenilmiştir [Dong et al., 2012].



Şekil 2.6: cpDNA'nın üç kodlanmayan bölgesini çoğaltmak için kullanılan evrensel primerlerin konumları ve yönleri.

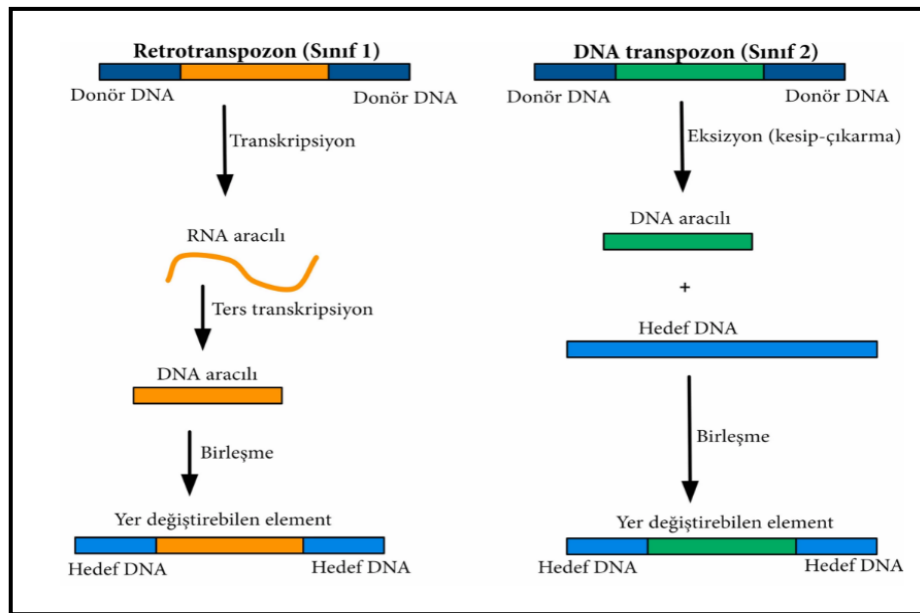
2.6.4. Transpozon Markörler (TE)

Transpozonlar genom içinde yer değiştirebilme yeteneğine sahip DNA dizileridir. Genomda yerinde duramayan, yer değiştirebilen (transposable) elementler veya transpozonlar, ilk olarak 1940'ların ortalarında genetikçi Barbara McClintock tarafından mısır bitkisinde keşfedilmiş ve başlangıçta genetik bir tuhaflık olarak kabul edilmiştir [Fedoroff, 2012]. Çoğu transpozon iki temel özellik taşır. Birincisi, genom içinde bir yerden diğerine hareket edebilme özelliği (transpozisyon), ikincisi de genomdaki kopya sayılarını arttırabilme (replikasyon) özelliğidir [Bennetzen, 2000], [Maraklı, 2012].

Transpozabl elementler (TE); 1970’li yılların sonunda *Drosophila melanogaster* ve *Saccharomyces cerevisiae* [Finnegan et al., 1978], [Cameron et al., 1979], 1980’li yıllar boyunca *Caenorhabditis elegans* ve insanda [Rosenweig et al., 1983], [Paulson et al., 1987] ve 1990’lı yıllarda ise filamentli mantarlarda [Daboussi et al., 1991] tanımlanmıştır.

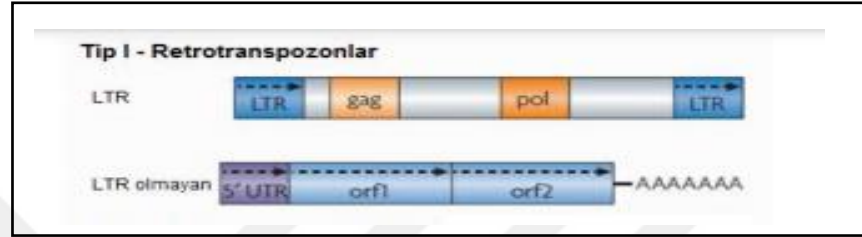
Transposable elementler, bitkiler, hayvanlar ve mantarlar da dahil olmak üzere ökaryotik genomların önemli bir bileşenidir ve genom çeşitliliği ve evriminin önemli bir kaynağı olarak kabul edilmiştir [Monden and Tahara, 2015]. *Plasmodium* cinsinin birkaç türü hariç tüm ökaryotlarda ve neredeyse tüm prokaryotlarda bulunan transpozonlar, ökaryotik genomların büyük bir yüzdesini oluştururlar. Transpozonlar, bitki genomlarının ortalama %50-90, hayvan genomlarının da %3-45 kadarını oluşturmaktadır [Kalender et al., 2011]. Transpozonlar hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda mutasyonda insersiyon, delesyon ve yeniden düzenlenmelerde rol almaktadır.

Transpozon elementler iki ana mekanizma aracılığıyla kendi kendini kopyalar. İlk mekanizma McClintock (1984) tarafından keşfedilen Sınıf II transpozonları DNA transpozonunun (kes ve yapıştır) mekanizmasıdır. Buna karşılık ikinci mekanizma Sınıf I retrotranspozonlar bir RNA ara maddesi yoluyla (kopyala ve yapıştır) transpoze olan mekanizmadır. Bu sayede orijinal kopya genomda kalır (Şekil 2.7) [Ågren and Clark, 2018], [Kalender et al., 2011].



Şekil 2.7: Transposable elementlerin iki ana mekanizması.

Retrotranspozonlar, LTR (Long Terminal Repeat- Uzun Uç Tekrar Dizileri) dizileri ile sınırlandırılırken; DNA transpozonlarının uç kısımlarında TIR (Terminal Inverted Repeat- Ters Çevrilmiş Tekrarlar) dizileri bulunur [Bülbül, 2020]. Retrotranspozonlar, yapıları ve transpozisyon döngüleri bakımından farklılık gösteren iki ana alt sınıfa ayrılır. Bunlar, uçlarında ilgili LTR'lerin varlığı veya yokluğu ile ayırt edilen uzun terminal tekrar (LTR) retrotranspozonları ve LTR olmayan (LINE ve SINE elemanları) retrotranspozonlardır (Şekil 2.8) [Kalendar et al., 2011].



Şekil 2.8: LTR ve LTR olmayan transpozonlar.

LTR retrotranspozonların bitki genomlarındaki yaygınlığı, bolluğu, dağılımı ve dinamikleri bu genetik elementleri önemli moleküler markör kaynakları haline getirmiştir. Transpozonlar her yerde bulunduğu için, genomlarda geniş çapta dağıldığından ve yerleşme bölgeleri polimorfizm gösterdiğinden, çeşitli genetik analizleri geliştirmek için TE markörleri kullanılmıştır. TE'ler genomun organizasyonunu, stabilitesini ve evrimini dolayısıyla transkriptomu etkilediğinden, TE markörleri özel bir markör sistemi oluşturur.

Retrotranspozonlar Arası Güçlendirilmiş Polimorfizm (IRAP / Inter-retrotransposon amplified polymorphism), Retrotranspozon-Mikrosatelit Güçlendirilmiş Polimorfizm (REMAP / Retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism), Retrotranspozon Bazlı Ekleme Polimorfizmi (RBIP / Retrotransposon-based insertional polymorphism), Diziye Özgü Güçlendirilmiş Polimorfizm (S-SAP / Sequence-specific amplified polymorphism), RAPD-Retrotranspozon Kuvvetlendirilmiş Polimorfizm (R-RAP / Randomly amplified polymorphic DNA-Retrotransposon amplified polymorphism), genetik polimorfizm, moleküler parmak izi, gelişimsel biyoloji ve evrimsel araştırmalar için başarıyla kullanılan başlıca PZR tabanlı markör sistemleridir.

Arpada tanımlanmış birkaç TE ailesi; BARE1, Sukkula, Sabrina, Nikita, BAGY-1 ve BAGY-2 transpozonlarıdır. Bu transpozon ailelerinden BARE1 ailesi arpa için tanımlanan ilk retrotranspozondur ve en iyi karakterize edilenidir. Arpa genomunda

oldukça bol bulunur ve genomun yaklaşık %3'ünü oluşturur. Arpa genomunun 66 kb'lık bitişik bölümünde ise Nikita, Sukkula, Sabrina ve BAGY-2 gibi retrotranspozonlar bulunurlar ve çoğunlukla tek LTR'ler olarak mevcuttur. Sukkula ailesi bir protein kodlama alanına sahip değildir, ancak ekleme olarak polimorfiktir ve bir moleküler markör olarak yararlıdır [Leigh et al., 2003]. Bu transpozon ailelerinden Nikita ise arpada bildirilen 4. transpozon elementtir ve poliploidlerdeki polimorfizmin, genetik değişkenliğin, farklı retrotranspozon bazlı markör tekniklerinin ve hibritlerin karşılaştırılmasında kullanılmıştır [Leigh et al., 2003], [Karlık vd., 2019].

SIRE1, Ty1-Copia retrotranspozon ailesinin sirevirüs sınıfına ait bitkiye özgü LTR retrotranspozonudur; ters transkriptaz geninin hemen aşağısında varsayılan bir zarf benzeri (ENV- envelope) gene sahip olmasına göre LTR retrotranspozonları arasında kendi genom yapısına sahiptir [Karlık vd., 2019].

BARE-1 ve diğer retrotranspozonlar kullanılarak IRAP ve REMAP yöntemlerinin, çeşit tanımlama veya yetiştirme amaçları için uygun polimorfik belirteçler sağladığı gösterilmiştir [Leigh et al., 2003].

LTR1, LTR2, LTR3, LTR4 retrotranspozonları salatalık türlerinden *Cucumis sativus* L. ve vahşi akrabası *Cucumis hystris* Chakr arasındaki geçişten türetilen yeni sentezlenmiş bir allotetraploid olan *Cucumis hytivus*'un üretiminden sonraki erken nesillerdeki genomik değişiklikler üzerindeki etkisini araştırmak ve bu değişiklikleri fiziksel olarak salatalık kromozomlarında lokalize etmek amacıyla yapılan çalışmada uzun terminal tekrar bölgelerine (LTR) dayalı olarak dört adet primer tasarlanmıştır [Jiang et al., 2011].

Hopi, *Houba* ve *RIRE1* pirinç genomunda bol miktarda bulunan retrotranspozonlardır. *Hopi* çingene retrotranspozon ailesine aittir ve pirinç genomunda sırasıyla 1332 kopya numarasına sahiptir. *Houba* ve *RIRE1* ise kopya retrotranspozonlardır ve pirinç genomunda sırasıyla 563 ve 262 kopya numaralarına sahiptir. Bu retrotranspozonlar daha önce IRAP analizleri için Yüzbaşıoğlu'nun (2016) çalışmasında tasarlanmış ve kullanılmıştır [Yüzbaşıoğlu vd., 2016].

3. MATERİYAL VE METOT

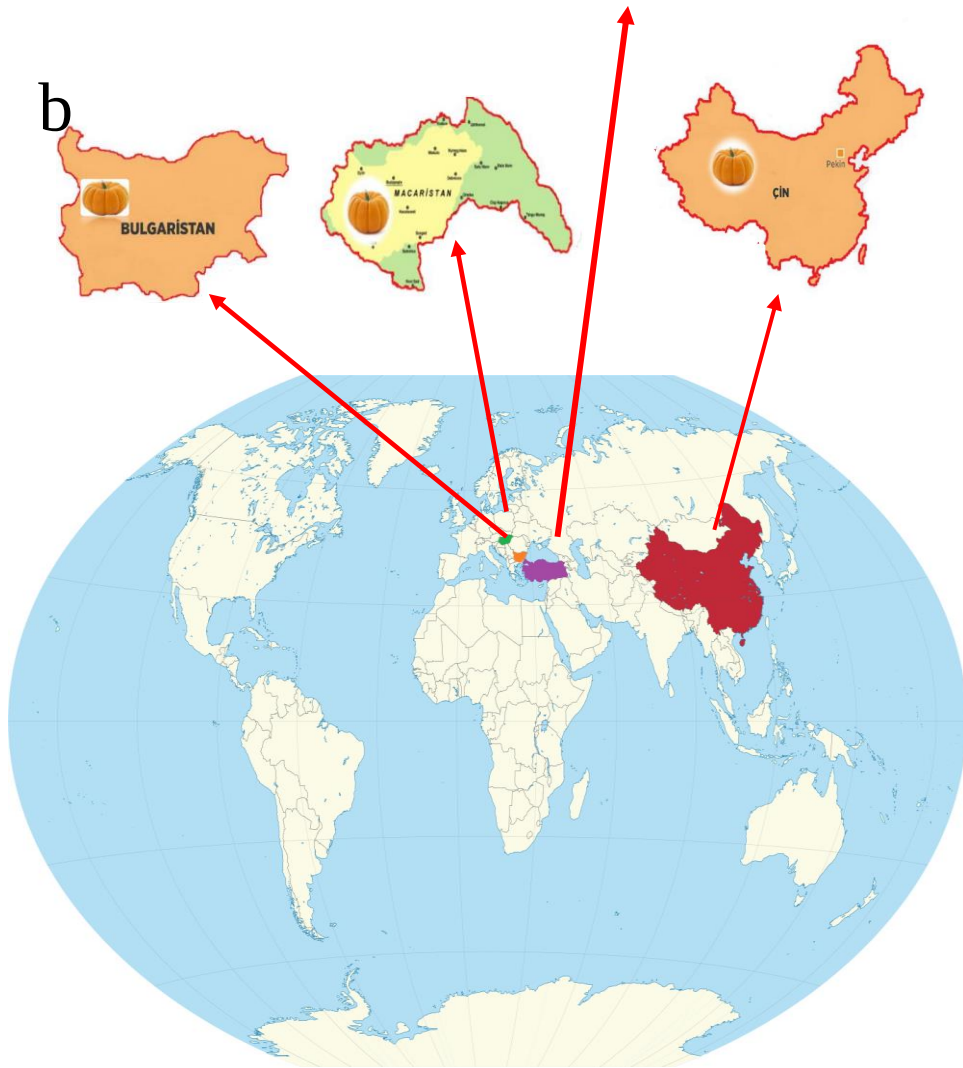
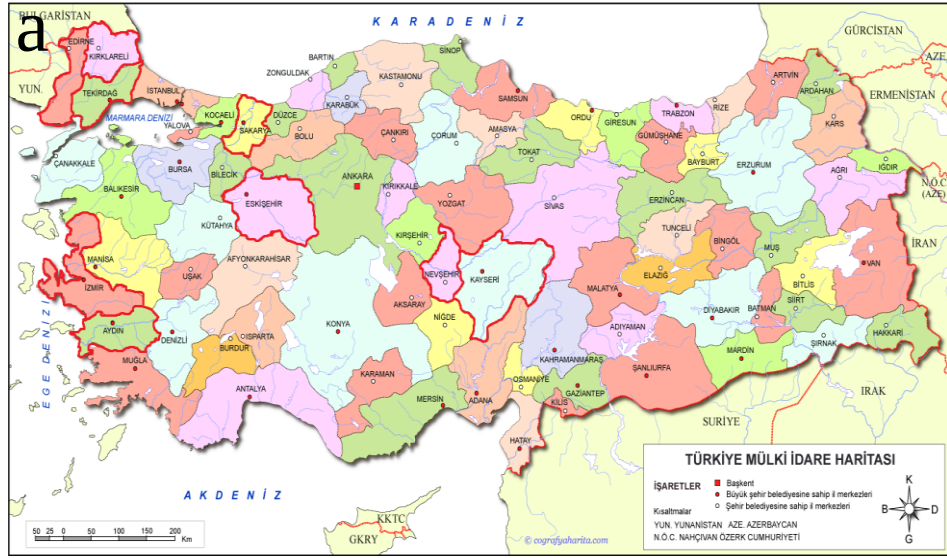
3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Bu çalışmada Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden alınan çerezlik kabak tohumları kullanılmıştır. Bu tohumların 11 adedi Türkiye'den ve Bulgaristan, Çin ve Macaristan'dan olmak üzere 14 farklı bölgeden alınmıştır. Kullanılan genotiplerin kabak türleri, popülasyon şehirleri ve ülkeleri, popülasyon ve bitki numaraları Tablo 3.1'de, toplanılan bölgeler ise Şekil 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1: Araştırmada kullanılan *Cucurbita* sp. bitki materyalleri.

Adı	Popülasyon Bölgesi	Popülasyon No	Bitki No
<i>Cucurbita pepo</i>	Adapazarı	(3) pop.-2 -2015- (2) pop.-1 (5) pop.-3	3.1; 3.2; 3.3
			2.1; 2.2; 2.3
			5.1; 5.2; 5.3
	Edirne	(4) pop.-1 -2015- (8) pop.-1 -2015- (23) pop.-3	4.1; 4.2; 4.3
			8.1; 8.2; 8.3
			23.1; 23.2; 23.3
	İzmir	(13) pop.-1 (14) pop.-2	13.1; 13.2; 13.3
			14.1; 14.2; 14.3
	Eskişehir	(20) pop.-1 (21) pop.-2	20.1; 20.2; 20.3
			21.1; 21.2; 21.3
	Sakarya	(15) pop.-1	15.1; 15.2; 15.3
	Ürgüp	(7) pop.-1	7.1; 7.2; 7.3
	Kayseri	(6) pop.-1	6.1; 6.2; 6.3
	Nevşehir	(27) pop.-1	27.1; 27.2; 27.3
<i>Cucurbita pepo</i> sebze kabak	Çin	(19) pop.-1	19.1; 19.2; 19.3
	Tekirdağ	(22) pop.-1	22.1; 22.2; 22.3
	Bulgaristan	(17) pop.-1	17.1; 17.2; 17.3
	Macaristan	(10) pop.-1 (11) pop.-2-genetik stok (12) pop.-3	10.1; 10.2; 10.3
			11.1; 11.2; 11.3
			12.1; 12.2; 12.3
	Aydın	(24) pop.-1 Köy pop., tipi	24.1; 24.2; 24.3
<i>Cucurbita pepo</i> hanım tırnağı	Edirne	(9) pop.-1 -2015- Köy pop., tipi	9.1; 9.2; 9.3
	Edirne	(25) pop.-2	25.1; 25.2; 25.3
<i>Cucurbita</i> <i>moschata</i>	Uzunköprü	(1) pop.-1	1.1; 1.2; 1.3
	Çin	(16) pop.-1	16.1; 16.2; 16.3
	Sakarya	(18) pop.-1	18.1; 18.2; 18.3
<i>Cucurbita maxima</i>	Sakarya	(26) pop.-1	26.1; 26.2; 26.3



Şekil 3.1: Kabak bitki örneklerinin alındığı bölgeler a) Türkiye, b) Dünya.

3.1.2. Moleküler Markörler

3.1.2.1. RAPD Primerleri

Çalışmada kullanılan RAPD primerleri [Tüyel, 2015] çalışmasından seçilmiş ve Marmara Üniversitesi Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarından temin edilmiştir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan RAPD primer dizileri.

No	Primer Adı	Dizi Bilgisi (5'-3')
1	OPF-06	GGG AAT TCG G
2	OG-06	GTG CCT AAC C
3	OPH-18	GAA TCG GCC A
4	OPH-04	GGA AGT CGC C
5	OH-12	ACG CGC ATG T
6	OPA-13	CAG CAC CCA C
7	OPB-07	GGT GAC GCA G
8	OPAW-7	AGC CCC CAA G
9	OPJ-16	CTG CTT AGG G
10	OPAL-12	CCC AGG CTA C

3.1.2.2. Kloroplast Markörleri

Araştırmada kullanmak için [Shaw et al., 2007], [Taberlet et al., 1991], [Zheng et al., 2013]'ün araştırmalarından, 8 adet kloroplast markörü seçilmiş ve dizileri Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.3: Çalışmada kullanılan kloroplast primer dizileri.

No	Primer Adı	Dizi Bilgisi (5'-3')
1	psbJ petA	ATA GGT ACT GTA RCY GGT ATT AAC ART TYG ARA AGG TTC AAT T
2	PsbD trnT	CTC CGT ARC CAG TCA TCC ATA CCC TTT TAA CTC AGT GGT AG
3	atpI atpH	TAT TTA CAA GYG GTA TTC AAG CT CCA AYC CAG CAG CAA TAA C

Tablo 3.3: Devam.

4	a - B48557 b - A49291	CATTACAAATGCGATGCTCT TCTACCGATTTCGCCATATC
5	c - B49317 d - A49855	CGAAATCGGTAGACGCTACG GGGGATAGAGGGACTTGAAC
6	e - B49873 f - A50272	GGTTCAAGTCCCTCTATCCC ATTTGAACTGGTGACACGAG
7	c - B49317 f - A50272	CGAAATCGGTAGACGCTACG ATTTGAACTGGTGACACGAG
8	matK-AF matK-8R	ATATCCCCCTTATCTTTCAGGAGT TTACACAAGAAAGTCGAAGTATAT

3.1.2.3. Transpozon Primerleri

Çalışmada kullanmak için [Leigh et al., 2003], [Jiang et al., 2011], [Karlik vd., 2019], [Yüzbaşıoğlu vd., 2015], [Sanseverino et al., 2015]'ın araştırmalarından 25 adet transpozon (IRAP) markörü seçilmiş ve dizi bilgileri Tablo 3.4 ve Tablo 3.5'te verilmiştir.

Tablo 3.4: Çalışmada tekli kullanılan IRAP primer dizileri.

No	Primer Adı	Dizi Bilgisi (5'-3')
1	BARE -1-5980	CTAGGGCATAATTCCAACAA
2	BARE-1-92460	CTGGCTAGCCAACTAGAGGCTTGC
3	BARE-1-E1814	TTCCCATGCGACGTTCCCCAAC
4	BARE -1-C0700	ACACACAAAGCATTCCCTCCGG
5	Sabrina-C0945	GCAAGCTTCCGTTTCCGC
6	Sukkula-91673	TGTGACAGCCCGATGCCGACGTTCC
7	BAGY-1-C2043	TCGTCGCCGGCGTCATCTCC
8	BAGY-1-4164	CGATGTGTTACAGGCTGGATTCC
9	Nikita-E2647	ACCCCTCTAGGCGACATCC
10	Nikita-57	CGCATTTGTTCAAGCCTAAACC
11	LTR1	TCGCTGAAGTGAATGGTGGTC
12	LTR2	CGATAATACAACCCTCCGAAG
13	LTR3	ATTCTTCTATCCTTGCCCGTGG
14	LTR4	GACATTTTGGGAGGGATTGGC
15	SIRE1	GCAGTTATGCAAGTGGGATCAGC
16	Sukkula-E0228	GGAACGTCGGCATCGGGCTG
17	BAGY-2-E0520	CATGAAAGCATGATGCAAAATGG

Tablo 3.5: Çalışmada ikili kullanılan IRAP primer dizi bilgileri.

