

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nazan İNAN

**ÇEKİRDEK KABAKLARINDA MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYON**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2008

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇEKİRDEK KABAKLARINDA
MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYON**

Nazan İNAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**Bu tez/....../2008 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği
İle kabul Edilmiştir.**

İmza.....
Pror. Dr. Kazım ABAK
DANIŞMAN

İmza.....
Prof. Dr. Şebnem ELLİALTIOĞLU
ÜYE

İmza.....
Prof. Dr. Salih KAFKAS
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından
Desteklenmiştir.

Proje No: ZF2006YL102

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirilerin, şekil ve fotoğrafların
kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki
hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇEKİRDEK KABAKLARINDA MORFOLOJİK VE
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYON

Nazan İNAN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Prof. Dr. Kazım ABAK

Yıl:2008, Sayfa: 70

Jüri: Prof. Dr. Kazım ABAK

Prof. Dr. Şebnem ELLİALTIOĞLU

Prof. Dr. Salih KAFKAS

Kabaklarda morfolojik ve moleküler karakterizasyon üzerinde gerçekleştirilen çalışmada bitki materyali olarak *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* ve *Cucurbita maxima*'ya giren yirmidört genotip kullanılmıştır. *C. pepo* genotiplerinin büyük bir kısmı tohumluk kabaktır ve bunlardan bazıları çerez ve yağ üretiminde kullanılan kabuksuz çekirdekli tiplerdir. Ayrıca *C. moschata* ve *C. maxima*'dan altı kışlık kabak genotipi ve üç adet türü bilinmeyen genotip çalışmada yer almıştır. Moleküler analizler ISSR ve SRAP ile gerçekleştirilmiş, morfolojik karakterizasyon ise UPOV kriterlerine göre yapılmıştır. Moleküler çalışmalarda sekiz ISSR primeri kullanarak 60 bant elde edilmiş ve bunların hepsi polimorfik bulunmuştur. Yine sekiz SRAP primer kombinasyonu kullanılarak toplam 71 bant elde edilmiş ve bunların da hepsi polimorfik bulunmuştur. ISSR analizlerinde genetik benzerlik katsayısı 0.07 ile 0.96 arasında, SRAP analizlerinde genetik benzerlik katsayısı 0.13 ile 1.0 arasında değişmiştir. ISSR ile SRAP arasındaki korelasyon çok yüksek, bulunmuştur: ($r = 0.947$). Morfolojik ve moleküler çalışmalar arasında bazı farklılıklar görülmüş ve bu tip genetik yakınlık ve karakterizasyon çalışmalarında morfolojik analizlerin tek başına yetersiz kalacağı, moleküler tekniklerin daha güvenli sonuç verdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kabak, Genetik akrabalık, SRAP, ISSR

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

MORPHOLOGIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION IN SEED PUMPKINS

Nazan İNAN

DEPARTMENT OF BIOTECNOLOGY
INSTITUTE OF BASIC AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF CUKUROVA

Supervisor: Prof. Dr. Kazım ABAK

Year: 2008, page:70

Jury: Prof. Dr. Kazım ABAK

Prof. Dr. Şebnem ELLİALTIOĞLU

Prof. Dr. Salih KAFKAS

Morphological and molecular characterization of a pumpkin collection was studied. Plant material consisted of twenty four genotypes belonging to three species: *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* and *Cucurbita maxima*. A big part of *Cucurbita pepo* genotypes are seed pumpkin and some of them are naked seed types used for appetizer and/or for oil production. Six winter pumpkin genotypes from *C. moschata* and *C. maxima* and three genotypes of unknown species have also been included in the experiments. Molecular analyses realised by ISSR and the SRAP techniques. Morphological characterization was done according to UPOV criteria. In the ISSR study 60 bands were obtained by using 8 ISSR primers and all these bands were found polymorphic. In the SRAP study, 8 primer combinations were used, a total of 71 bands were scored and all these bands were polymorphic. In the ISSR analyses, the genetic similarity coefficients varied between 0.07 and 0.96, while in SRAP it was between 0.13 – 1.0. The correlation coefficient between ISSR and SRAP genetic similarity data was very high: ($r = 0.947$). Some differences were observed between molecular and morphological studies, and it was concluded that morphological analyses are insufficient by themselves and molecular techniques are more reliable in genetic variability studies.

Keywords: Pumpkin, Squash, Genetic relationship, SRAP, ISSR

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında gerek ders gerekse tez dönemimde maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen, büyük bir sabır göstererek çalışmamın her aşamasında yanımda olan, insani değerleri yüksek, özverili, sevecen, disiplinli insan, danışman hocam Biyoteknoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Kazım ABAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca moleküler çalışmalarımı yaparken bana laboratuvarının kapılarını sonuna kadar açan ve her türlü yardımını esirgemeyen önerileriyle çalışmama yön veren ve ikinci danışman gibi destek olan sayın hocam Prof. Dr. Salih KAFKAS'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamda kullandığım yerel yurt içi materyalleri sağlamamda yardımcı olan Ondokuzmayıs Üniversitesi öğretim üyesi sayın hocam Doç Dr. Ahmet BALKAYA'ya ve yurt dışı materyali sağlayan Namık Kemal Üniversitesi öğretim üyesi sayın hocam Yar. Doç. Dr Uğur BAL'a ayrıca teşekkür ederim.

Tez çalışmamın çeşitli aşamalarında bilgi ve destekleriyle sürekli yanımda ve yardımcı olan, değerli arkadaşım Ar. Gör. Mehtap YILDIZ'a, sevgili arkadaşım doktora öğrencisi Yük. Ziraat Müh. Yıldız DOĞAN'a, Yük. Ziraat Müh. Mahmut YEGÜL'e, yüksek lisans öğrencisi Meltem BERBER'e, lisans öğrencisi Fuat BOZOĞLU'na, ayrıca Biyoteknoloji ve Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı öğretim üyesi ve öğrencilerine teşekkürü borç bilirim.

Her türlü fedakarlığı yaparak yüksek lisans eğitimim süresince beni destekleyen ve eğitimimin devamını sağlayan değerli iş arkadaşım Laboratuvar Teknisyeni Murat POLAT'a, İskenderun Devlet Hastanesi Laboratuvarı personeline ve değerli arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Barış OTLU'ya çok teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca hep yanımda olan ve tez çalışmalarım esnasında maddi ve manevi desteklerini eksik etmeyen çok değerli aileme ve kuzenlerim Kamuran ve Barış İNAN'a gönülden sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VIII
1.GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
3. MATERYAL VE METOD.....	13
3.1. Materyal.....	13
3.2. Metod.....	14
3.2.1. Morfolojik çalışmalarda izlenen yöntemler.....	15
3.2.1.1. Tohum Ekimi ve Fide Elde Edilmesi.....	15
3.2.1.2. Bitkilerde Yapılan Gözlemler ve Ölçümler.....	16
3.2.2. Moleküler karakterizasyon.....	22
3.2.2.1. Bitki Materyalinin Hazırlığı.....	22
3.