No	Primer Adı	Dizi Bilgisi (5'-3')
18	Sukkula-9900 F Sukkula-E0228 R	GATAGGGTCGCATCTTGGGCGTGAC GGAACGTCGGCATCGGGCTG
19	BAGY-2-E0521 F BAGY-2-E0520R	TCGAAAGGTCTATGATTGATCCC CATGAAAGCATGATGCAAAATGG
20	Houba-F Houba-R	CTTCGAGTGGGCTAAGGCCC GTTTCGACCAAGCAGCCGGTC
21	RIRE1-F RIRE1-R	GCAAGTGTTCTGTTTGC GCGG CGTGATATCCAACATCTCCATGTTGCC
22	Hopi-F Hopi-R	CGCGAACCTTCCACACACAGACTAG GGCCACGTGGGTGATCGTGTCTGCC
23	CM_8260 CM_8260-R	GATGAAACTGGAGGGATTAGAGG TTCCAACCTACATTGTTAGCGAGAG
24	CM_9716 CM_9716-R	TTTGATACTGCAACCTTGGTCGT AACACTGCCAGTTGTCAAGTTAAG
25	CM_9728 CM_9728-R	CAACCCCATAGATGAGATGACA GCAACTATCCACCCTTCAATACTT

3.2. Metot

3.2.1. Araştırmada Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlama Yöntemleri

- 0.5M EDTA Stok Çözeltisi (pH 8.0) / (1000 ml):

Hassas terazide 186.12 g EDTA tartılıp 750 ml ultra saf suda çözülmüştür. pH 8.0'e ayarlamak için yaklaşık olarak 18-20 g NaOH pelleti eklenmiştir. NaOH pelleti pH 8.0'e yaklaştıkça pH ayarında sorun olmaması için dikkatlice eklenmiştir. pH 8.0'e ayarlandıktan sonra çözeltinin final hacmi ultra saf su ile 1000 ml olacak şekilde tamamlanmış, çözelti otoklavlanmış ve daha sonra oda sıcaklığında saklanmıştır. EDTA çözeltisini hazırlarken NaOH eklenmeye dikkat edilmelidir çünkü NaOH kullanılmazsa çözelti içeriği çözünmemektedir.

- 5X TBE Stok çözeltisi hazırlama (1000 ml):

54 g Tris base, 27.5 g borik asit, 20 ml 0.5M EDTA (pH:8) bir karıştırma kabında 700-800 ml saf su ile manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. İçerisinde parçacık kalmayan çözeltinin final hacmi saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında saklanmıştır.

- Primer stoklarının hazırlanması:

Liyofilize halde gelen primerlerin tüp çeperlerinde ürün kalmaması için ilk olarak 3000 rpm’de 30 sn santifüj yapılmıştır. Her primer verilen sulandırılma oranlarında üzerlerine ultra saf su eklenerek 100 nmol olacak şekilde sulandırılmıştır. Bu tüpler daha sonra deneylerde kullanılmak için stok olarak -20 °C’de saklanmıştır.

PZR reaksiyonunda kullanılmak için hazırlanan bu primer stoktan yoğunluğu 10 nmol ve final hacmi 300 µl olacak şekilde primerler yeni bir tüpte saf su ile seyreltilmiştir.

- 2.5 µM dNTP mix hazırlama:

Set içinde 100 µM’lık stok solüsyonlar halinde bulunan dATP, dGTP, dCTP ve dTTP’den eşit miktarlarda alınarak bir ependorf tüpü içerisinde karıştırılmıştır (Tablo 3.6). Toplam hacmi 10 kat seyreltecek kadar dH₂O eklenmiştir. -20°C’de saklanmış ve kullanım öncesi çözölmüştür.

Tablo 3.6: dNTP mix. (2.5 µM) hazırlanması.

dNTP İçeriği	Kullanılan miktar (µl)
dATP	6.25
dGTP	6.25
dCTP	6.25
dTTP	6.25
d H ₂ O	225
Toplam Hacim	250 µl

- 6X Loading dye Hazırlama:

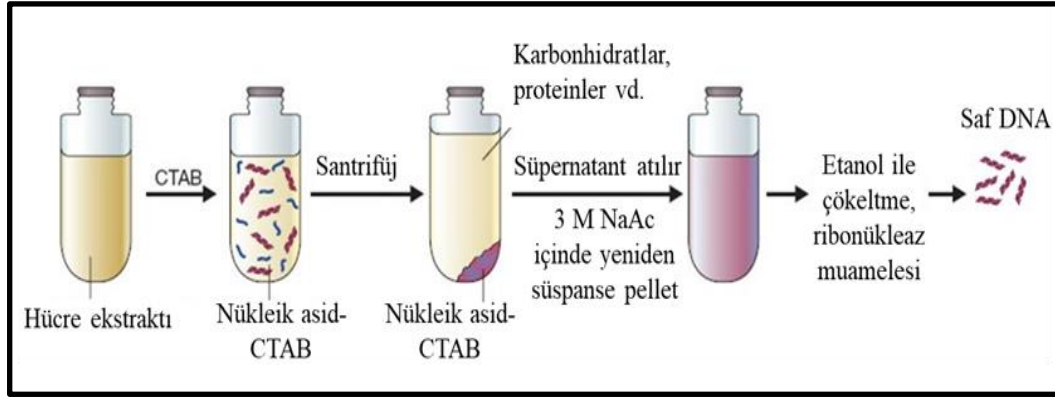
0.025 g Bromophenol Blue, 0.0025 g Xylene Cyanol FF, 3.53 ml Gliserol (%85’lik), 6.47 ml dH₂O loading dye için gerekli malzemelerdir. Belirtilen miktarlarda Bromophenol Blue ve Xylene Cyanol hassas tartıda tartılmış üzerine gliserol ve saf su eklenmiştir. Tüpün kapağı iyice kapatılıp vortex yardımıyla karıştırılmıştır. Homojen hale gelen boya ependorf tüplere bölünüp +4 °C’de saklanmıştır. Uzun süreli saklama için -20 °C’de tutulmuştur.

3.2.2. Moleküler Analizler

3.2.2.1. DNA İzolasyonu

Sıvı azot ile dondurulmuş ve -80°C’de muhafaza edilen bitki doku örnekleri +4°C’lik soğuk ortamda 200 mg olacak şekilde tartılıp 2 ml’lik ependorf tüplerine konulmuştur. Bitki dokularının öğütülmesi için her tüpe 2 adet Zn-kaplı çelik bilye konulup homojenizetör yardımıyla toz haline getirilmiştir. Bu işlem 25 HZ’te 1-2 dakika yapılmıştır. Doku bu sürede homojen bir toz haline gelmediğinde öğütme işlemi tekrarlanmıştır.

Genomik DNA izolasyonu CTAB [Allen et al., 2006] protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. Toz haline getirilen bitki örneklerinin üzerine, 1.2 ml 65°C 15 dk ısıtılan CTAB eklenmiş ve hemen ardından 8 µl %0.5-%1.0 β- merkapttoethanol konularak 5-10 saniye vortekslenmiştir. Tüpler daha sonra su banyosunda 65°C’de 30 dk bekletilmiş ve 10 dk’da bir alt üst edilmiştir. Ardından oda sıcaklığında 10 dk 11.000 rpm’de santrifüj edilmiş ve üst faz 800 µl kloroform:izoamilalkol alkol içerisine kesik uç yardımıyla dikkatlice konulmuştur. 20 dk oda sıcaklığında tüpler alt üst edilmiş ve faz oluşumu gözlenmiştir. 11.000 rpm’de 10 dk santrifüj edilmiş ve oluşan üst faz soğuk 800 µl izopropanol bulunan tüpe eklenmiştir. Nazikçe karıştırılmış ve 10 dk DNA’nın dibe çökmesi beklenmiştir. Tekrar 11.000 rpm’de 10 dk santrifüj edilen tüplerin üst fazı atılmış ve pellet 250 µl TE’de çözülmüştür. 3 µl DNase-free RNase örneğe eklenmiş 45 dakika boyunca 37°C’de inkübe edilmiş ve 5 dk aralıklarla karıştırılmıştır. 25 µl 3M NaAc ve 600 µl %96’lık soğuk etanol eklenip karıştırılmış ve 20 dk-60 dk -20°C’de tutularak DNA çöktürülmüştür. 11.000 rpm’de 10 dk santrifüj edilen tüplerin sonra üst faz dikkatlice dökülmüş ve tüplere %70 etanol eklenmiştir. Etanol ortamdan uzaklaşmaya kadar pellet 1-2 saat kurutulmuş ve kuruyan pellet üzerine 85 µl ddH₂O / TE eklenerek çözülmüş -20°C’ye ya da uzun süreli saklama için -80°C’ye konulmuştur. (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: CTAB yöntemiyle DNA izolasyon aşamaları.

3.2.2.2. Genomik DNA Konsantrasyon ve Kalitesinin Belirlenmesi

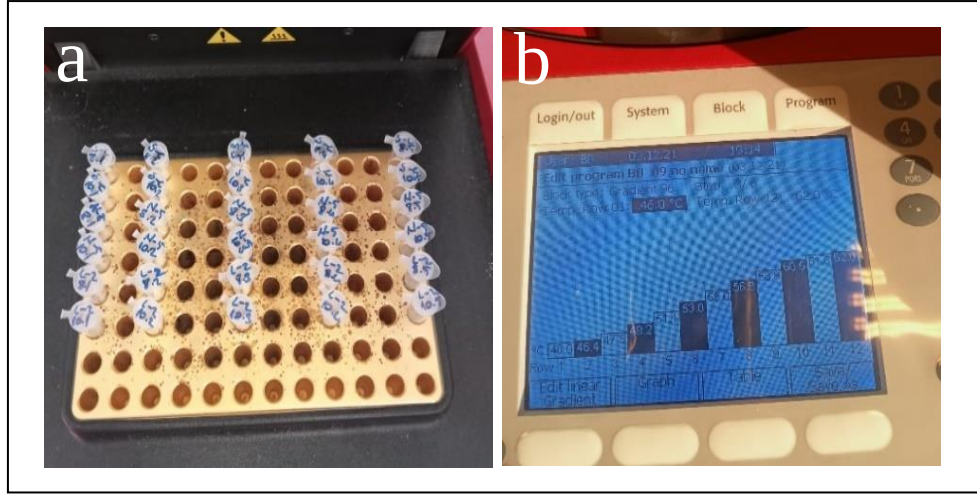
İzolasyonu yapılan DNA örneklerinin miktar tayini için örneklerden 1 µl alınmış ve NanoDrop cihazı kullanılarak DNA miktarı ve 260/280 absorbands oranı ile protein kontaminasyonu ölçülmüştür.

0.5X TBE tamponu ile hazırlanan %0.8 yoğunluğundaki agaroz jel analizi ile DNA örneklerinin kalitatif tayini yapılmıştır. Bu işlem için 5 µl saf su, 5 µl DNA ve 6X loading dye karıştırılarak final hacmi 12 µl olan örnekler jele yüklenmiştir. Genomik DNA örnekleri yüklenen jel 60 dakika boyunca 45 Volt'da yürütülmüştür. BioRAD GelDoc™ XR cihazı kullanılarak UV ışık ile DNA bantlarının görüntülenmesi sağlanmıştır. PZR analizlerinde kullanmak için DNA konsantrasyonları 100 ng/µl olarak seyreltilmiş ve -20°C'de saklanmıştır.

3.2.3. RAPD, Kloroplast ve Transpozon Primer Analizleri

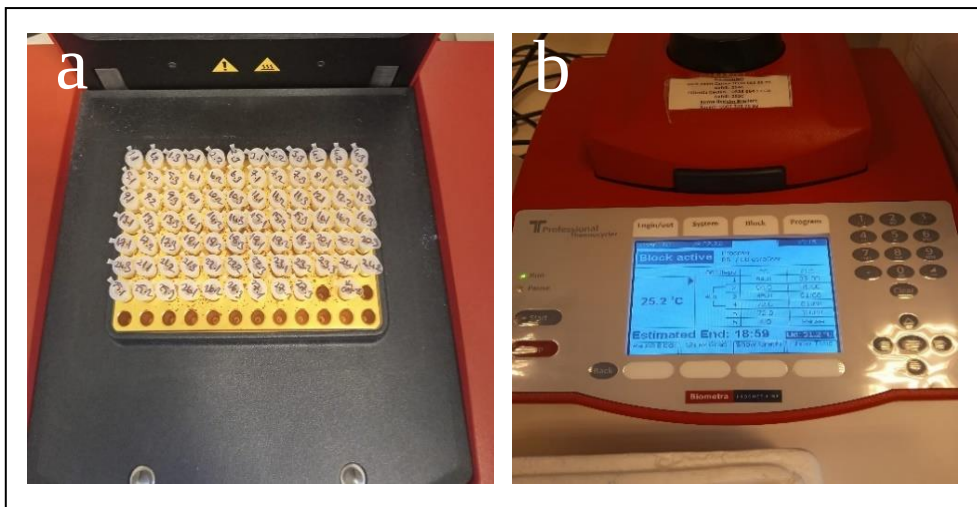
Çalışmada daha önce kabak, pirinç, arpa vb. bitkilerinde gerçekleştirilen markör çalışmalarında kullanılmış ve polimorfik oldukları bilinen 10 adet RAPD, 8 adet kloroplast ve 25 adet transpozon primeri kullanılmıştır. Stok olarak hazırlanmış primerler 10 nmol'e seyreltilmiş ve PZR deneylerinde kullanılmıştır.

Optimum çoğaltım sıcaklığı bilinmeyen kloroplast ve transpozon primerleri için ilk olarak gradient PZR yapılmış ve her primer için en iyi sonuç veren bağlanma sıcaklıkları tespit edilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3: Gradient PZR ile optimum bağlanma sıcaklığının belirlenmesi a) Örneklerin dizilimi, b) Farklı sıcaklıkların ayarlanması.

Çalışmada kullanılan PZR optimizasyonu [Tüyel, 2015] değiştirilerek optimize edilmiştir. İlk olarak içerisinde primer ve DNA olmayan bir master mix hazırlanmıştır (Tablo 3.7). Bu mixin içerisine daha sonra örnek sayısına göre belirlenen miktarlarda primer ve dH₂O eklenip her bir PZR tüpüne 10.5 µl olacak şekilde konulmuş ve üzerlerine, 2 µl her deney için optimize edilmiş miktarlarda (1, 4, 20 ng) DNA konularak final hacmi 12.5 µl olan PZR içeriği hazırlanmıştır (Tablo 3.8). PZR tüpleri 90 saniye boyunca 7000 rpm’de santrifüj edilmiş ve TProfessional Thermocycler (Biometra) cihazı kullanılarak PZR reaksiyonu yapılmıştır. Master mix içeriği, PZR reaksiyon içeriği ve PZR reaksiyon basamakları aşağıda belirtilmiştir (Şekil 3.4) (Tablo 3.9).



Şekil 3.4: PZR cihaz görüntüsü a) Örneklerin dizilimi, b) Reaksiyon basamakları.

Tablo 3.7: 2X Master mix. içeriği.

Master mix içeriği	Kullanılan miktar (µl)
dH ₂ O	187.5
10X Buffer	50
dNTP	10
5U Tag DNA Polimeraz	2.5
Toplam hacim	250 µl

Tablo 3.8: Her bir tüp için PZR Reaksiyon içeriği.

PZR İçeriği	1 tüp için madde miktarı (µl)
dH ₂ O	2.25
Master Mix (2X)	6.25
Primer (10 nmol)	2
DNA (1-4-20 ng)	2
Toplam Hacim	12.5 µl

Tablo 3.9: PZR reaksiyonunda kullanılan basamaklar ve süreleri.

Reaksiyon basamağı	Reaksiyon sıcaklığı (°C)	Reaksiyon süresi (dakika)
Başlangıç denatürasyonu	94	3
Denatürasyon	94	1
Bağlanma	*39-56	1
Uzama	72	1
Son uzama	72	10
Muhafaza	4	∞
*Her primer için gradient PZR ile bağlanma sıcaklıkları belirlenmiş ve kullanılmıştır.		

3.2.3.1. Agaroz Jel Elektroforezi

5X TBE stok solüsyonundan 0.5X TBE solüsyonu hazırlanmıştır. Agaroz jel elektroforezi için %1,5 yoğunlukta 200 ml hacimde agaroz jel dökülmüştür. Bunun için 3 gr agaroz tartılıp üzerine 200 ml 0.5X TBE eklenmiş ve 4-5 dk tamamen çözülünceye kadar mikrodalgada ısıtılmıştır. Isıtılıp homojen hale getirilen çözelti oda

sıcaklığında çalkalanarak ılıtılmış ve içerisine 4 µl (10mg/mL) RedSafe eklenmiştir. Daha önceden hazırlanan ve tarakları yerleştirilen agaroz jel üzerinde kabarcık kalmamasına dikkat edilerek jel tablasına dökülmüştür. Oda sıcaklığında tamamen donan jelden taraklar dikkatli bir şekilde çıkartılıp 0.5X TBE tamponu içeren tanka yerleştirilmiştir. Yerleştirilen jelin üzerini kapatacak miktarda 0.5X TBE tamponu eklenmiş ve jel örnek yüklemeye hazır hale getirilmiştir.

PZR ürünlerinin olduğu tüplere 2 µl 6X DNA yükleme boyası eklenmiştir. PZR tüplerinin içeriği pipetaj yapılarak karıştırılmış ve dikkatli bir şekilde sırasıyla jele yüklenmiştir. PZR ürünlerinin boyutlarını karşılaştırmak için jelin en başındaki ve sonundaki kuyucuklara 2 µl 6X DNA yükleme boyası ve 2 µl DNA ladder karıştırılıp yüklenmiştir. Örnekler 110 voltta 150 dakika yürütülmüştür.

3.2.3.2. Bantların skorlanması

%1,5'lik agaroz jelde yürütülen RAPD, kloroplast ve transpozon markörlerinin jel görüntülerinin analizleri Image Lab bilgisayar programı yardımıyla yapılmıştır. Markör olarak elde edilen bantların büyüklüğünü saptamak için içerisinde 100-1500 ve 250-10000 baz çifti aralıklarındaki bantların bulunduğu DNA standartları kullanılmıştır. Her bir primerden elde edilen jel görüntüsünde var olan bantlar için '1' olmayan bantlar için ise '0' ile kodlar oluşturulup bunlar ile Excel tablosunda ikili (binary) bir veri dosyası oluşturulmuştur. Excel tablosunda satırları örnekler (bitki DNA numaraları) sütunları ise özellikler (elde edilen markörler) olacak şekilde var-yok bilgileri girilmiş ve desen matrisi oluşturulmuştur.

3.2.3.3. Primerlerin Polimorfizm Oranlarının Belirlenmesi

Araştırmada kullanılan 81 adet kabak genotipinin 10 adet RAPD, 8 adet kloroplast ve 25 adet transpozon primerleri ile yapılan genetik çeşitlilik tespitinde primerlerin polimorfizm oranları, polimorfik olan bantların sayısının primerin verdiği toplam bant sayısına bölünmesi ve bunun 100'le çarpılması sonucunda bulunmuştur.

$$\text{Polimorfizm Oranı (\%)} = \left(\frac{\text{Polimorfik Bant Sayısı}}{\text{Toplam Bant Sayısı}} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

3.2.3.4. Primerlerin Polimorfizm Bilgi İçeriklerinin (Pİ) Belirlenmesi

Bu çalışmada kullanılan RAPD, kloroplast ve transpozon primerlerinin polimorfizm bilgi içerikleri (Pİ) Smith ve arkadaşları (1997) çalışmasında tarif edildiği gibi hesaplanmıştır. Bantların frekanslarını (Pi) hesaplamak için her bir primerin verdiği bantların var-yok sayıları tespit edilmiş ve primerler için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Pi hesaplaması: Primerin oluşturduğu lokusların var (1) bantları toplanmış ve toplam lokus bant sayısına bölünerek hesaplanmıştır. Yapılan bu hesaplama primerin verdiği her lokus için yapıp toplam değer primerin verdiği toplam bant sayısına bölünmüştür.

$$\text{Primer Polimorfizm Bilgi İçeriği (Pİ)} = 1 - \sum P_i^2 \quad (3.2)$$

3.2.4. Verilerin İstatistiksel Analizi

Araştırma sonucunda dendrogramların oluşturulması NTSYSpc (2.02i) (Numerik Taksonomi Çok Değişkenli Analiz Sistemi, Exeter Software, Setauket, N.Y.) [Rohlf, 1998] bilgisayar programı ile yapılmıştır. RAPD, kloroplast ve transpozon primerlerinden oluşturulan Excel desen matrisi tablosu bu programa göre düzenlenmiştir. Aritmetik ortalama ile ağırlıklandırılmamış çift grup metodu (Unweighted Pair Group Metodu (UPGMA)) ve SAHN gruplama modülleri kullanılarak genotiplerin benzerlik dendrogramı oluşturulmuştur. NTSYSpc 2.02i programında DICE matrisi ile EİGEN ve DCENTER modülleri kullanılarak PCORDA (ana koordinat) analizi yapılmış ve primerlerin elde edilen verileri ile 2D-3D görselleri oluşturulmuştur.

Türler arasındaki genetik benzerlik ve genetik mesafe değerleri POPGENE (Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic analysis, Version 1.32) [Yeh et al., 1999] ve Excelde İstatistiksel Analiz Programı XLSAT (Statistical Software for EXCEL) programları kullanılarak hesaplanmıştır. POPGENE bilgisayar programını kullanabilmek için excel dosyasındaki veriler not defteri programına aktarılmış ve POPGENE programı formatında düzenlenmiştir [Sevinç, 2010]. XLSTAT programı ise Excel'de istatistiksel analizlerin yapılmasını sağlayan bir programdır. POPGENE programında analizler Nei'nin genetik benzerlik ve genetik

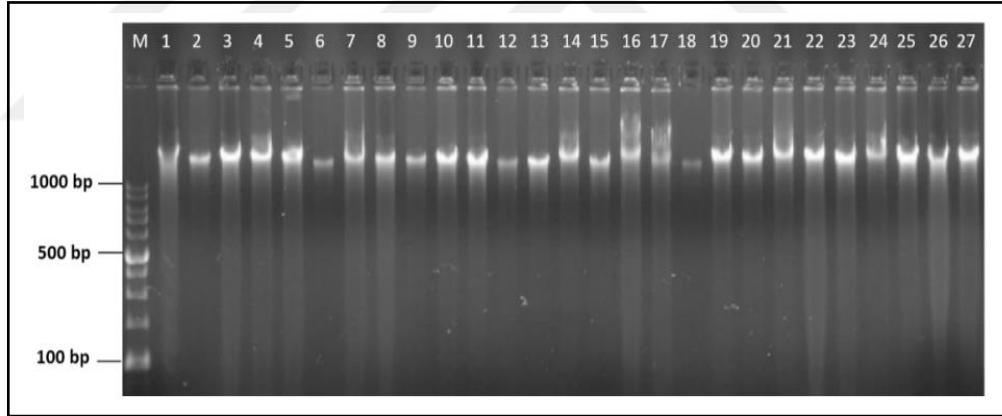
uzaklık [Nei, 1978] ölçümüne göre yapılırken, XLSTAT programında analizler Jaccard's Coefficient Yöntemine göre yapılmıştır.



4. SONUÇLAR

4.1. DNA İzolasyon Sonuçları

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden alınan 81 adet kabak bitkisi örneğinden DNA izolasyonu, CTAB DNA izolasyon protokolüne göre yapılmıştır. %0.8 yoğunluğundaki agaroz jel ile izolasyondan sonra örneklerin DNA sonuçları Şekil 4.1'de, NanoDrop cihazı ile yapılan spektrofotometrik ölçüm sonuçları ise Tablo 4.1'de verilmiştir. Bu çalışmada kullanılan DNA'ların saflık oranları 1.61-2.52 aralığında tespit edilmiştir. DNA saflık oranlarının 1.7-1.9 (A260/280) aralığında olması ile PZR reaksiyonu için kullanılabilecek DNA'nın yeterli oranda olduğu Zhang et al. (2008) tarafından belirtilmiştir. 8.3 örneğinde DNA izolasyon sonucunda 1738 ng/μl ile en yüksek DNA konsantrasyonu elde edilirken en düşük DNA konsantrasyon sonucu ise 60.2 ng/μl ile 2.2 numaralı örnekte bulunmuştur.



Şekil 4.1: Çerezlik kabak örneklerinin genomik DNA izolasyon jel görüntüsü. 1, M: DNA Ladder ve 1-27: kabak DNA örnekleri.

Tablo 4.1: Kabak DNA'larının spektrofotometrik ölçüm sonuçları ve saflık miktarları.

Örnek	DNA Miktarı (ng/μl)	Saflık Derecesi (A260/280)	Örnek	DNA Miktarı (ng/μl)	Saflık Derecesi (A260/280)
1.1	1125.9	1.92	15.1	425.5	1.89
1.2	1193.3	1.93	15.2	257.9	1.85
1.3	1368.6	1.92	15.3	277.2	1.90
2.1	322.3	1.66	16.1	1116.7	1.84
2.2	60.2	1.71	16.2	764.1	2.21

Tablo 4.1: Devam.

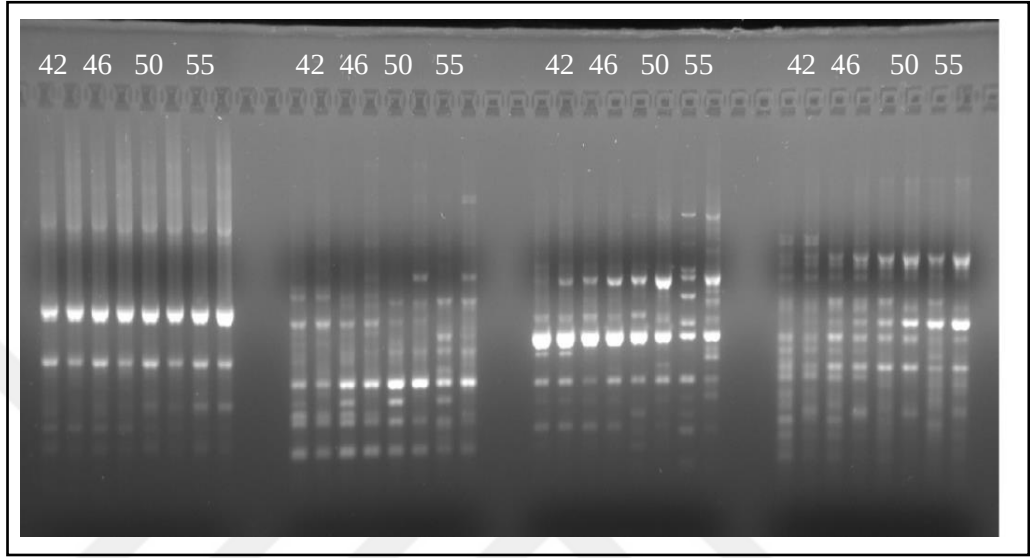
2.3	165.7	1.84	16.3	867.1	2.02
3.1	551.9	1.89	17.1	627.6	1.91
3.2	321.8	1.94	17.2	264.4	1.94
3.3	1448.4	1.93	17.3	618.9	2.12
4.1	1049.5	1.92	18.1	165.1	1.83
4.2	1203.0	1.98	18.2	528.0	1.98
4.3	1065.2	2.15	18.3	192.6	1.79
5.1	519.5	1.90	19.1	439.3	1.88
5.2	696.1	1.87	19.2	304.0	1.85
5.3	466.5	1.91	19.3	451.0	1.87
6.1	205.8	1.87	20.1	195.7	1.78
6.2	259.4	1.61	20.2	408.8	1.84
6.3	454.4	1.93	20.3	187.1	1.84
7.1	894.5	1.82	21.1	247.7	1.77
7.2	1240.4	2.07	21.2	639.5	1.90
7.3	1274.1	1.83	21.3	807.8	1.90
8.1	1725.0	1.94	22.1	230.3	1.84
8.2	384.9	1.91	22.2	310.9	1.71
8.3	1738.5	1.96	22.3	306.4	1.85
9.1	445.4	1.84	23.1	227.2	1.86
9.2	190.3	1.85	23.2	198.6	1.85
9.3	251.3	1.86	23.3	525.0	1.90
10.1	275.1	1.88	24.1	355.2	1.83
10.2	254.9	1.87	24.2	426.1	1.84
10.3	225.0	1.81	24.3	469.0	1.84
11.1	284.1	1.87	25.1	693.2	1.86
11.2	608.4	1.91	25.2	182.5	1.79
11.3	520.8	1.88	25.3	520.4	1.87
12.1	367.5	1.95	26.1	524.5	1.68
12.2	516.8	1.88	26.2	232.6	1.83
12.3	365.9	1.88	26.3	329.5	1.86
13.1	489.8	1.99	27.1	318.3	1.83
13.2	533.6	1.93	27.2	252.3	2.25
13.3	340.4	1.88	27.3	352.2	1.87
14.1	477.3	1.88			
14.2	264.4	1.83			
14.3	313.4	1.77			

4.2. RAPD, Kloroplast ve Transpozon Analizleri

4.2.1. Moleküler Markör Analiz Sonuçları

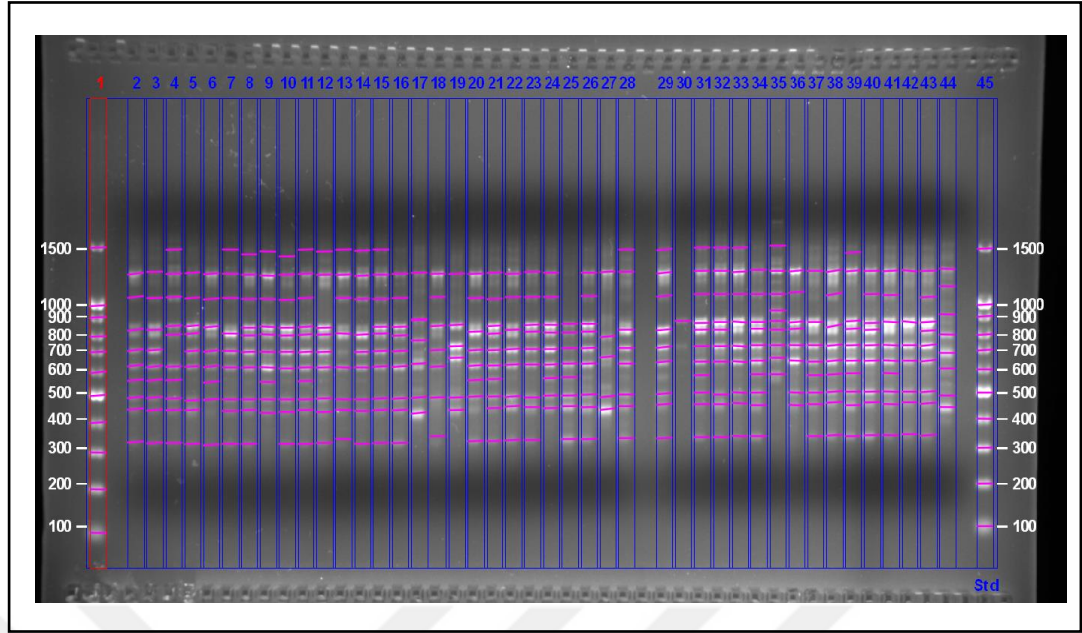
Bu çalışmada 10 RAPD, 8 kloroplast, 25 transpozon primerlerinin en iyi bant verdikleri sıcaklığı belirlemek için 38-62 °C’de gradient PZR reaksiyonları yapılmıştır (Şekil 4.2). Her primer için belirlenen en uygun bağlanma sıcaklığı ile RAPD,

kloroplast ve transpozon analizleri yapılmıştır. 81 adet çerezlik kabak genotipinin (3 adet *C. moschata*, 23 adet *C. pepo* ve 1 adet *C. maxima*) 43 adet RAPD, kloroplast ve transpozon primerleriyle yapılan markör analizleri %1,5'luk agaroz jel elektroforezi kullanılarak yürütülmüştür. Yürütülen jel görüntülerinin alınması için Biorad jel görüntüleme cihazı kullanılmıştır (Ek A).



Şekil 4.2: 4 farklı transpozon primerine ait 42-46-50-55 °C'deki gradient PZR agaroz jel elektroforez görüntüsü.

RAPD, kloroplast ve transpozon analizlerinin bant sonuçları her primerin jel görüntüsü kullanılarak Image Lab. bilgisayar programıyla işaretlenmiş ve bantların raporları oluşturulmuştur (Şekil 4.3). Agaroz jel elektroforezinde 100 bp DNA standart olarak kullanılmış ve bu standarta göre bant büyüklükleri belirlenmiştir. Jel görüntülerinde 'M' harfi ile gösterilen DNA markörüdür. Programda 100 bp DNA markörü seçilerek bantların büyüklük bilgisine ulaşılmıştır.



Şekil 4.3: Elde edilen markörlerin 100 bp DNA standartı kullanılarak Image Lab programı ile bant büyüklüklerinin tespit edilmesi.

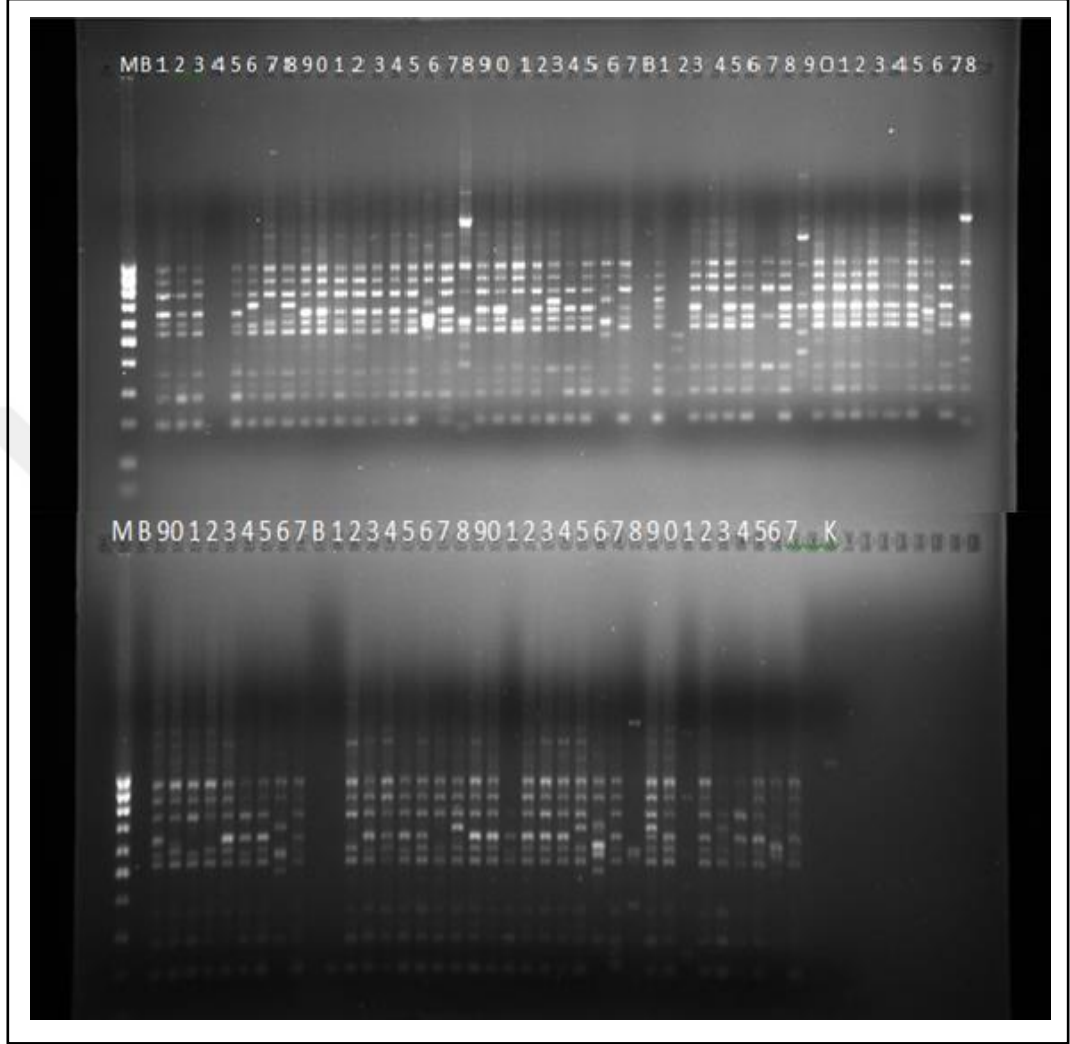
4.2.2. RAPD Markör Analizi Sonuçları

Çerezlik kabak genotiplerinin 10 adet RAPD primeri ile analizi sonucunda tüm primerler polimorfik bant profili göstermiştir. Çalışmada bu primerler ile lokus büyüklüğü 110-2900 bp değerleri arasında toplam 138 bant üretilmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2: Kullanılan RAPD primerleri ile elde edilen polimorfizm bilgileri, alel boyutları ve bağlanma sıcaklıkları.

No	Primer Adı	Polimorfizm Bilgisi	Alel Boyutu (bp)	Bağlanma Sıcaklığı (°C)
1	OPF-06	Polimorfik	185-2200	41
2	OG-06	Polimorfik	225-2100	41
3	OPH-18	Polimorfik	196-1900	42
4	OPH-04	Polimorfik	208-2400	42
5	OH-12	Polimorfik	475-2400	43
6	OPA-13	Polimorfik	210-1750	43
7	OPB-07	Polimorfik	110-1800	44
8	OPAW-7	Polimorfik	160-1700	44
9	OPJ-16	Polimorfik	273-1900	44
10	OPAL-12	Polimorfik	240-2900	44

OPH-18 primeri polimorfik bantlar vermiş ve jel görüntüsü sonucu Şekil 4.4'te verilmiştir. RAPD primerlerinin tümünün polimorfik bantlar verdiği agaroz jel sonuçlarında görülmüştür.



Şekil 4.4: OPH-18 primerinin agaroz jel elektroforezi sonucu: 81 kabak genotipinin ilk grubu birinci 1-27., ikinci grubu diğer 1-27., üçüncü grubu son 1-27. kuyucuklardadır, M: DNA Ladder.

18 bant ile OPF-6 primerinin diğer RAPD primerlerinden daha fazla bant verdiği görülmüştür. RAPD primerlerinin ürettiği ortalama bant sayısı 14 bulunmuştur. Çalışmada kullanılan çerezlik kabak genotiplerinin RAPD primerleri ile analizleri sonucunda hesaplanan her primerin verdiği toplam ve polimorfik bantların sayısı, polimorfizm oranları (%) ve polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) Tablo 4.3'te bulunmaktadır.

Tablo 4.3: Kullanılan RAPD primerlerinin toplam ve polimorfik bant sayıları, polimorfizm oranları (%) ve polimorfizm bilgi içerikleri (PBI).

No	Primer Adı	Toplam Bant Sayısı	Polimorfik Bant Sayısı	Polimorfizm Oranı (%)	PBI
1	OPF-06	18	18	100	0.93
2	OG-06	16	16	100	0.91
3	OPH-18	16	14	87.5	0.92
4	OPH-04	12	11	91.6	0.91
5	OH-12	11	10	90.90	0.87
6	OPA-13	13	5	38.46	0.92
7	OPB-07	11	10	90.90	0.91
8	OPAW-7	11	8	72.72	0.90
9	OPJ-16	14	14	100	0.90
10	OPAL-12	16	15	73.75	0.91
Toplam		138	121	-	9.08
Ortalama		13.8	12.1	75.49	0.9

Bu çalışmada ortalama polimorfizm oranı %75.49 bulunmuştur, en yüksek polimorfizm oranı %100 ile OPF-6, OG-6 ve OPJ-16 primerlerinde, en düşük polimorfizm oranı ise %38.46 ile OPA-13 primerinde tespit edilmiştir. En yüksek Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) 0.93 ile OPF-06 primerinde, en düşük Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) değeri ise 0.87 ile OH-12 primerinde bulunmuştur. Ortalama Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) değeri 0.9 olarak hesaplanmıştır ve tüm primerlerin polimorfizm bilgi içeriği 0.5 değerinden yüksek bulunmuştur. Çalışmada kullanılan tüm RAPD markörlerinin yüksek bilgilendirici markörler olduğu görülmüştür.

4.2.2.1. RAPD Verilerine Dayalı Kümeleme Analizi

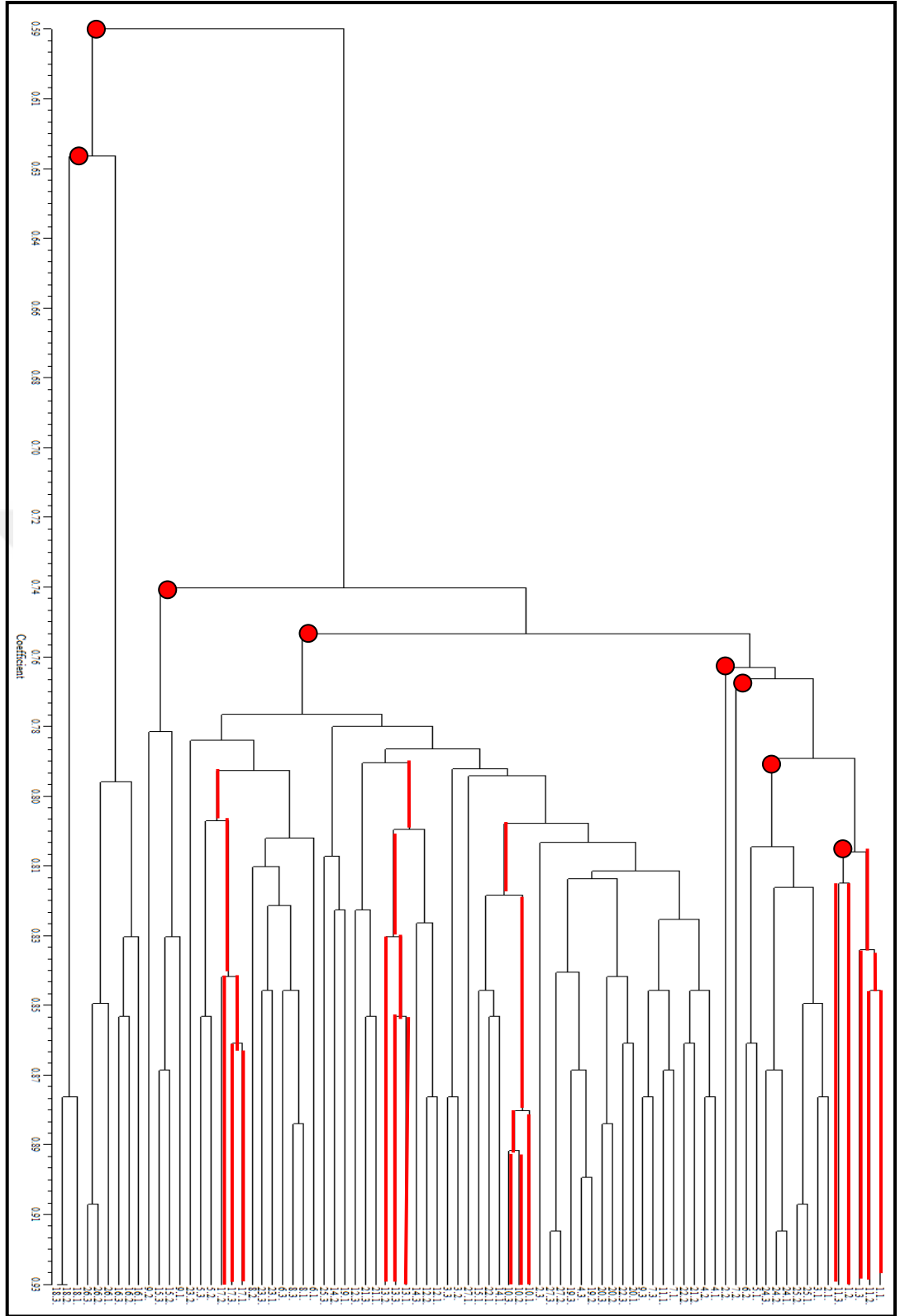
RAPD primerlerinden elde edilen 81 adet kabak genotipine ait bant verisi kullanılarak NTSYS-pc versiyon 2.02i [Rohlf, 1998] bilgisayar programı kümeleme analizi ile SimQual algoritması ve SAHN modülü seçilerek UPGMA yöntemine göre bir dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 4.5).

Şekil 4.5'te gösterilen dendrogramda genotipler önce iki ana gruba (0.59 mesafe ile) ayrılmıştır. İlk grup dış gruptur ve kendi içinde iki kola ayrılmıştır. *C. moschata*

(Sakarya) (18) genotipi (0.63 mesafe ile) grubun bir kolunu, *C. maxima* (Sakarya) (26) ve *C. moschata* (Çin) (16) genotipleri ise grubun ikinci kolunu oluşturmuştur.

İkinci ana grup ise kendi içinde 6 kola ayrılmıştır ve grubun bir kolunda (0.850 mesafe ile) *C. moschata* (Uzunköprü) (1) genotipi ile *C. pepo* (Macaristan) (11) genotipi yer almıştır. Geriye kalan 5 alt grup arasında belirgin bir ayrılma gözlenmemiştir ancak coğrafi olarak farklı bölgelerden gelen, *C. pepo* (Bulgaristan) (17) (0.84 mesafe ile), *C. pepo* (Macaristan) (10) (0.82 mesafe ile) ve *C. pepo* (İzmir) (13) (0.805 mesafe ile) dendrogramın ayrı dallarını oluşturmuştur.





Şekil 4.5: RAPD markör verileri kullanılarak 81 adet kabak genotipinin UPGMA yöntemi ile oluşturulan dendrogramı.

POPGENE ve XLSTAT analiz programları kullanılarak 81 adet *Cucurbita sp.* genotipinin uzaklık yakınlık mesafe matrisleri oluşturulmuştur. Hem POPGENE hem de XLSTAT programından elde edilen verilere göre en yüksek genetik benzerlik (0.8644) / en düşük genetik mesafe (0.1070) değeri ile *C. pepo* (Edirne) (4)- *C. pepo* (Çin) (19) genotipleri arasında bulunmuştur (Tablo 4.4, Tablo 4.5) (Ek B).

Tablo 4.4: RAPD markörlerinin POPGENE ile en yüksek genetik benzerlik matrisi.

En Yüksek Genetik Benzerlik (0.8986) / En Düşük Genetik Mesafe (0.1070)	
<i>C. pepo</i> (Edirne) 4.2	<i>C. pepo</i> (Çin) 19.1
Yüksek Genetik Benzerlik (0.8913) / Düşük Genetik Mesafe (0.1151)	
<i>C. pepo</i> (Edirne) 9.3	<i>C. pepo</i> (Macaristan) 10.3
Yüksek Genetik Benzerlik (0.8768) / Düşük Genetik Mesafe (0.1315)	
<i>C. pepo</i> (İzmir) 14.1	<i>C. pepo</i> (Macaristan) 10.3
<i>C. pepo</i> (Edirne) 4.3	<i>C. pepo</i> (Macaristan) 10.3
<i>C. pepo</i> (Edirne) 23.2	<i>C. pepo</i> (Aydın) 24.2
<i>C. pepo</i> (Edirne) 25.3	<i>C. pepo</i> (Adapazarı) 5.3
<i>C. pepo</i> (Edirne) 9.3	<i>C. pepo</i> (Ürgüp) 7.3

Tablo 4.5.: RAPD markörlerinin XLSTAT ile en yüksek genetik benzerlik matrisi.

En Yüksek Genetik Benzerlik (0.861) / En Düşük Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (Edirne) 4.3	<i>C. pepo</i> (Çin) 19.2
Yüksek Genetik Benzerlik (0.850) / Düşük Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (Edirne) 9.3	<i>C. pepo</i> (Macaristan) 10.3
Yüksek Genetik Benzerlik (0.832) / Düşük Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (Edirne) 4.3	<i>C. pepo</i> (Macaristan) 10.3
Yüksek Genetik Benzerlik (0.830) / Düşük Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (İzmir) 14.1	<i>C. pepo</i> (Macaristan) 10.3
<i>C. pepo</i> (Edirne) 9.3	<i>C. pepo</i> (Ürgüp) 7.3
Yüksek Genetik Benzerlik (0.827) / Düşük Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (Edirne) 4.1	<i>C. pepo</i> (İzmir) 14.1

POPGENE programı kullanılarak elde edilen verilere göre en düşük genetik benzerlik (0.4928) / en yüksek genetik mesafe (0.7077) değeri ile *C. pepo* (İzmir) (13.1)- *C. moschata* (Çin) (16.1) genotipleri arasında, XLSTAT programı kullanılarak elde edilen verilere göre en düşük genetik benzerlik (0.416) / en yüksek genetik mesafe değeri ile *C. maxima* (Sakarya) (26.2)-*C. pepo* (Adapazarı) (5.1) genotipleri arasında bulunmuştur (Tablo 4.6, Tablo 4.7).

Tablo 4.6: RAPD markörlerinin POPGENE ile en düşük genetik benzerlik matriksi.

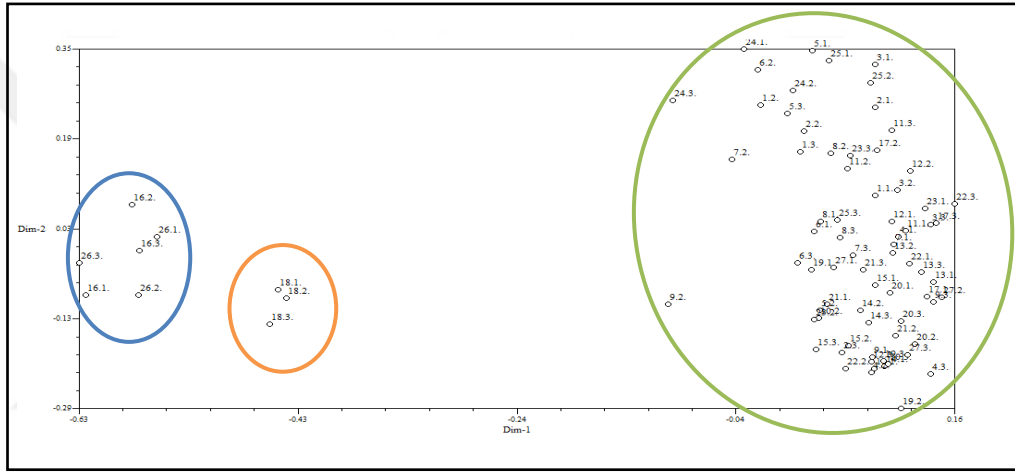
En Düşük Genetik Benzerlik (0.4928) / En Yüksek Genetik Mesafe (0.7077)	
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (İzmir) 13.1
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Bulgaristan) 17.3
Düşük Genetik Benzerlik (0.5000) / Yüksek Genetik Mesafe (0.6931)	
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Bulgaristan) 17.2
Düşük Genetik Benzerlik (0.5145) / Yüksek Genetik Mesafe (0.6646)	
<i>C. maxima</i> (Sakarya) 26.1	<i>C. pepo</i> (Macaristan) 10.1
<i>C. maxima</i> (Sakarya) 26.2	<i>C. pepo</i> (Macaristan) 11.1
Düşük Genetik Benzerlik (0.5217) / Yüksek Genetik Mesafe (0.6506)	
<i>C. maxima</i> (Sakarya) 26.2	<i>C. pepo</i> (Adapazarı) 5.1
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (İzmir) 13.2
<i>C. maxima</i> (Sakarya) 26.3	<i>C. pepo</i> (Macaristan) 11.3

Tablo 4.7: RAPD markörlerinin XLSTAT ile en düşük genetik benzerlik matriksi.

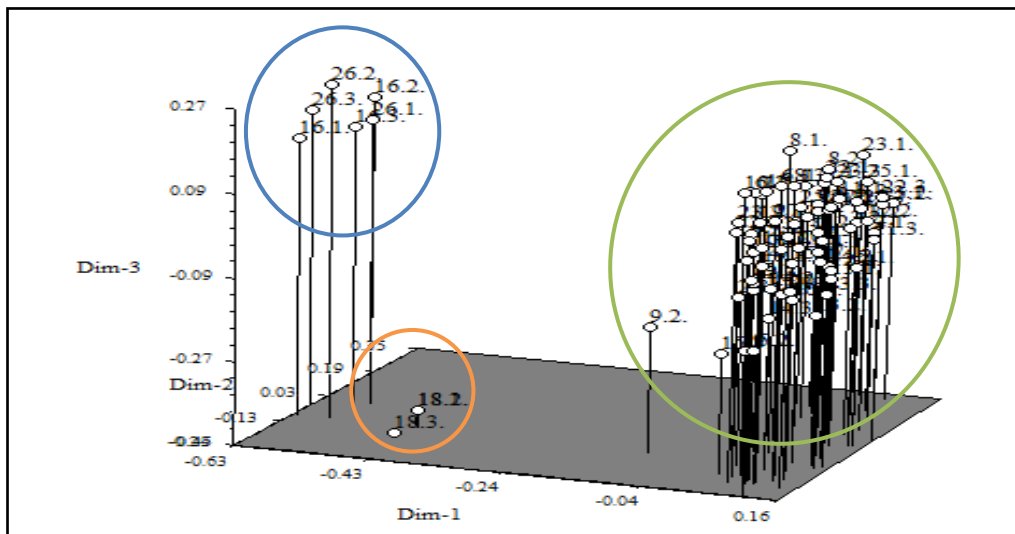
En Düşük Genetik Benzerlik (0.416) / En Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. maxima</i> (Sakarya) 26.2	<i>C. pepo</i> (Adapazarı) 5.1
Düşük Genetik Benzerlik (0.417) / Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Bulgaristan) 17.3
Düşük Genetik Benzerlik (0.419) / Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Nevşehir) 27.2
Düşük Genetik Benzerlik (0.420) / Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Bulgaristan) 17.2
Düşük Genetik Benzerlik (0.421) / Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. maxima</i> (Sakarya) 26.3	<i>C. pepo</i> (Macaristan) 11.3

4.2.2.2. RAPD Verilerine Dayalı Temel Bileşen Analizi (PCA)

RAPD markör analizleri sonucunda gerçekleştirilen PCA (Principle Component Analysis) analizi ile 81 kabak örneğine ait dağılım analizi sonucu 2D ve 3D görüntüleri elde edilmiştir. Bu sonuçlar Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de verilmiştir. Hem 2D hem de 3D PCA görüntüsüne göre genotipler 3 gruba ayrılmıştır. İlki; *C. moschata* (Sakarya) (18) genotipi, ikincisi *C. moschata* (Çin) (16) ve *C. maxima* (Sakarya) (26) ve üçüncüsü ise geriye kalan *C. moschata* (Uzunköprü) (1) ve diğer *C. pepo* genotipleri ile oluşturulmuştur.



Şekil 4.6: 81 kabak genotipinde RAPD markör verileri ile oluşturulan 2D PCA sonuçları.



Şekil 4.7: 81 kabak genotipinde RAPD markör verileri ile oluşturulan 3D PCA sonuçları.

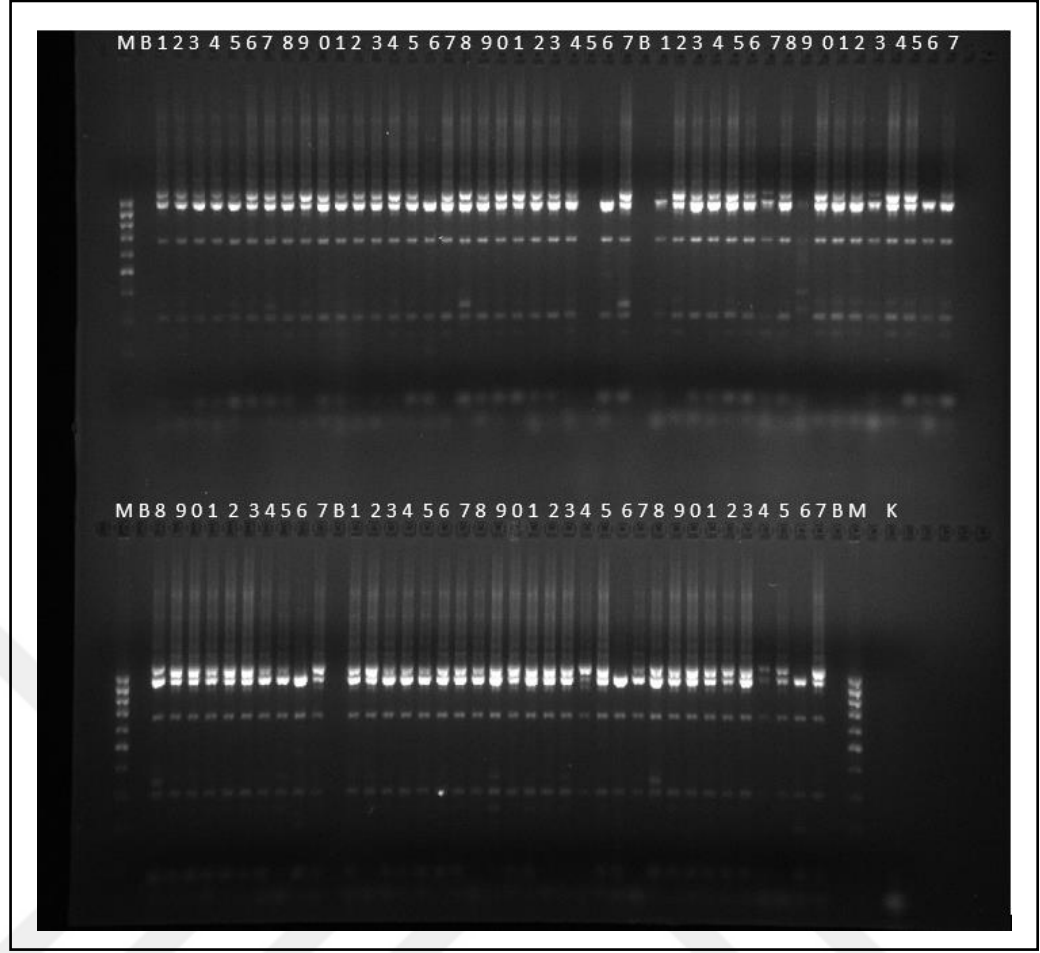
4.2.3. Kloroplast Markör Analizi Sonuçları

Çerezlik kabak genotiplerinin 8 adet kloroplast primeri ile analizi sonucunda 4 primer monomorfik, 4 primer ise polimorfik bant profili göstermiştir. Çalışmada 8 adet kloroplast primeri lokus büyüklüğü 210-1700 bp değerleri arasında toplam 30 bant üretmiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4.8: Kullanılan kloroplast primerleri ile elde edilen polimorfizm bilgileri, alel boyutları ve bağlanma sıcaklıkları (Ta).

No	Primer Adı	Polimorfizm Bilgisi	Alel Boyutu (bp)	Ta (°C)
1	psbJ petA	Monomorfik	770-1100	52
2	PsbD trnT	Polimorfik	335-1250	52
3	atpI atpH	Monomorfik	1070	52
4	a- B48557 b- A49291	Monomorfik	210-1700	50
5	c- B49317 d- A49855	Polimorfik	220-860	54
6	e- B49873 f- A50272	Polimorfik	450-1200	48
7	c- B49317 f- A50272	Polimorfik	276-1100	54
8	matK-AF matK-8R	Monomorfik	1300	49.5

B49317- A50272 (c-f) primeri polimorfik bantlar vermiş ve jel görüntüsü sonucu Şekil 4.8’de, psbJ-petA primeri ise monomorfik bantlar vermiş ve jel görüntüsü sonucu şekil 4.9’da görülmektedir.



Şekil 4.8: B49317- A50272 (c-f) primerinin agaroz jel elektroforezi sonucu: 81 kabak genotipinin ilk grubu birinci 1-27., ikinci grubu diğer 1-27., üçüncü grubu son 1-27. kuyucuklardadır, M: DNA Ladder.

Tablo 4.9: Kullanılan kloroplast primerlerinin toplam ve polimorfik bant sayıları, polimorfizm oranları (%) ve polimorfizm bilgi içerikleri (PBI).

No	Primer Adı	Toplam Bant Sayısı	Polimorfik Bant Sayısı	Polimorfiz Oranı (%)	PBI
1	psbJ petA	2	-	0	0
2	PsbD trnT	7	7	100	0.79
3	atpI atpH	1	-	0	0
4	a- B48557 b- A49291	2	-	0	0
5	c- B49317 d- A49855	6	3	50	0.83
6	e- B49873 f- A50272	5	4	80	0.80
7	c- B49317 f- A50272	6	3	50	0.79
8	matK-AF matK-8R	1	-	0	0
Toplam		30	17	-	3.21
Ortalama		3.75	2.12	35	0.40

Bu çalışmada her kloroplast markörü için ortalama polimorfizm oranı %35 bulunmuştur, en yüksek polimorfizm oranı %100 ile PsbD-trnT, en düşük polimorfizm oranı ise %0 ile I-H, MATK, A-B VE J-A markörlerinde tespit edilmiştir. En yüksek Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) 0.83 ile B49317-A49855 (c-d) primerinde, en düşük Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) değeri ise 0.79 ile PsbD-trnT ve B49317-A50272 (c-f) primerlerinde bulunmuştur. Ortalama Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) değeri 0.4 olarak hesaplanmıştır ve B49317-A49855 (c-d), B49873-A50272 (e-f), B49317-A50272 (c-f) ve PsbD-trnT primerlerinin polimorfizm bilgi içeriği 0.5 değerinden yüksek bulunmuştur. Çalışmada kullanılan 4 adet kloroplast markörünün yüksek bilgilendirici markörler olduğu görülmüştür.

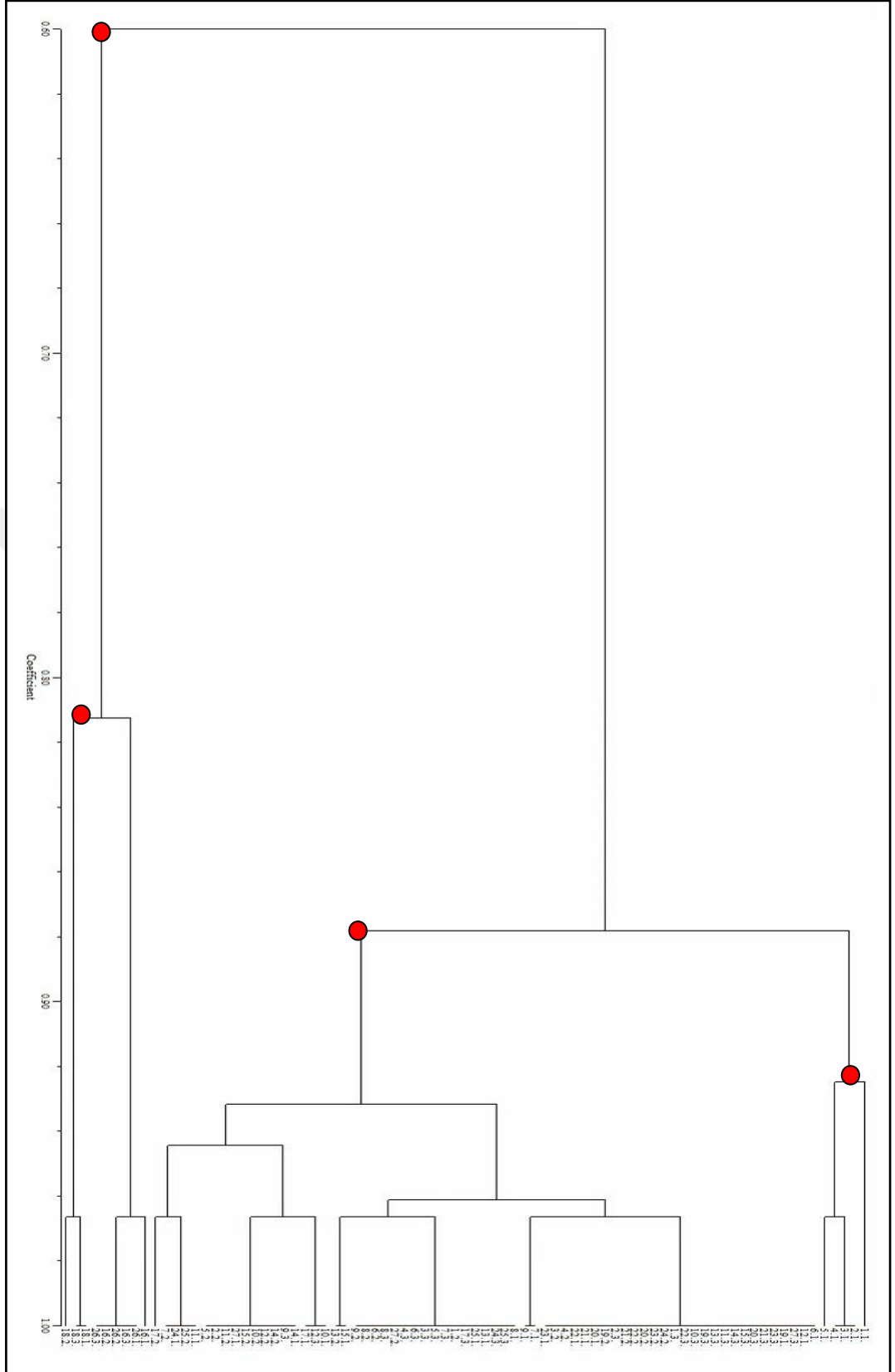
4.2.3.1 Kloroplast Verilerine Dayalı Kümeleme Analizi

Kloroplast primerlerinden elde edilen 81 adet kabak genotipine ait bant verisi kullanılarak NTSYS-pc versiyon 2.02i [Rohlf, 1998] bilgisayar programı kümeleme

analizi ile SimQual algoritması ve SAHN modülü seçilerek UPGMA yöntemine göre bir dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 4.10).

Şekil 4.10'te gösterilen dendrogramda genotipler önce iki ana gruba (0.60 mesafe ile) ayrılmıştır. İlk grup dış gruptur ve kendi içinde iki kola ayrılmıştır. *C. moschata* (Sakarya) (18) genotipi (0.81 mesafe ile) grubun bir kolunu, *C. maxima* (Sakarya) (26) ve *C. moschata* (Çin) (16) genotipleri ise grubun ikinci kolunu oluşturmuştur.

C. moschata (Uzunköprü) (1) genotipi ve tüm *C. pepo* genotiplerinin bir arada ikinci grupta yer aldığı gözlenmektedir. İkinci grup ise kendi içinde yine iki ana kola (0.88 mesafe ile) ayrılmıştır. Birinci kolunu *C. moschata* (Uzunköprü) (1), *C. pepo* (Adapazarı) (2), *C. pepo* (Adapazarı) (3), *C. pepo* (Edirne)-2015 (4) ve *C. pepo* (Adapazarı) (5) genotipleri oluşturmuştur. Diğer genotipler ise dendrogramın ayrı bir kolunu oluşturmuştur.



Şekil 4.10: Kloroplast markör verileri kullanılarak 81 adet kabak genotipinin UPGMA yöntemi ile oluşturulan dendrogramı.

POPGENE ve XLSTAT istatistiksel analiz programları kullanılarak 81 adet *Cucurbita sp.* genotipinin uzaklık yakınlık mesafe matrisleri oluşturulmuştur. Hem POPGENE verilerinde hem de XLSTAT programı verilerinde uzaklık mesafe değerleri değişse de aynı örneklerin birbirine en uzak olduğu görülmüştür (Ek B).

POPGENE ve XLSTAT programlarından elde edilen verilere göre en yüksek genetik benzerlik / en düşük genetik mesafe değerleri incelendiğinde örnekler arasında belirli bir ayrım gerçekleşmediği saptanmıştır.

POPGENE ve XLSTAT programı kullanılarak elde edilen verilere göre her iki matriste de en düşük genetik benzerlik (0.5051) / en yüksek genetik mesafe (0.6380) değeri ile *C. pepo* (Adapazarı) (5.1)- *C. moschata* (Çin) (16.1) genotipleri arasında bulunmuştur (Tablo 4.10, Tablo 4.11). Her iki program kullanılarak yapılan analizlerde *C. moschata* (Çin) (16) ve *C. maxima* (Sakarya) (26) genotiplerinin diğer *C. pepo* genotiplerine en düşük genetik benzerlik gösterdikleri görülmüştür.

Tablo 4.10: Kloroplast markörlerinin POPGENE ile en düşük genetik benzerlik matrisi.

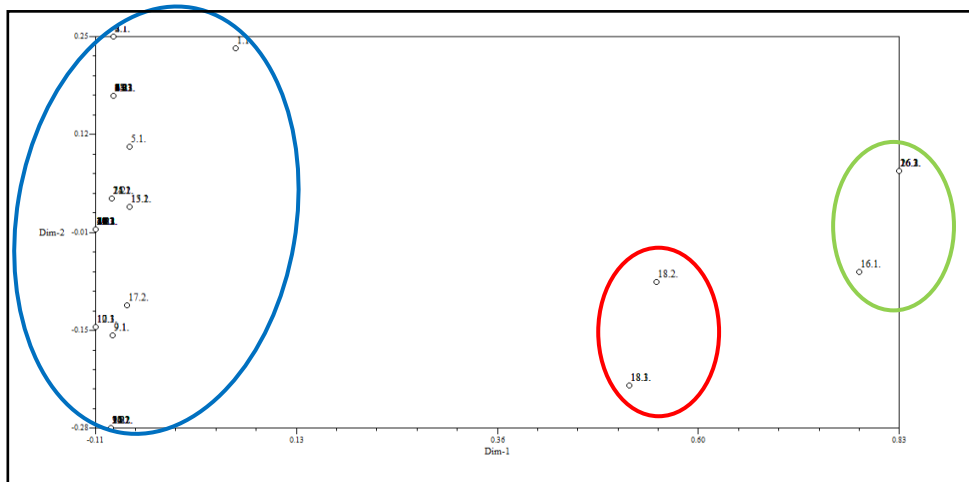
En Düşük Genetik Benzerlik (0.4667)	
/ En Yüksek Genetik Mesafe (0.7621)	
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Adapazarı)5.1
En Düşük Genetik Benzerlik (0.5000)	
/ En Yüksek Genetik Mesafe (0.6931)	
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Adapazarı)2.1
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Adapazarı)3.1
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Edirne)4.1
<i>C. maxima</i> (Sakarya) 26.1-2-3	<i>C. pepo</i> (Adapazarı)5.1-2-3
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.2-3	<i>C. pepo</i> (Adapazarı)5.1

Tablo 4.11: Kloroplast markörlerinin XLSTAT ile en düşük genetik benzerlik matriksi.

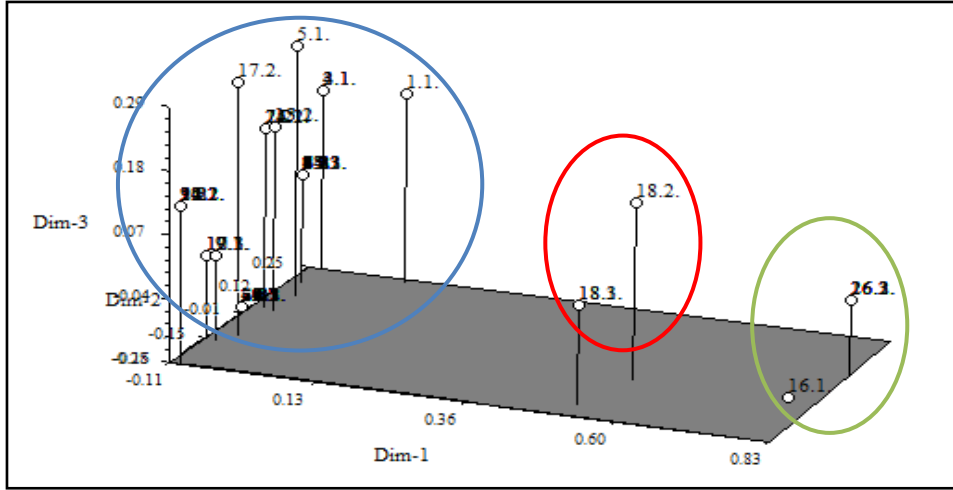
En Düşük Genetik Benzerlik (0.448)	
/ En Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Adapazarı) 5.1
En Düşük Genetik Benzerlik (0.464)	
/ En Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Adapazarı) 2.1
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Adapazarı) 3.1
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Edirne) 4.1
<i>C. maxima</i> (Sakarya) 26.1-2-3	<i>C. pepo</i> (Adapazarı) 5.1-2-3
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.2-3	<i>C. pepo</i> (Adapazarı) 5.1

4.2.3.2. Kloroplast Verilerine Dayalı Temel Bileşen Analizi

Kloroplast markör analizleri sonucunda oluşturulan PCA (Principle Component Analysis) ölçülüp 2D-3D görüntüleri elde edilmiştir. Bulunan 2D, 3D görüntüleri Şekil 4.11 ve Şekil 4.12’de verilmiştir. Hem 2D hem de 3D PCA görüntüsüne göre genotipler 3 gruba ayrılmıştır. İlki; *C. moschata* (Sakarya) (18) genotipi, ikincisi *C. moschata* (Çin) (16) ve *C. maxima* (Sakarya) (26) ve üçüncüsü ise geriye kalan *C. moschata* (Uzunköprü) (1) ve diğer *C. pepo* genotipleri ile oluşturulmuştur.



Şekil 4.11: 81 kabak genotipinde kloroplast markör sonuçları ile oluşturulan 2D PCA sonuçları.



Şekil 4.12: 81 kabak genotipinde kloroplast markör sonuçları ile oluşturulan 3D PCA sonuçları.

4.2.4. Transpozon Markör Analizi Sonuçları

Çerezlik kabak genotiplerinin 25 adet transpozon markörü ile analizi sonucunda 1 primer monomorfik, 24 primer polimorfik bant profili göstermiştir. Çalışmamızda 25 adet transpozon markörü ile lokus büyüklüğü 136-3280 bp değerleri arasında toplam 295 bant üretilmiştir (Tablo 4.12).

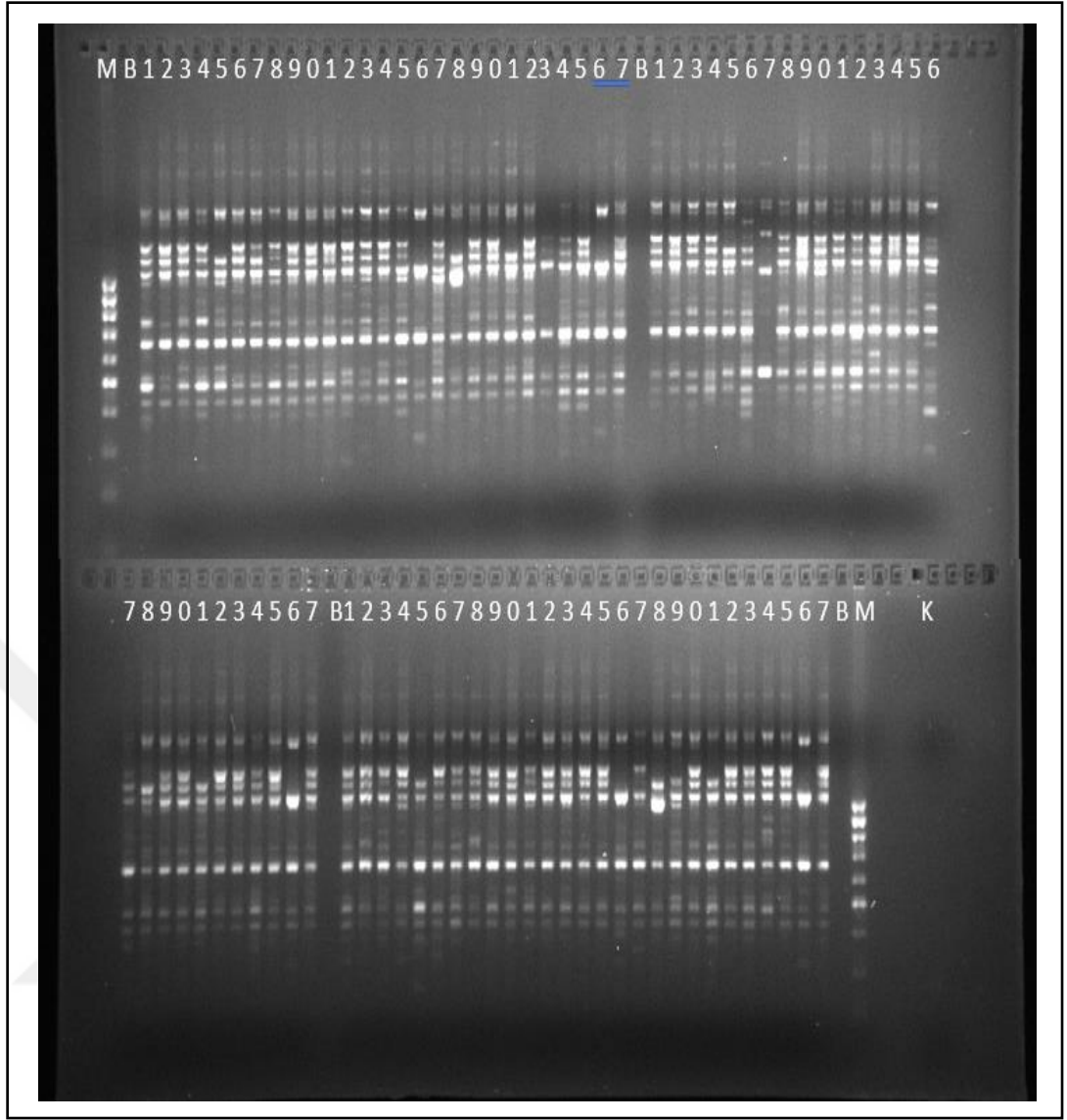
Tablo 4.12: Kullanılan transpozon primerleri ile elde edilen polimorfizm bilgileri, alel boyutları ve bağlanma sıcaklıkları (Ta).

No	Primer Adı	Polimorfizm Bilgisi	Alel Boyutu (bp)	Bağlanma Sıcaklığı (°C)
1	BARE -1-5980	Polimorfik	252-1850	47
2	BARE-1-92460	Polimorfik	200-1250	52
3	BARE-1-E1814	Polimorfik	291-1500	47
4	BARE -1-C0700	Polimorfik	382-3200	49
5	Sabrina-C0945	Polimorfik	383-3280	47
6	Sukkula-91673	Polimorfik	422-1800	56
7	BAGY-1-C2043	Polimorfik	231-1453	56
8	BAGY-1-4164	Polimorfik	259-1500	50
9	Nikita-E2647	Monomorfik	371-1800	55
10	Nikita-57	Polimorfik	390-2400	48

Tablo 4.12: Devam.

11	LTR1	Polimorfik	251-1500	46
12	LTR2	Polimorfik	358-1700	47
13	LTR3	Polimorfik	354-2100	46
14	LTR4	Polimorfik	341-1489	46
15	SIRE1	Polimorfik	228-1500	50
16	Sukkula-E0228	Polimorfik	292-664	48
17	BAGY-2-E0520	Polimorfik	648-1925	46
18	Sukkula-9900 F Sukkula-E0228 R	Polimorfik	136-837	46
19	BAGY-2-E0521 F BAGY-2-E0520R	Polimorfik	147-1448	46
20	Houba-F Houba-R	Polimorfik	411-1242	46
21	RIRE1-F RIRE1-R	Polimorfik	625-1472	46
22	Hopi-F Hopi-R	Polimorfik	218-1352	46
23	CM_8260 CM_8260-R	Polimorfik	287-1029	46
24	CM_9716 CM_9716-R	Polimorfik	232-860	40
25	CM_9728 CM_9728-R	Polimorfik	233-765	45

BARE-1-C0700 primeri polimorfik bantlar vermiş ve jel görüntüsü sonucu Şekil 4.13'te verilmiştir. Transpozon primerlerinin 24 tanesinin polimorfik bant verirken 1 tanesinin ise monomorfik bantlar verdiği agaroz jel sonuçlarında görülmüştür.



Şekil 4.13: BARE -1-C0700 primerinin agaroz jel elektroforez sonucu: 81 kabak genotipinin ilk grubu birinci 1-27., ikinci grubu diğer 1-27., üçüncü grubu son 1-27. Kuyucuklardadır, M: DNA Ladder.

22 bant ile BAGY-1-4164 primerinin diğer transpozon primerlerinden daha fazla bant verdiği görülmüştür. Transpozon primerlerinin ortalama bant sayısı 12 bulunmuştur. Polimorfik bant sayısı ortalaması 10 ve polimorfizm oranı 86.26 olarak hesaplanmıştır. Nikita-E2647 primeri ise 4 adet monomorfik bant vermiştir.

Çalışmada kullanılan çerezlik kabak genotiplerinin transpozon primerleri ile analizleri sonucunda hesaplanan her primerin verdiği toplam ve polimorfik bantların sayısı, polimorfizm oranları (%) ve polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) Tablo 4.13'te verilmiştir.

Tablo 4.13: Kullanılan kloroplast primerlerinin toplam ve polimorfik bant sayıları, polimorfizm oranları (%) ve polimorfizm bilgi içerikleri (PBI).

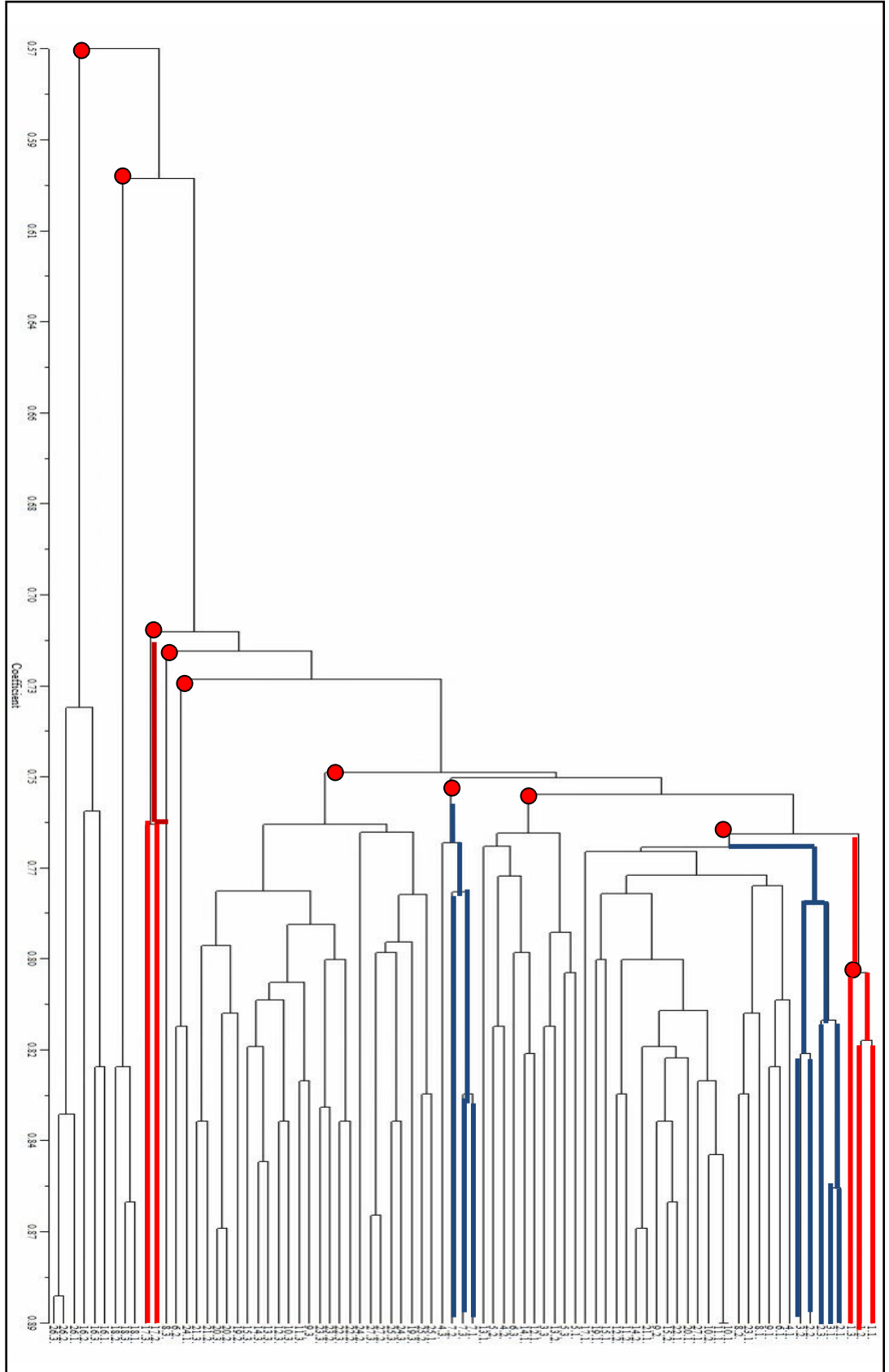
No	Primer Adı	Toplam Bant Sayısı	Polimorfik Bant Sayısı	Polimorfizm Oranı (%)	PBI
1	BARE -1-5980	14	13	92.85	0.88
2	BARE-1-92460	14	10	71.42	0.92
3	BARE-1-E1814	15	11	73.33	0.91
4	BARE -1-C0700	12	7	58.33	0.91
5	Sabrina-C0945	18	15	83.33	0.94
6	Sukkula-91673	15	14	93.33	0.90
7	BAGY-1-C2043	18	17	94.44	0.93
8	BAGY-1-4164	22	22	100	0.94
9	Nikita-E2647	4	0	-	0
10	Nikita-57	15	14	93.33	0.90
11	LTR1	16	16	100	0.91
12	LTR2	18	17	94.44	0.94
13	LTR3	10	7	70	0.79
14	LTR4	15	12	80	0.91
15	SIRE1	14	13	92.85	0.90
16	Sukkula-E0228	6	5	83.33	0.79
17	BAGY-2-E0520	10	9	90	0.87
18	Sukkula-9900 F Sukkula-E0228 R	8	8	100	0.84
19	BAGY-2-E0521 F BAGY-2-E0520R	7	7	100	0.79
20	Houba-F Houba-R	7	6	85.71	0.83
21	RIRE1-F RIRE1-R	3	3	100	0.65
22	Hopi-F Hopi-R	17	17	100	0.92
23	CM_8260 CM_8260-R	7	7	100	0.81
24	CM_9716 CM_9716-R	6	6	100	0.81
25	CM_9728 CM_9728-R	4	4	100	0.66
Toplam		295	260	-	20,69
Ortalama		11.8	10.4	86.26	0.82

En yüksek Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) 0.94 ile BAGY-1-4164 ve LTR2 primerlerinde, en düşük Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) değeri ise 0.65 ile RIRE1 primerinde bulunmuştur. Ortalama Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) değeri 0.82 olarak hesaplanmıştır ve transpozon primerlerinin polimorfizm bilgi içeriği 0.5 değerinden yüksek bulunmuştur. Çalışmada kullanılan 24 adet transpozon markörünün yüksek bilgilendirici markörler olduğu görülmüştür.

4.2.4.1. Transpozon Verilerine Dayalı Kümeleme Analizi

Transpozon primerlerinden elde edilen 81 adet kabak genotipine ait bant verisi kullanılarak NTSYS-pc versiyon 2.02i [Rohlf, 1998] bilgisayar programı kümeleme analizi ile SimQual algoritması ve SAHN modülü seçilerek UPGMA yöntemine göre bir dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 4.14).

Şekil 4.14'te gösterilen dendrogramda genotipler önce iki ana gruba (0.57 mesafe ile) ayrılmıştır. İlk grup dış gruptur ve kendi içinde iki kola ayrılmıştır. *C. moschata* (Çin) (16) ve *C. maxima* (Sakarya) (26) genotiplerinden oluşmuştur. İkinci grup ise ilk olarak iki kola (0.58 mesafe ile) ayrılmıştır ve *C. moschata* (Sakarya) (18) genotipi grubun bir kolunu oluşturmuştur. İkinci grubun daha sonra kendi içinde 8 kola ayrılmıştır ve bir kolunda (0.81 mesafe ile) *C. moschata* (Uzunköprü) (1) genotipi bulunmaktadır. Diğer 7 grup belirgin bir ayrılma göstermezken coğrafi olarak farklı bölgelerden gelen *C. pepo* (Bulgaristan) (17) (0.71 mesafe ile) bir dalı, *C. pepo* (Ürgüp) (7) (0.75 mesafe ile) bir dalı ve *C. pepo* (Adapazarı) (2,3) (0.76 mesafe ile) dendrogramın ayrı bir dalını oluşturmuştur.



Şekil 4.14: Transpozon markör verileri kullanılarak 81 adet kabak genotipinin UPGMA yöntemi ile oluşturulan dendrogramı.

POPGENE ve XLSTAT istatistiksel analiz programları kullanılarak 81 adet *Cucurbita sp.* genotipinin uzaklık yakınlık mesafe matrisleri oluşturulmuştur. Hem POPGENE verilerinde hem de XLSTAT programı verilerinde uzaklık yakınlık mesafe değerleri değişse de aynı örneklerin birbirine en yakın olduğu görülmüştür (Ek B).

POPGENE ve XLSTAT programlarından elde edilen verilere göre en yüksek genetik benzerlik (0.8644) / en düşük genetik mesafe (0.1457) değeri ile *C. pepo* (İzmir) (14.2)- *C. pepo* (Eskişehir) (21.1) genotipleri arasında bulunmuştur (Tablo 4.14, Tablo 4.15).

Tablo 4.14: Transpozon markörlerinin POPGENE en yüksek genetik benzerlik matrisi.

En Yüksek Genetik Benzerlik (0.8644)	
/ En Düşük Genetik Mesafe (0.1457)	
<i>C. pepo</i> (İzmir) 14.2	<i>C. pepo</i> (Eskişehir) 21.1
Yüksek Genetik Benzerlik (0.8576)	
/ Düşük Genetik Mesafe (0.)	
<i>C. pepo</i> (Sakarya) 15.2	<i>C. pepo</i> (Tekirdağ) 22.1
Yüksek Genetik Benzerlik (0.8542)	
/ Düşük Genetik Mesafe (0.1536)	
<i>C. pepo</i> (Sakarya) 15.2	<i>C. pepo</i> (İzmir) 14.2
Yüksek Genetik Benzerlik (0.8475)	
/ Düşük Genetik Mesafe (0.1655)	
<i>C. pepo</i> (Sakarya) 15.2	<i>C. pepo</i> (Eskişehir) 20.1
<i>C. pepo</i> (Edirne) 9.2	<i>C. pepo</i> (Tekirdağ) 22.1
Yüksek Genetik Benzerlik (0.8475)	
/ Düşük Genetik Mesafe (0.1695)	
<i>C. pepo</i> (İzmir) 14.2	<i>C. pepo</i> (Edirne) 9.2
<i>C. pepo</i> (İzmir) 14.2	<i>C. pepo</i> (Macaristan) 12.2

Tablo 4.15: Transpozon markörlerinin XLSTAT ile en yüksek genetik benzerlik matrisi.

En Yüksek Genetik Benzerlik (0.797)	
/ En Düşük Genetik Mesafe (0.)	
<i>C. pepo</i> (İzmir) 14.2	<i>C. pepo</i> (Eskişehir) 21.1
Yüksek Genetik Benzerlik (0.795)	
/ Düşük Genetik Mesafe (0.)	
<i>C. pepo</i> (Sakarya) 15.2	<i>C. pepo</i> (Tekirdağ) 22.1
Yüksek Genetik Benzerlik (0.788)	
/ Düşük Genetik Mesafe (0.)	

Tablo 4.15: Devam.

<i>C. pepo</i> (Sakarya) 15.2	<i>C. pepo</i> (İzmir) 14.2
Yüksek Genetik Benzerlik (0.777)	
/ Düşük Genetik Mesafe (0.)	
<i>C. pepo</i> (Sakarya) 15.2	<i>C. pepo</i> (Eskişehir) 20.1
<i>C. pepo</i> (Edirne) 9.2	<i>C. pepo</i> (Tekirdağ) 22.1
Yüksek Genetik Benzerlik (0.770)	
/ Düşük Genetik Mesafe (0.)	
<i>C. pepo</i> (Adapazarı) 2.2	<i>C. pepo</i> (Macaristan) 11.1
<i>C. pepo</i> (İzmir) 14.2	<i>C. pepo</i> (Edirne) 9.2

POPGENE programı kullanılarak elde edilen verilere göre en düşük genetik benzerlik (0.5051) / en yüksek genetik mesafe (0.6380) değeri ile *C. pepo* (Adapazarı) (2.1)- *C. moschata* (Çin) (16.1) genotipleri arasında bulunmuştur (Tablo 4.16). XLSTAT programı verilerine göre ise en düşük genetik benzerlik (0.395) / en yüksek genetik mesafe değeri ile *C. pepo* (Ürgüp) (17.3)- *C. moschata* (Çin) (16.2) genotipleri arasında bulunmuştur (Tablo 4.17). Her iki program kullanılarak yapılan analizlerde *C. moschata* (Çin) (16) ve *C. maxima* (Sakarya) (26) genotiplerinin diğer *C. pepo* genotiplerine en düşük genetik benzerlik gösterdikleri görülmüştür.

Tablo 4.16: Transpozon markörlerinin POPGENE ile en düşük genetik benzerlik matrisi.

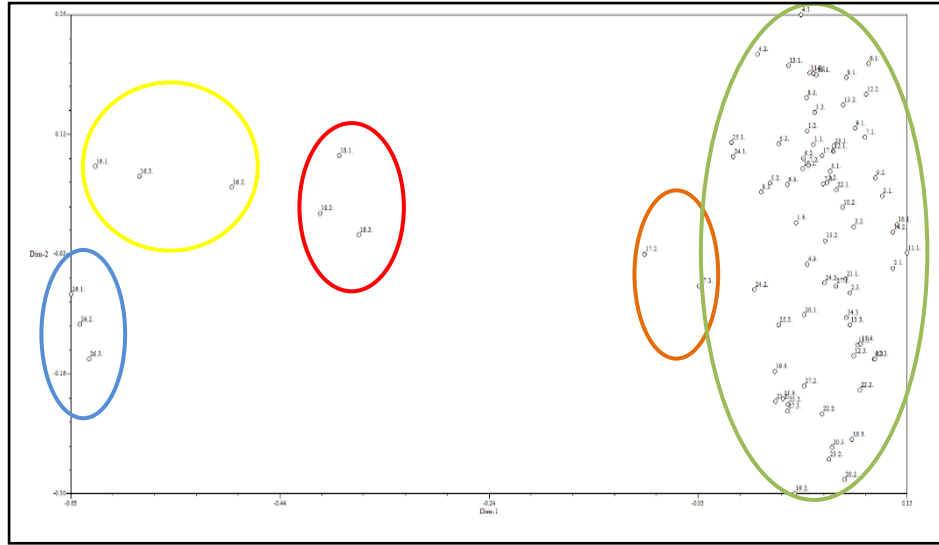
En Düşük Genetik Benzerlik (0.5051)	
/ En Yüksek Genetik Mesafe (0.6380)	
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Adapazarı) 2.1
<i>C. maxima</i> (Sakarya) 26.1	<i>C. pepo</i> (İzmir) 13.1
Düşük Genetik Benzerlik (0.5085)	
/ Yüksek Genetik Mesafe (0.6763)	
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Edirne) 23.2
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Sakarya) 15.2
Düşük Genetik Benzerlik (0.5119)	
/ Yüksek Genetik Mesafe (0.6118)	
<i>C. maxima</i> (Sakarya) 26.1	<i>C. pepo</i> (Macaristan) 11.2
Düşük Genetik Benzerlik (0.5153)	
/ Yüksek Genetik Mesafe (0.6631)	
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Ürgüp) 7.1
Düşük Genetik Benzerlik (0.5186)	
/ Yüksek Genetik Mesafe (0.6565)	
<i>C. moschata</i> (Çin) 16.1	<i>C. pepo</i> (Tekirdağ) 22.2
<i>C. maxima</i> (Sakarya) 26.1-3	<i>C. pepo</i> (Adapazarı) 3.2

Tablo 4.17: Transpozon markörlerinin XLSTAT ile en düşük genetik benzerlik matrisi.

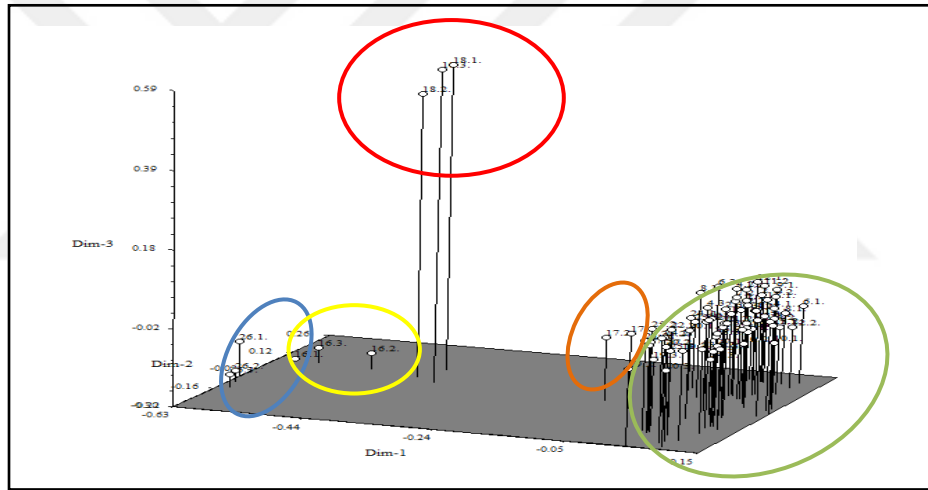
En Düşük Genetik Benzerlik (0.395)	
/ En Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. moschata</i> (Çin)16.2	<i>C. pepo</i> (Bulgaristan) 17.3
Düşük Genetik Benzerlik (0.401)	
/ Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. moschata</i> (Sakarya) 18.1	<i>C. pepo</i> (Çin) 19.2
Düşük Genetik Benzerlik (0.402)	
/ Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. moschata</i> (Çin)16.1	<i>C. pepo</i> (Ürgüp) 7.2
Düşük Genetik Benzerlik (0.403)	
/ Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. maxima</i> (Sakarya) 26.1	<i>C. pepo</i> (Adapazarı) 2.1
Düşük Genetik Benzerlik (0.404)	
/ Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. moschata</i> (Çin)16.1	<i>C. pepo</i> (Adapazarı) 2.1
Düşük Genetik Benzerlik (0.405)	
/ Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. maxima</i> (Sakarya) 26.3	<i>C. pepo</i> (Adapazarı) 2.1

4.2.4.2. Transpozon Verilerine Dayalı Temel Bileşen Analizi

Kloroplast markör analizleri sonucunda oluşturulan PCA (Principle Component Analysis) ölçülüp 2D-3D görüntüleri elde edilmiştir. Bulunan 2D, 3D görüntüleri Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da verilmiştir. Hem 2D hemde 3D PCA görüntüsüne göre genotipler 5 gruba ayrılmıştır. İlki; *C. moschata* (Sakarya) (18) genotipi, ikincisi *C. moschata* (Çin) (16) genotipi, üçüncüsü *C. maxima* (Sakarya) (26) genotipi, dördüncüsü; *C. pepo* (Bulgaristan) (17) genotipi ve beşincisini ise geriye kalan *C. moschata* (Uzunköprü) (1) ve diğer *C. pepo* genotipleri ile oluşturulmuştur.



Şekil 4.15: 81 kabak genotipinde transpozon markör sonuçları ile oluşturulan 2D PCA sonuçları.



Şekil 4.16: 81 kabak genotipinde transpozon markör sonuçları ile oluşturulan 3D PCA sonuçları.

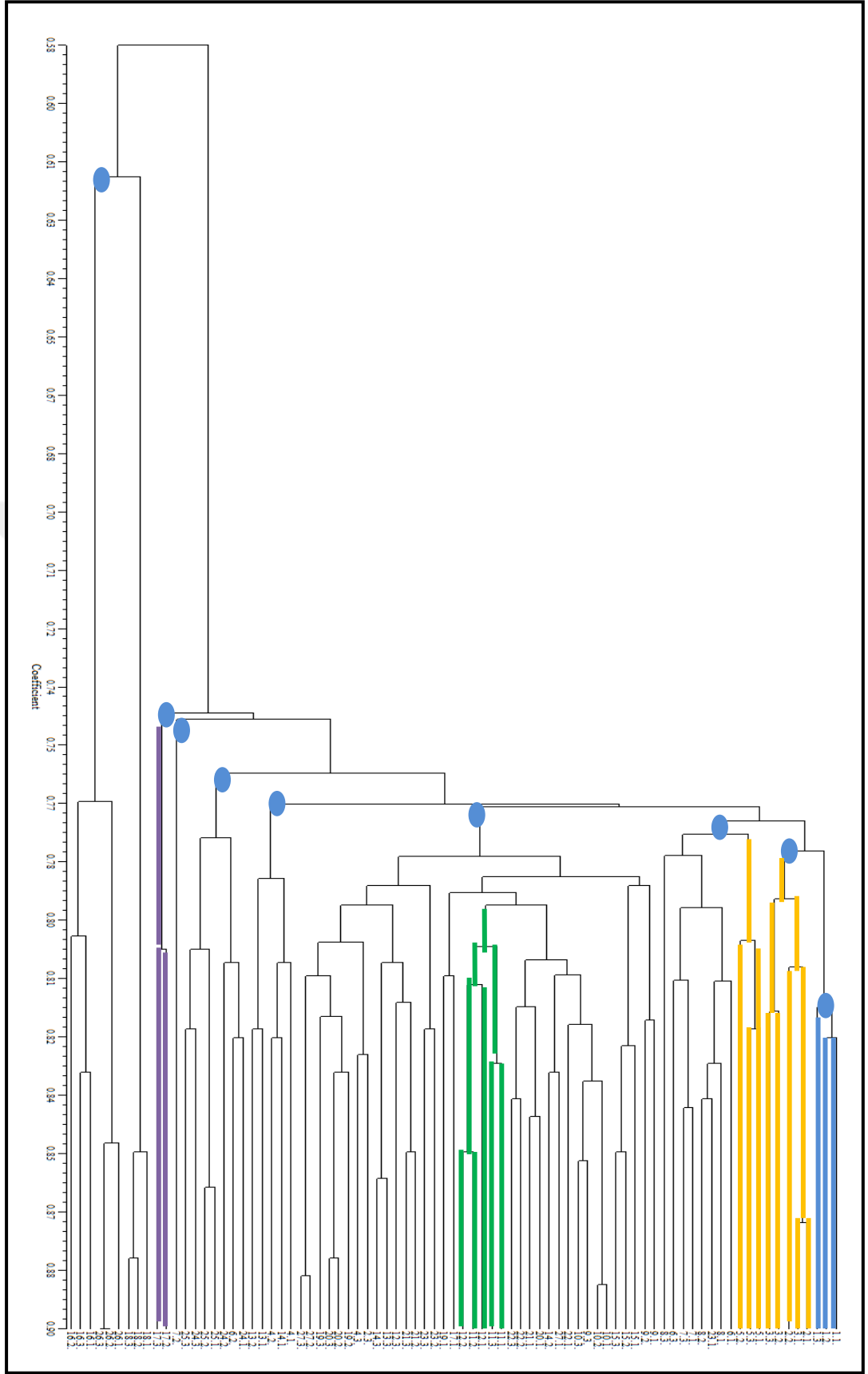
4.2.5. RAPD, Kloroplast ve Transpozon Verilerine Dayalı Kümeleme Analizi

Çalışmada kullanılan tüm RAPD, kloroplast ve transpozon primerlerinden elde edilen 81 adet kabak genotipine ait bant verisi kullanılarak NTSYS-pc versiyon 2.02i [Rohlf, 1998] bilgisayar programı kümeleme analizi ile SimQual algoritması ve SAHN modülü seçilerek UPGMA yöntemine göre bir dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 4.17).

Şekil 4.17’de gösterilen dendrogramda genotipler önce iki ana gruba (0.58 mesafe ile) ayrılmıştır. İlk grup dış gruptur ve kendi içinde iki kola ayrılmıştır. *C. moschata* (Çin) (16), *C. maxima* (Sakarya) (26) ve *C. moschata* (Sakarya) (18) genotiplerinden oluşmuştur. *C. moschata* (Sakarya) (18) (0.612 mesafe ile) dendrogramın ayrı bir kolunu oluşturmuştur.

İkinci grup ise kendi içinde 8 kola ayrılmıştır ve bir kolunda (0.78 mesafe ile) *C. moschata* (Uzunköprü) (1) genotipi bulunmaktadır. Diğer 7 grup *C. pepo* genotipleri belirgin bir ayrılma göstermezken coğrafi olarak farklı bölgelerden gelen *C. pepo* (Bulgaristan) (17) (0.71 mesafe ile) bir dalı, *C. pepo* (Adapazarı) (2-3-5) (0.80 mesafe ile) bir dalı ve *C. pepo* (Macaristan) (11-12) (0.80 mesafe ile) dendrogramın ayrı bir dalını oluşturmuştur.





Şekil 4.17: RAPD, kloroplast ve transpozon markör verileri kullanılarak 81 adet kabak genotipinin UPGMA yöntemi ile oluşturulan dendrogramı.

POPGENE ve XLSTAT istatistiksel analiz programları kullanılarak 81 adet *Cucurbita sp.* genotipinin uzaklık yakınlık mesafe matrisleri oluşturulmuştur. Hem POPGENE verilerinde hem de XLSTAT programı verilerinde uzaklık yakınlık mesafe değerleri değişse de aynı örneklerin birbirine en yakın olduğu görülmüştür (Ek B).

POPGENE ve XLSTAT programlarından elde edilen verilere göre en yüksek genetik benzerlik (0.8553) /en düşük genetik mesafe (0.1563) değeri ile *C. pepo* (Macaristan) (10.3)- *C. pepo* (Edirne) (9.3) genotipleri arasında bulunmuştur (Tablo 4.18, Tablo 4.19).

Tablo 4.18: RAPD, kloroplast ve transpozon markörlerinin POPGENE ile en yüksek genetik benzerlik matrisi.

En Yüksek Genetik Benzerlik (0.8553) / En Düşük Genetik Mesafe (0.1563)	
<i>C. pepo</i> (Macaristan) (10.3)	<i>C. pepo</i> (Edirne) (9.3)
Yüksek Genetik Benzerlik (0.8488) / Düşük Genetik Mesafe (0.1639)	
<i>C. pepo</i> (İzmir) (14.2)	<i>C. pepo</i> (Sakarya) (15.2)
Yüksek Genetik Benzerlik (0.8423) / Düşük Genetik Mesafe (0.1716)	
<i>C. pepo</i> (Eskişehir) (21.2)	<i>C. pepo</i> (Tekirdağ) (22.2)
Yüksek Genetik Benzerlik (0.8402) / Düşük Genetik Mesafe (0.1741)	
<i>C. pepo</i> (Çin) (19.2-3)	<i>C. pepo</i> (Eskişehir) (20.2-3)
<i>C. pepo</i> (Edirne) (9.3)	<i>C. pepo</i> (Tekirdağ) (22.3)
<i>C. pepo</i> (Eskişehir) (21.3)	<i>C. pepo</i> (Tekirdağ) (22.3)
Yüksek Genetik Benzerlik (0.8380) / Düşük Genetik Mesafe (0.1767)	
<i>C. pepo</i> (Macaristan) (10.1)	<i>C. pepo</i> (Edirne) (9.2)
Yüksek Genetik Benzerlik (0.8359) / Düşük Genetik Mesafe (0.1793)	
<i>C. pepo</i> (Macaristan) (10.2)	<i>C. pepo</i> (Nevşehir) (27.1-2)
<i>C. pepo</i> (Macaristan) (10.1)	<i>C. pepo</i> (Tekirdağ) (22.1)

Tablo 4.19: RAPD, kloroplast ve transpozon markörlerinin XLSTAT ile en yüksek genetik benzerlik matrisi.

En Yüksek Genetik Benzerlik (0.794) / En Düşük Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (Macaristan) (10.3)	<i>C. pepo</i> (Edirne) (9.3)
Yüksek Genetik Benzerlik (0.792) / Düşük Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (İzmir) (14.2)	<i>C. pepo</i> (Sakarya) (15.2)
Yüksek Genetik Benzerlik (0.780) / Düşük Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (Çin) (19.3)	<i>C. pepo</i> (Eskişehir) (20.3)
Yüksek Genetik Benzerlik (0.777) / Düşük Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (Edirne) (9.3)	<i>C. pepo</i> (Macaristan)(10.1)
Yüksek Genetik Benzerlik (0.776) / Düşük Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (Macaristan) (10.1)	<i>C. pepo</i> (Tekirdağ) (22.1)
Yüksek Genetik Benzerlik (0.775) / Düşük Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (Macaristan) (10.2)	<i>C. pepo</i> (Nevşehir) (27.1)

POPGENE programı kullanılarak elde edilen verilere göre en düşük genetik benzerlik (0.5227) / en yüksek genetik mesafe (0.6488) değeri ile *C. pepo* (Adapazarı) (2.1)- *C. moschata* (Çin) (16.1) genotipleri arasında bulunmuştur (Tablo 4.20). XLSTAT programı verilerine göre ise en düşük genetik benzerlik (0.422) / en yüksek genetik mesafe değeri ile *C. pepo* (Ürgüp) (7.2)- *C. moschata* (Çin) (16.1) genotipleri arasında bulunmuştur (Tablo 4.21). Her iki program kullanılarak yapılan analizlerde *C. moschata* (Çin) (16) ve *C. maxima* (Sakarya) (26) genotiplerinin diğer *C. pepo* genotiplerine en düşük genetik benzerlik gösterdikleri görülmüştür.

Tablo 4.20: RAPD, kloroplast ve transpozon markörlerinin POPGENE ile en düşük genetik benzerlik matrisi.

En Düşük Genetik Benzerlik (0.5227) / En Yüksek Genetik Mesafe (0.6488)	
<i>C. pepo</i> (Adapazarı) (2.1)	<i>C. moschata</i> (Çin) (16.1)
Düşük Genetik Benzerlik (0.5248) / Yüksek Genetik Mesafe (0.6447)	
<i>C. pepo</i> (İzmir) (13.1)	<i>C. maxima</i> (Sakarya) (26.1)
Düşük Genetik Benzerlik (0.5270) / Yüksek Genetik Mesafe (0.6406)	
<i>C. pepo</i> (Nevşehir) (27.1)	<i>C. moschata</i> (Çin) (16.1)
Düşük Genetik Benzerlik (0.5292) / Yüksek Genetik Mesafe (0.6365)	
<i>C. pepo</i> (Edirne) (9.1)	<i>C. moschata</i> (Çin) (16.1)
Düşük Genetik Benzerlik (0.5313) / Yüksek Genetik Mesafe (0.6324)	
<i>C. pepo</i> (Edirne) (9.1)	<i>C. maxima</i> (Sakarya) (26.3)
<i>C. pepo</i> (İzmir) (13.1)	<i>C. maxima</i> (Sakarya) (26.3)
<i>C. pepo</i> (Sakarya) (15.3)	<i>C. moschata</i> (Çin) (16.1)
Düşük Genetik Benzerlik (0.5335) / Yüksek Genetik Mesafe (0.6283)	
<i>C. pepo</i> (Edirne) (9.1)	<i>C. maxima</i> (Sakarya) (26.1)
<i>C. pepo</i> (Macaristan) (11.1)	<i>C. moschata</i> (Çin) (16.1)
<i>C. pepo</i> (Ürgüp) (7.2)	<i>C. moschata</i> (Çin) (16.1)

Tablo 4.21: RAPD, kloroplast ve transpozon markörlerinin XLSTAT ile en düşük genetik benzerlik matrisi.

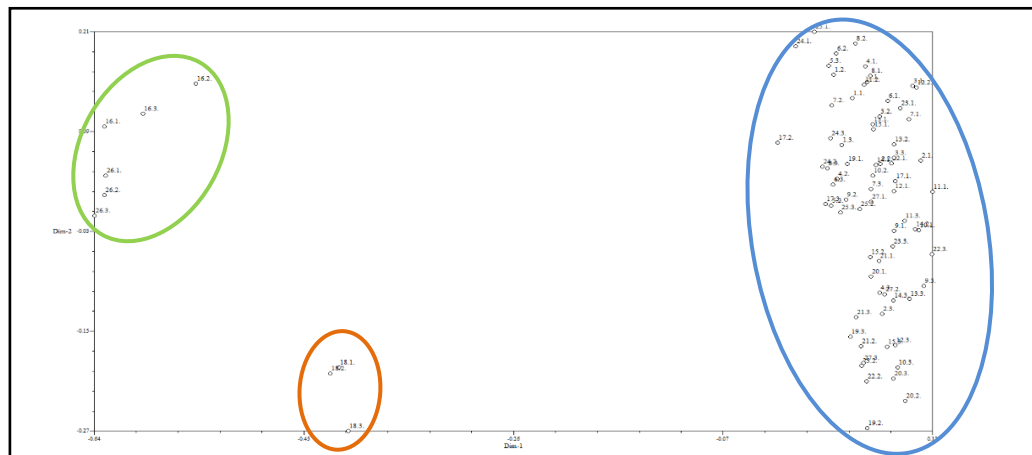
En Düşük Genetik Benzerlik (0.422) / En Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (Ürgüp) (7.2)	<i>C. moschata</i> (Çin) (16.1)
Düşük Genetik Benzerlik (0.424) / Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (Adapazarı) (2.1)	<i>C. maxima</i> (Sakarya) (26.3)
Düşük Genetik Benzerlik (0.426) / Yüksek Genetik Mesafe	

Tablo 4.21: Devam.

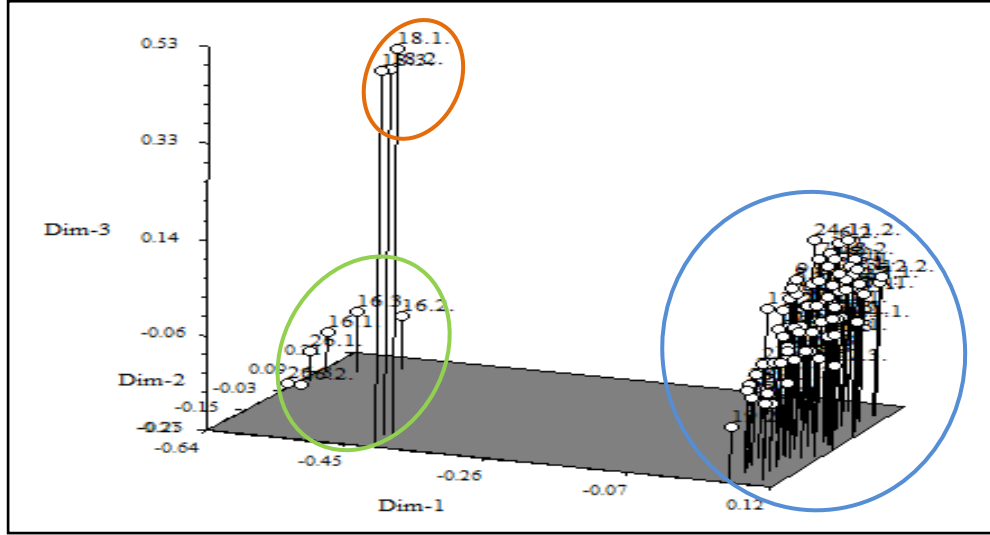
<i>C. pepo</i> (Adapazarı) (2.1)	<i>C. moschata</i> (Çin) (16.1)
Düşük Genetik Benzerlik (0.431) / Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (Adapazarı) (2.1)	<i>C. maxima</i> (Sakarya) (26.1)
<i>C. pepo</i> (Adapazarı) (3.1)	<i>C. maxima</i> (Sakarya) (26.3)
<i>C. pepo</i> (Bulgaristan) (17.3)	<i>C. moschata</i> (Çin) (16.1)
Düşük Genetik Benzerlik (0.431) / Yüksek Genetik Mesafe	
<i>C. pepo</i> (Adapazarı) (3.1)	<i>C. moschata</i> (Çin) (16.1)
<i>C. pepo</i> (Adapazarı) (3.1)	<i>C. maxima</i> (Sakarya) (26.2)
<i>C. pepo</i> (Nevşehir) (27.2)	<i>C. moschata</i> (Çin) (16.1)

4.2.5.1. RAPD, Kloroplast ve Transpozon Verilerine Dayalı Temel Bileşen Analizi

RAPD, kloroplast ve transpozon markör analizleri sonucunda oluşturulan PCA (Principle Component Analysis) ölçülüp 2D-3D görüntüleri elde edilmiştir. Bulunan 2D, 3D görüntüleri Şekil 4.18 ve Şekil 4.19’da verilmiştir. Hem 2D hem de 3D PCA görüntüsüne göre genotipler 3 gruba ayrılmıştır. İlki; *C. moschata* (Sakarya) (18) genotipi, ikincisi *C. moschata* (Çin) (16) ve *C. maxima* (Sakarya) (26) genotipi ve üçüncüsü ise geriye kalan *C. moschata* (Uzunköprü) (1) ve diğer *C. pepo* genotipleri ile oluşturulmuştur.



Şekil 4.18: 81 kabak genotipinde tüm moleküler markör sonuçları ile oluşturulan 2D PCA sonuçları.



Şekil 4.19: 81 kabak genotipinde tüm moleküler markör sonuçları ile oluşturulan 3D PCA sonuçları.

5. TARTIŞMA

5.1. Moleküler Markörlerde Bant Analizi

Bu çalışmada 81 adet çerezlik kabak örneğinin genetik çeşitliliğinin belirlenmesi için yapılan moleküler markör analizlerinden lokus büyüklükleri 110-3280 bp arasında değişen 463 bant elde edilmiştir.

Çalışmada 10 adet RAPD, 8 adet kloroplast ve 25 adet transpozon markörü kullanılmıştır. Analizi yapılan 43 primerden 38'i polimorfik, 5'i ise monomorfik markörler üretmiştir. RAPD primerlerinin tümü polimorfik bantlar verirken kloroplast primerlerinden psbJ-petA, atpI-atpH, a- B48557-b- A492915, matK-AF-matK-8R ve transpozon primeri Nikita-E2647 ise monomorfik bantlar vermiştir. Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) 0.65-0.94 değerleri arasında değişmektedir ve polimorfik bant profili veren 38 adet primerin polimorfizm bilgi içeriği 0.5 değerinden yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar çalışmada kullanılan moleküler markörlerin yüksek bilgilendirici markörler olduğunu göstermektedir.

5.1.1. RAPD Markörü Bant Analizleri

RAPD primerlerinden en fazla bant veren 18 bant ile OPF-6 primeridir, en az bant verenler ise 11 bant ile OH-12, OPB-07 ve OPAW-7 primerleridir ve ortalama bant sayısı 14 olarak hesaplanmıştır. Analizlerden elde edilen lokusların ortalama polimorfizm oranı %75.49 bulunmuştur, en yüksek polimorfizm oranı %100 ile OPF-6, OG-6 ve OPJ-16, en düşük polimorfizm oranı ise %38.46 ile OPA-13 marköründe tespit edilmiştir. Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) 0.93-0.87 değerleri arasında değişmektedir ve ortalama Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) değeri 0.9 olarak hesaplanmıştır. Tüm primerlerin polimorfizm bilgi içeriği 0.5 değerinden yüksek bulunduğundan dolayı kullanılan RAPD markörlerinin yüksek bilgilendirici markörler olduğu görülmüştür.

Şeker (2012) yaptığı çalışmada Nevşehir ve Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden sağladığı 10 adet *Cucurbita pepo* türü çerezlik kabak çekirdeğinde 8 adet RAPD markörü ile genotipler arasındaki farklılıkları saptamaya çalışmıştır. 8 adet RAPD primeri ile yapılan analizler sonucunda elde edilen 38 adet bandın 18 adedi

monomorfik (%47.37), 20 adedi polimorfik (%52.63) bulunmuştur. Kabak çekirdekleri benzerlik katsayılarının 0.70 ile 0.97 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Genotipler arasındaki genetik uzaklıkların kalite unsurları üzerine etkisi araştırılmış ve genotipleri arası benzerlik farklılıklar ortaya çıkarılmıştır.

Balkaya vd. (2008) yaptıkları çalışmada 21 RAPD primeri ile Karadeniz Bölgesi kışlık kabak türlerinde genetik karakterizasyon çalışmaları yapmıştır. RAPD primerleriyle yapılan çeşit tanımlamasına göre kabak örneklerinin birbirlerinden genetik olarak farklı olduğunu saptamışlardır. Amplifikasyon ürünlerinin büyüklüğü, 130 bp ile 2700 bp arasında değişmiştir. Her primerden elde edilen bant sayısı 4-14 arasında elde edilmiş ve bu primerlerden toplam 209 markör belirlenmiş olup bunların 153'ü (%73.0) polimorfiktir. UPGMA algoritmasına göre oluşturulan dendrogramda genotiplerin gruplara ayrıldığı gösterilmiştir.

Yetişir vd. (2013) yaptıkları çalışmada, Türkiye, Hindistan, Rusya ve ABD'den elde edilen 96 adet su kabaklarının (*Lagenaria siceraria*) moleküler karakterizasyonu için ISSR (54 adet), SRAP (9 ileri ve 24 geri = 216 kombinasyon), RAPD (57 adet) ve SSR (136 adet) primerlerini kullanmıştır. RAPD primerleri ile 315 hattın PZR ile çoğaltılması sonucu 27 polimorfik bant tespit edilmiştir. Bu polimorfik bantlar kullanılarak kümeleme analizi yapılmıştır ve Mega Programı ile üretilen NJ dendogramı su kabağı genotiplerinin 8 grupta kümelendiğini göstermiştir. Kümelenede coğrafik orijinin etkili olmadığı görülmüştür. Ülkemizin farklı yerlerinden ve dünyanın farklı ülkelerinden temin edilen su kabağı genotiplerinin karışık olarak kümelendiği belirlenmiştir. Su kabağı genotiplerinin iki grupta kümeleştikleri gösterilmiştir. Bu sonuçlar, ülkemize su kabaklarının farklı noktalardan ve farklı kaynaklardan girdiğini ve ülke çapında eşit olarak yayıldığını göstermektedir.

Ntuli et al. (2015) yaptıkları çalışmada Güney Afrika'nın 3 bölgesinden yedi adet *C. pepo* genotipi arasındaki genetik varyasyonu RAPD ve SSR markörleri kullanarak araştırmıştır. Polimorfik olan dokuz RAPD primeri ile yedi *C. pepo* popülasyonunun analizi sonucunda boyutları 75-1800 bp arasında değişen toplam 100 fragment tanımlamış ve bunların 94'ünü polimorfik bulmuştur. Her primer 9-14 arası bant vermiş ve ortalama bant sayısı 11.11 bulunmuştur. Her primer için polimorfik bant sayısı ise 8-14 arasındadır ve ortalama polimorfik bant sayısı 10.44 bulunmuştur. Hem RAPD hem de SSR belirteçleri ile farklı agro-ekolojik kökenlere sahip *C. pepo* yerel türleri arasındaki yüksek polimorfizm ve genetik çeşitlilik ortaya konulmuştur.

5.1.2. Kloroplast Markörü Bant Analizi

Kloroplast pirimerlerinden en fazla bant veren 7 bant ile PsbD trnT primeridir en az bant verenler ise 1 bant ile matK-AF-matK-8R, atpI-atpH primerleridir ve ortalama bant sayısı 4 olarak hesaplanmıştır. Analizlerden elde edilen lokusların ortalama polimorfizm oranı %35 bulunmuştur, en yüksek polimorfizm oranı %100 ile PsbD-trnT, en düşük polimorfizm oranı ise %0 ile I-H, MATK, A-B ve J-A markörlerinde tespit edilmiştir. Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) 0.83 ile 0.79 değerleri arasında bulunmuştur ve ortalama Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) değeri 0.4 olarak hesaplanmıştır. Polimorfik bant profili veren kloroplast primerlerinin polimorfizm bilgi içeriği 0.5 değerinden yüksek bulunmuştur ve çalışmada kullanılan 4 adet kloroplast markörünün yüksek bilgilendirici markörler olduğu görülmüştür.

Taberlet et al. (1991) yaptıkları çalışmada kloroplast DNA'sının üç kodlamayan bölgesinin PZR ile amplifikasyonu için altı primer (a- B48557, b- A49291, c- B49317, d- A49855, e- B49873, f- A50272) tasarlamışlardır. Bu primerlerin evrensel olup olmadığını anlamak için onları çeşitli bitki türlerinden DNA'yı çoğaltmak amacıyla kullanmışlar ve primerlerin, algler, briyofitler, pteridofitler, gymnospermiler ve anjiyospermiler dahil olmak üzere test edilen çoğu tür için çalıştığını göstermişlerdir. Geniş bir taksonomik aralıkta kloroplast DNA kodlamayan bölgeleri büyütme gerçeği, bu primerlerin, bitkilerin popülasyon biyolojisini (belirteçleri sağlamada) ve evrimini (spesifik ve muhtemelen tür içi filogenileri) incelemek için kullanılabileceği anlamına gelmektedir.

Shaw et al. (2007) 21 kodlama yapmayan kloroplast bölgesinin filogenetik faydasına ilişkin çalışmasında, en yaygın olarak kullanılan kodlamayan bölgelerin en az değişkenler arasında olduğunu, ancak daha değişken bölgelerin nadiren kullanıldığını bulmuşlardır. Daha önce keşfedilmemiş bölgelerin potansiyel değişkenliğini araştırmak için, üç farklı anjiyosperm soyunda üç çift tek kopya kloroplast genom dizisini karşılaştırmışlardır (*Atropa* ve *Nicotiana* (asteridler); *Lotus* ve *Medicago* (rositler); ve *Saccharum* vs. *Oryza* (monokotlar)). Bu üç ayrı dizi hizalaması 13 mutasyonal etkin noktayı vurgulamıştır. Bu yeni keşfedilen bölgelerden dokuzu (rpl32-trnL (UAG), trnQ (UUG)-50 rps16, 30 trnV (UAC)-ndhC, ndhF-rpl32, psbD-trnT (GGU), psbJ-petA, 30 rps16-50 trnK (UUU), atpI-atpH ve petL-psbE), iyi

varyasyon seviyeleri sunmuş ve bu nedenle düşük taksonomik seviyelerde moleküler çalışmalar için en iyi seçimler olmuştur.

Castellanos-Morales et al. (2018) filogenetik analizler için *Cucurbita*'daki 21 taksonda altı kloroplast markörü (psbD-trnT, psbJ-petA, atpI-atpH, rpl20-rps12, rbcL ve matK) kullanmıştır. Bu altı kloroplast markörü için 5907 bp'lık birleştirilmiş matris oluşturulmuştur. Yüksek sıklıkta boşluklu ve eksik verili sütunlar çıkarıldıktan sonra, analizler için 155 polimorfik bölgenin (67 tekil ve 88 bilgilendirici bant) dahil edildiği toplam 5476 bp'lık matris kullanılmıştır. Filogenetik analizler, *Cucurbita*'daki en az altı bağımsız ıslah olayı için iyi bir destek göstermiştir.

5.1.3. Transpozon Markörü Bant Analizi

Bu çalışma *Cucurbita* sp. genotiplerinde 25 adet transpozon primer kombinasyonunun kullanıldığı ülkemizde yapılan ilk çalışmadır ve çalışmamızda 25 adet transpozon markörü ile lokus büyüklüğü 136-3280 bp değerleri arasında toplam 295 bant üretilmiştir. 22 bant ile BAGY-1-4164 primerinin diğer transpozon primerlerinden daha fazla bant verdiği görülmüştür. Nikita-E2647 primeri ise 4 tane monomorfik bant verirken, RIRE-1 primer 3 adet bant vererek en az bant veren primer olmuştur. Transpozon primerlerinin ortalama bant sayısı 12, ortalama polimorfik bant sayısı 10 ve polimorfizm oranı 86.26 olarak hesaplanmıştır. Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) 0.65 ile 0.94 değerleri arasında değişmektedir ve ortalama Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) değeri 0.82 olarak hesaplanmıştır. Transpozon primerlerinin polimorfizm bilgi içeriği 0.5 değerinden yüksek bulunmuş ve çalışmada kullanılan 24 adet transpozon markörünün yüksek bilgilendirici markörler olduğu görülmüştür.

Maraklı (2019) yaptığı çalışmada *Cucurbitaceae* ailesinden salatalık (*Cucumis sativus* L.), karpuz (*Citrullus lanatus*) ve kavun (*Cucumis melo* L.) genotipleri arasındaki benzerlikleri saptamak için IRAP yöntemiyle Nikita ve Sukkula transpozon primerlerini kullanmıştır. Bu çalışma arpa genomuna ait transpozonların bu üç türde kullanıldığı ilk çalışma olmuştur. Çalışma sonucunda 250-10.000 bp aralığında her üç türde de monomorfik bantlar elde edilmiştir. Üç türünde agaroz jel elektroforezi sonucunda polimorfizm görülmemiştir. Kullanılan salatalık, karpuz ve kavun genomlarının Nikita ve Sukkula primer analizinde benzer bantlar verdiği görülmüştür. Aynı Nikita ve Sukkula primerleri kullanılarak yapılan çalışmamızda ise Maraklı

(2019) alışmasına benzer şekilde Nikita primerinin kabak genomlarında da monomorfik bantlar verdiği görülürken Maraklı (2019) alışmasından farklı olarak Sukkula primerinde polimorfik bantlar elde edilmiştir.

Jiang (2011) alışmasında salatalık türlerinden *Cucumis sativus* L. ve vahşı akrabası *Cucumis hystrix* Chakr arasındaki geçişten türetilen yeni sentezlenmiş bir allotetraploid olan *Cucumis hytivus*'un üretiminden sonraki erken nesillerde genomik değişiklikler üzerindeki etkisini araştırmak ve bu değişiklikleri fiziksel olarak salatalık kromozomlarında lokalize etmeyi amaçlamıştır. Ebeveyn hatlarının ve türetilmiş alloploidin doğru genetik bilgisi uygun bir şekilde elde edilebildiğinden, yeni sentezlenen alloploid ve alloploidizasyon sırasında retrotranspozonların hareketliliğini izlemek için dört tane transpozon primer tasarlanmıştır. İki diploid ebeveynden (*C. hystrix* ve *C. sativus*) 200-2.000 bp boyut aralığındaki 33 bant, IRAP markörleri kullanılarak amplifiye edilmiştir. IRAP transpozon primerleri ortalama 8.1 bant üretmiş ve analizler ile elde edilen polimorfik bantların oranı %57.6 (19/33) olarak hesaplanmıştır.

Karlık (2019) alışmasında Türkiye'de endemik bir bitki olan *Colchicum chalcedonicum*'da retrotranspozon SIRE1, Sukkula ve Nikita varlığı ve insersiyon bölgelerini araştırmıştır. SIRE1 ve Sukkula IRAP bant profilleri 100 ile 400 bp arasında değişirken, Nikita'nın IRAP bant profilleri 300 ila 2000 bp arasında değişim göstermiştir. Bu çalışmada kullanılan üç IRAP primerinin SIRE1, Sukkula ve Nikita karşılaştırılması sonucu, moleküler markör tekniğinin polimorfizm aralığına göre Sukkula IRAP primerinin *Colchicum* ailesi için daha uygun olduğu gösterilmiştir.

5.2. Kümeleme Analizleri

RAPD markörleri ile oluşturulan dendrogramda genotipler ilk olarak iki ana gruba (0.59 mesafe ile) ayrılmıştır. İlk grup ise kendi içinde iki gruba ayrılmıştır. *C. moschata* (Sakarya) (18) genotipi (0.63 mesafe ile) grubun bir kolunu, *C. maxima* (Sakarya) (26) ve *C. moschata* (Çin) (16) genotipleri ise grubun diğer kolunu oluşmuştur.

İkinci grup ise kendi içinde 6 kola ayrılmıştır ve grubun bir kolunda (0.850 mesafe ile) *C. moschata* (Uzunköprü) (1) genotipi ile *C. pepo* (Macaristan) (11) genotipi yer almıştır. Geriye kalan 5 alt grup arasında belirgin bir ayrılma

gözlenmemiştir ama coğrafi olarak farklı bölgelerden gelen, *C. pepo* (Bulgaristan) (17) (0.84 mesafe ile), *C. pepo* (Macaristan) (10) (0.82 mesafe ile) ve *C. pepo* (izmir) (13) (0.805 mesafe ile) dendrogramın ayrı dallarını oluşturmuştur.

POPGENE ve XLSTAT analiz programları kullanılarak oluşturulan uzaklık yakınlık mesafe matrislerine göre en yüksek genetik benzerlik (0.8644) / en düşük genetik mesafe (0.1070) değeri ile *C. pepo* (Edirne-4)- *C. pepo* (Çin-19) genotipleri arasında bulunmuştur. POPGENE programı kullanılarak elde edilen verilere göre en düşük genetik benzerlik (0.4928) / en yüksek genetik mesafe (0.7077) değeri ile *C. pepo* (İzmir-13.1)- *C. moschata* (Çin-16.1) genotipleri arasında, XLSTAT programı kullanılarak elde edilen verilere göre en düşük genetik benzerlik (0.416) / en yüksek genetik mesafe değeri ile *C. maxima* (Sakarya-26.2)-*C. pepo* (Adapazarı-5.1) genotipleri arasında bulunmuştur. Her iki program kullanılarak yapılan analizlerde *C. moschata* (Çin-16) ve *C. maxima* (Sakarya-26) genotiplerinin diğer *C. pepo* genotiplerine en düşük genetik benzerlik gösterdikleri görülmüştür.

Kloroplast markörleri ile oluşturulan dendrogramda genotipler ilk olarak iki ana gruba (0.60 mesafe ile) ayrılmıştır. İlk grup ise kendi içinde iki gruba (0.81 mesafe ile) ayrılmıştır. *C. maxima* (Sakarya) (26) ve *C. moschata* (Çin) (16) genotipleri grubun bir kolunu, *C. moschata* (Sakarya) (18) genotipi, ise grubun diğer kolunu oluşturmuştur.

C. moschata (Uzunköprü) (1) ve tüm *C. pepo* genotiplerinin beraber ikinci grubu oluşturduğu görülmektedir. İkinci grup ise kendi içinde yine iki ana kola (0.88 mesafe ile) ayrılmıştır. Birinci kolunu *C. moschata* (Uzunköprü) (1), *C. pepo* (Adapazarı) (2), *C. pepo* (Adapazarı)-2015(3), *C. pepo* (Edirne)-2015 (4) ve *C. pepo* (Adapazarı) (5) genotipleri oluşturmuştur. Diğer genotipler ise dendrogramın ayrı bir kolunu oluşturmuştur.

POPGENE ve XLSTAT analiz programları kullanılarak oluşturulan uzaklık yakınlık mesafe matrislerine göre her iki matrikste de en düşük genetik benzerlik (0.5051) / en yüksek genetik mesafe (0.6380) değeri ile *C. pepo* (Adapazarı-5.1)- *C. moschata* (Çin-16.1) genotipleri arasında bulunmuştur. Hem POPGENE verilerinde hem de XLSTAT programı verilerinde uzaklık mesafe değerleri değişse de aynı örneklerin birbirine en uzak olduğu görülmüştür. Her iki program kullanılarak yapılan analizlerde *C. moschata* (Çin-16) ve *C. maxima* (Sakarya-26) genotiplerinin diğer *C. pepo* genotiplerine en düşük genetik benzerlik gösterdikleri görülmüştür.

POPGENE ve XLSTAT porgramlarından elde edilen verilere göre en yüksek genetik benzerlik / en düşük genetik mesafe değerleri incelendiğinde örnekler arasında belirli bir ayırım gerçekleşmediği saptanmıştır. Kloroplast markörleri ile yapılan analizler sonucunda oluşturulan denrogdramda da dallanma miktarı ve genotiplerin ayrılması diğer markör yöntemlerine göre daha azdır.

Transpozon markörleri ile oluşturulan dendrogramda ise genotipler ilk olarak iki ana gruba (0.57 mesafe ile) ayrılmıştır. İlk grup *C. moschata* (Çin-16) ve *C. maxima* (Sakarya-26) genotiplerinden oluşmuştur. İkinci grup ise ilk olarak iki kola (0.58 mesafe ile) ayrılmıştır ve *C. moschata* (Sakarya-18) genotipi grubun bir kolunu oluşturmuştur. İkinci grubun daha sonra kendi içinde 8 kola ayrılmıştır ve bir kolunda (0.81 mesafe ile) *C. moschata* (Uzunköprü-1) genotipi bulunmaktadır. Diğer 7 grup belirgin bir ayrılma göstermezken coğrafi olarak farklı bölgelerden gelen *C. pepo* (Bulgaristan-17) (0.71 mesafe ile) bir dalı, *C. pepo* (Ürgüp-7) (0.75 mesafe ile) bir dalı ve *C. pepo* (Adapazarı-2,3) (0.76 mesafe ile) dendrogramın ayrı bir dalını oluşturmuştur.

POPGENE ve XLSTAT porgramlarından elde edilen verilere göre en yüksek genetik benzerlik (0.8644) / en düşük genetik mesafe (0.1457) değeri ile *C. pepo* (İzmir-14.2) ve *C. pepo* (Eskişehir-21.1) genotipleri arasında bulunmuştur. POPGENE programı kullanılarak elde edilen verilere göre en düşük genetik benzerlik (0. 5051) / en yüksek genetik mesafe (0.6380) değeri ile *C. pepo* (Adapazarı-2.1)- *C. moschata* (Çin-16.1) genotipleri arasında bulunurken XLSTAT programı verilerine göre ise en düşük genetik benzerlik (0.395) / en yüksek genetik mesafe değeri ile *C. pepo* (Ürgüp-17.3) ve *C. moschata* (Çin-16.2) genotipleri arasında bulunmuştur. Her iki program kullanılarak yapılan analizlerde *C. moschata* (Çin) (16) ve *C. maxima* (Sakarya) (26) geniplerinin diğer *C. pepo* genotiplerine en düşük genetik benzerlik gösterdikleri görülmüştür. Hem POPGENE verilerinde hem de XLSTAT programı verilerinde uzaklık yakınlık mesafe değerleri değişse de aynı örneklerin birbirine en yakın olduğu görülmüştür.

81 adet çerezlik kabak genomu ile yapılan RAPD, kloroplast ve transpozon markörleri sonucunda oluşturulan dendrogramda genotipler ilk olarak iki ana gruba (0.58 mesafe ile) ayrılmıştır. Birinci gruba dış grup denmektedir ve bu grup *C. moschata* (Sakarya-18), *C. moschata* (Çin-16) ve *C. maxima* (Sakarya-26) genotiplerinden oluşmuştur. İkinci grup ise kendi içinde 8 kola ayrılmıştır ve bir kolunda (0.78 mesafe ile) *C. moschata* (Uzunköprü-1) genotipi bulunmaktadır. Diğer

7 grup *C. pepo* genotipleri belirgin bir ayrılma göstermezken coğrafi olarak farklı bölgelerden gelen *C. pepo* (Bulgaristan-17) (0.71 mesafe ile) bir dalı, *C. pepo* (Adapazarı-2-3-5) (0.80 mesafe ile) bir dalı ve *C. pepo* (Macaristan-11-12) (0.80 mesafe ile) dendrogramın ayrı bir dalını oluşturmuştur.

RAPD, kloroplast ve transpozon markör analizleri sonucunda oluşturulan PCA (Principle Component Analysis) analizi ile 2D-3D görüntüleri elde edilmiştir. Hem 2D hem de 3D PCA görüntüsüne göre genotipler 3 gruba ayrılmıştır. İlki; *C. moschata* (Sakarya-18) genotipi, ikincisi *C. moschata* (Çin-16) ve *C. maxima* (Sakarya-26) genotipi ve üçüncüsü ise geriye kalan *C. moschata* (Uzunköprü-1) ve diğer *C. pepo* genotipleri ile oluşturulmuştur.

POPGENE ve XLSTAT porgramlarından elde edilen verilere göre en yüksek genetik benzerlik (0.8553) /en düşük genetik mesafe (0.1563) değeri ile *C. pepo* (Macaristan-10.3)- *C. pepo* (Edirne-9.3) genotipleri arasında bulunmuştur. POPGENE programı kullanılarak elde edilen verilere göre en düşük genetik benzerlik (0.5227) / en yüksek genetik mesafe (0.6488) değeri ile *C. pepo* (Adapazarı-2.1) ve *C. moschata* (Çin-16.1) genotipleri arasında bulunmuştur. XLSTAT programı verilerine göre ise en düşük genetik benzerlik (0.422) / en yüksek genetik mesafe değeri ile *C. pepo* (Ürgüp-7.2) ve *C. moschata* (Çin-16.1) genotipleri arasında bulunmuştur. Her iki program kullanılarak yapılan analizlerde *C. moschata* (Çin-16) ve *C. maxima* (Sakarya-26) genotiplerinin diğer *C. pepo* genotiplerine en düşük genetik benzerlik gösterdikleri görülmüştür.

Ekinci (2020) çalışmasında bu tez çalışmasında da kullanılan aynı çerezlik kabak örnekleriyle yaptığı SSR markör analizleri sonucunda oluşturulan dendrogramda genotipler iki ana gruba (0.73 mesafe ile) ayrılmıştır. İlk ayrılan grubu *C. moschata* (Sakarya-18) genotipi oluşturmuştur. Diğer grubun ise kendi içerisinde yine iki gruba ayrıldığı görülmüştür. Bu grupların kollarından birini (0.734 mesafe ile) *C. maxima* (Sakarya-26) ve *C. moschata* (Çin-16) genotipleri olmuştur. Oluşturulan ikinci kolda ise (0.734 mesafe ile) 16 ayrı alt grup bulunmuştur. *C. pepo* genotipleri ve *C. moschata* (Uzunköprü-1) bu 16 alt grupta yer almıştır.

Çalışmada kullanılan RAPD ve transpozon markörler sonucunda polimorfizm oranı yüksek bantlar elde edilirken kloroplast markör sonuçları beklenildiği gibi daha az polimorfizm göstermiştir. Dendrogram analizleri sonucunda oluşturulan dört dendrogramda da *C. moschata* (Sakarya-18), *C. moschata* (Çin-16) ve *C. maxima* (Sakarya-26) numaralı örnekler ayrı bir grubu oluşturmuştur. Transpozon markörleri

ve tüm moleküler markör dendrogramında *C. moschata* (Uzunköprü-1) genotipinin ayrı bir kolu oluşturduğu gözlenirken, RAPD ve kloroplast dendrogramında ayrı bir kol oluşturmadığı görülmüştür. Daha önce Ekinci (2020) ve Aysoy (2021) tarafından aynı *Cucurbita sp.* genetik havuzu ile laboratuvarımızda yapılan SSR ve AFLP markörü dendrogram sonuçlarıyla bu çalışmadaki dendrograma bakıldığında *C. moschata* (Sakarya-18), *C. moschata* (Çin-16) ve *C. maxima* (Sakarya-26) numaralı örneklerin her üç çalışmada da benzer gruplarda yer aldığı görülmüştür.

Bu tez çalışması, farklı bölgelerden elde edilen *Cucurbita* popülasyonlarının genetik çeşitliliği hakkında bilgi sunmaktadır. *Cucurbita* türlerinde incelenen parametreler, kabak bitki genetik kaynaklarında önemli rol oynayacak anlamlı bir korelasyon göstermiştir. RAPD ve transpozon markörleri ile genotipler arasında yüksek düzeyde genetik çeşitlilik ortaya çıkarılmıştır. Kloroplast markörleri ile yapılan moleküler analizlerde beklendiği gibi daha az polimorfizm görülmüş ve tür içi çalışmalardan çok türler arası çalışmalarda kullanılmasının daha uygun olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada kullanılan genotipler, ileride yapılacak ıslah programlarında çeşitlilik kaynağı olarak kullanılabilir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, RAPD ve transpozon markörlerinin, genetik çeşitliliğin ve farklı coğrafik bölgelere ait türler arasındaki benzerlik ve/veya farklılığın değerlendirilmesi yönünde kullanılabilecek etkili moleküler markörler olduğu görülmektedir.

Bu araştırma ile elde edilen sonuçların, Türkiye'deki *Cucurbita pepo* L. popülasyonlarına ait taksonomik analizlerine katkı sağlaması, moleküler kimliklendirilmesi ve ıslah çalışmalarında istenilen genotiplerin seçilebilmesi için genetik yapının ortaya konulması açısından önem taşıdığı öngörülmektedir. Araştırmada kullanılmış olan polimorfik değerleri yüksek moleküler markörlerin daha sonra yapılacak çalışmalar için de kullanılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ågren J. A., Clark A. G., (2018), “Selfish genetic elements”, PLoS genetics, 14(11), 1007700.
- Allen G. C., Flores-Vergara M. A., Krasynanski S., Kumar S., Thompson W. F., (2006), “A modified protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide”, Nature Protocols, 1, 5, 2320-2325.
- Altınok H. H., Çolak E. Ş., Altınok M. A., (2019), “Kayseri ili çerezlik kabak meyvelerinde çürüme: risk faktörleri ve öneriler”, Ziraat Fakültesi Dergisi, 14(2), 166-176.
- Altun Z. G., (2006), “DNA işaretleyiciler (Markör) ve Türkiye’de orman ağaçları ıslahında kullanımı”, Ege Ormancılık Araştırma Müdürlüğü Dergisi, 295, 20-36.
- Aydın S. Ö., (2004), “RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) Belirleyicileri ve Bitki Sistematiği”, Journal of Science and Technology of Dumlupınar University, (006), 113-130.
- Aysoy E., (2021), “Çerezlik Kabaklarda (Cucurbita pepo L.) Genetik Polimorfizmin AFLP Markörleri ile Tanımlanması”, Yüksek Lisans Tezi, Gebze Teknik Üniversitesi.
- Balkaya A., Kurtar S. E., Yanmaz R., Özbakır M., (2008), “Karadeniz bölgesi’nde kışlık kabak türlerinde (kestane kabağı Cucurbita maxima duchesne ve bal kabağı Cucurbita moschata duchesne) gen kaynaklarının toplanması, karakterizasyonu ve değerlendirilmesi”, TÜBİTAK TOVAG, Proje No: 104O144, 172 s.
- Bennetzen J. L., (2000), “Transposable element contributions to plant gene and genome evolution”, Plant molecular biology, 42(1), 251-269.
- Bülbül C., (2020), “Bal arılarında (Apis mellifera L.) Retrotranspozon Analizleri”, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Türkiye.
- Castellanos-Morales G., Paredes-Torres L. M., Gámez N., Hernández-Rosales H. S., Sánchez-de la Vega G., Barrera-Redondo J., Eguiarte L. E., (2018), “Historical biogeography and phylogeny of Cucurbita: insights from ancestral area reconstruction and niche evolution”, Molecular phylogenetics and evolution, 128, 38-54.
- Cameron J. R., Loh E. Y., Davis R. W., (1979), “Evidence for transposition of dispersed repetitive DNA families in yeast”, Cell, 16(4), 739-751.
- Collard B. C., Mackill D. J., (2008), “Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century”, Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 363(1491), 557-572.

Coşkun G., Gülşen O., Demirkaya M., (2016), “Çerezlik kabak tohumlarında bazı ön uygulamaların çimlenme üzerine etkileri”, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi, 32(1), 1-6.

Daboussi M. J., Langin T., Deschamps F., Brygoo Y., Scazzocchio C., Burger G., (1991), “Heterologous expression of the *Aspergillus nidulans* regulatory gene *nirA* in *Fusarium oxysporum*”, *Gene*, 109(1), 155-160.

Dong W., Liu J., Yu J., Wang L., Zhou S., (2012), “Highly variable chloroplast markers for evaluating plant phylogeny at low taxonomic levels and for DNA barcoding”, *PloS one*, 7(4), 35071.

Durgut F. T., (2008), “Çekirdeklik kabağın (*Cucurbita pepo* L.) hasat ve harmanına yönelik fiziko-mekaniksel özelliklerinin saptanması üzerine bir araştırma”, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi.

Ekinci E. H., (2020), “Farklı çerezlik kabak (*Cucurbita pepo* L.) popülasyonlarının SSR markörleri ile moleküler karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, Gebze Teknik Üniversitesi.

Ermiş S., (2010), “Ekolojinin kabuklu ve kabuksuz çekirdek kabak (*Cucurbita pepo* L.) hatlarında tohum verimi ve çerezlik kalitesine etkisi”, Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi.

FAO, (2019), Dünyada Kabak hasat alanı, verimi ve üretim miktarı, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü.

Fedoroff N. V., (2012), “Transposable elements, epigenetics, and genome evolution”, *Science*, 338(6108), 758-767.

Filiz E., Koç İ., (2011), “Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler” *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 207-214

Finnegan D. J., Rubin G. M., Young M. W., Hogness D. S., (1978), “Repeated gene families in *Drosophila melanogaster*”, In *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 42, 1053-1063.

Huang J., Pray C., Rozelle S., (2002), “Enhancing the crops to feed the poor”, *Nature*, 418(6898), 678-684.

Jiang B., Lou Q., Wu Z., Zhang W., Wang D., Mbira K. G., Chen J., (2011), “Retrotransposon-and microsatellite sequence-associated genomic changes in early generations of a newly synthesized allotetraploid *Cucumis* × *hytivus* Chen & Kirkbride”, *Plant Molecular Biology*, 77(3), 225.

Joshi S. P., Gupta V. S., Aggarwal R. K., Ranjekar P. K., Brar D. S., (2000), “Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*”, *Theoretical and Applied Genetics*, 100(8), 1311-1320.

Kalendar R., Flavell A. J., Ellis T. H. N., Sjakste T., Moisy C., Schulman A. H., (2011), "Analysis of plant diversity with retrotransposon-based molecular markers", *Heredity*, 106(4), 520-530.

Karlık E., Albayrak M., Uzen E., Gözükırmızı N., (2019), "Transposon studies on *Colchium chalconicum*", *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 2(1), 25-35.

Kulczyński B., Gramza-Michałowska A., (2019), "The profile of secondary metabolites and other bioactive compounds in *Cucurbita pepo* L. and *Cucurbita moschata* pumpkin cultivars", *Molecules*, 24(16), 2945.

Kurtar E. S., Seymen M., Ünal K. A. L., (2020), "An overview of doubled haploid plant production in *Cucurbita* species", *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 30(3), 510-520.

Leigh F., Kalendar R., Lea V., Lee D., Donini P., Schulman A. H., (2003), "Comparison of the utility of barley retrotransposon families for genetic analysis by molecular marker techniques", *Molecular Genetics and Genomics*, 269(4), 464-474.

McClintock B., (1984), "The significance of responses of the genome to challenge", *Science*, 226(4676), 792-801.

Maraklı S., (2012), "Arpa (*Hordeum vulgare* L.) Kültür Varyetelerinde Transpozon ve Kromozom Analizleri", Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi.

Maraklı S., (2019), "Retrotransposon analyses in *Cucurbitaceae* family", *International Journal of Science Letters*, 1(1), 68-76.

Menemencioğlu Y. E., Uğur E., Candemir, A., Gülşen O., (2013), "Kayseri’de çerezlik kabak üretiminin sosyo-ekonomik, yetiştiricilik ve pazarlama durumu açısından incelenmesi", *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 29(3), 220-226.

Monden Y., Tahara M., (2015), "Plant transposable elements and their application to genetic analysis via high-throughput sequencing platform", *The Horticulture Journal*, MI-IR02.

Nei M., (1978), "The theory of genetic distance and evolution of human races", *Japanese Journal of Human Genetics*, 23(4), 341-369.

Newton C. R., Graham A., Ellison J. S., (1997), "PcR (p. 192)", Oxford, UK: BIOS Scientific Publishers.

Ntuli N. R., Tongoona P. B., Zobolo A. M., (2015), "Genetic diversity in *Cucurbita pepo* landraces revealed by RAPD and SSR markers", *Scientia Horticulturae*, 189, 192-200.

Paksoy M., Aydin C., (2004), "Some physical properties of edible squash (*Cucurbita pepo* L.) seeds", *Journal of Food Engineering*, 65(2), 225-231.

Paulson K. E., Matera A. G., Deka N., Schmid C. W., (1987), "Transcription of a human transposon-like sequence is usually directed by other promoters", *Nucleic acids research*, 15(13), 5199-5215.

Perez Gutierrez R. M., (2016), "Review of *Cucurbita pepo* (pumpkin) its phytochemistry and pharmacology", *Med. Chem.*, 6(1), 12-21.

Pingali P. L., Heisey P. W., (2001), "Cereal-crop productivity in developing countries: past trends and future prospects", *Agricultural science policy: Changing global agendas*, 99-03.

Ratnamet N., Najibullah M., Ibrahim M. D., (2017), "A review on *Cucurbita pepo*", *Int J Pharm Phytochem Res*, 9, 1190-4.

Rohlf F. J., (1998), "NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multi- variate System, version 2.0", New York: Exeter Software Publishing.

Rosenzweig B., Liao L. W., Hirsh D., (1983), "Target sequences for the *C. elegans* transposable element Tc1", *Nucleic acids research*, 11(20), 7137-7140.

Sanseverino W., Hénaff E., Vives C., Pinosio S., Burgos-Paz W., Morgante M., Casacuberta J. M., (2015), "Transposon insertions, structural variations, and SNPs contribute to the evolution of the melon genome", *Molecular biology and evolution*, 32(10), 2760-2774.

Schlötterer C., (2004), "The evolution of molecular markers—just a matter of fashion?", *Nature reviews genetics*, 5(1), 63-69.

Sevinç D., (2010), "Sarı Pas Hastalığına Dayanıklı ve Duyarlı Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşitlerinin Moleküler Markörler ile İncelenmesi", *Doktora Tezi*, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi.

Seymen M., Kurtar E. S., Dursun A., Türkmen Ö., (2019), "In Sustainable Agriculture: Assessment of plant growth promoting rhizobacteria in cucurbitaceous vegetable crops", In *Field Crops: Sustainable Management by PGPR*, Springer, Cham, pp. 69-103.

Shaw J., Lickey E. B., Schilling E. E., Small R. L., (2007), "Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III", *American journal of botany*, 94(3), 275-288.

Smith J. S. C., Chin E. C. L., Shu H., Smith O. S., Wall S. J., Senior M. L., Mitchel S. E., Kresovich S., Tiegle J., (1997), "An evaluation of the utility of SSR loci as 80 molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPs and pedigree", *Theor. Appl. Genet.*, 95, 163–173.

Şeker S., (2012), “Ülkemizde yetiştirilen farklı çekirdeklik kabak populasyonlarının bazı tane özelliklerinin saptanması ve RAPD yöntemi ile genetik ilişkilerinin belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi.

Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J., (1991), “Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA”, Plant molecular biology, 17(5), 1105-1109.

TÜİK, (2021), Meyvesi için yetiştirilen sebzeler grubu, Türkiye İstatistik Kurumu.

Tüyel A. U., (2015), “Molecular Characterisation and Association Mapping with Morphological Data of Colchicum L. Species in The Flora of Turkey”, Doctoral dissertation, Master Thesis, Marmara University.

Vural H., Eşiyok D., Duman İ., (2000), “Kültür sebzeleri (sebze yetiştiriciliği)”, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, 378-393.

Web 1, (2021), <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-2.Tahmini-2021-37248>, (Erişim Tarihi: 08/05/2022).

Web 2, (2019), <https://www.atlasbig.com/tr/ulkelerin-bal-kabagi-uretimi>, (Erişim Tarihi: 10/05/2022).

Web 3, (2021), [Polimeraz zincir reaksiyonu- Wikipedi \(wikipedia.org\)](https://tr.wikipedia.org/wiki/Polimeraz_zincir_reaksiyonu), (Erişim Tarihi: 18/05/2022).

Web 4, (2020), <https://pratiktarim.com/cucurbita-pepo-l-yazlik-kabak-turunun-botanik-ozellikleri/>, (Erişim Tarihi: 19/05/2022).

Wu T., Zhou J., Zhang Y., Cao J., (2007), “Characterization and inheritance of a bush-type in tropical pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne)”, Scientia Horticulturae, 114(1), 1-4.

Yanmaz R., (2015), “Türkiye’nin Kabakları”, Tarım Türk Dergisi, 68-73.

Yeh F. C., Yang R., Boyle T., (1999), “POPGENE Version 1.32. Windows-based software for population genetics analysis” University of Alberta, Edmonton.

Yeşil S., (2019), “Some virus diseases of edible seed squash (*Cucurbita pepo* L.) in Aksaray province”, Turkey, Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences, 29, 63-71.

Yetişir H., Gürcan, K., Denli, N., & Taş, A. (2013). Türkiye su kabak (*Lagenaria siceraria*) larının toplanması, morfolojik ve moleküler markırlar ile karakterizasyonu”, TÜBİTAK TOGAV, Proje No: 111O117, 147 s.

Yüzbaşıoğlu G., Yılmaz S., Gözükırmızı N., (2016), “Houba retrotransposon-based molecular markers: a tool for variation analysis in rice”, Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 40(3), 456-464.

Zheng Y. H., Alverson A. J., Wang Q. F., Palmer J. D., (2013), “Chloroplast phylogeny of Cucurbita: evolution of the domesticated and wild species”, *Journal of Systematics and Evolution*, 51(3), 326-334.



ÖZGEÇMİŞ

Neslihan EL, 2014 yılında Balıkesir Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. Lisans eğitimini 2018 yılında tamamladıktan sonra 2019 yılında Gebze Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Halen Yüksek Lisans eğitimine devam etmektedir.



EKLER

Diğer Ekler (CD):

Ek A: RAPD, Kloroplast ve Transpozon Markörlerine Ait Agaroz Jel Elektroforez Görüntüleri

Ek B: RAPD, Kloroplast ve Transpozon Markörlerine Ait POPGENE ve XLSTAT Program Verilerine Dayalı Genetik Yakınlık ve Genetik Uzaklık Mesafe Değerleri

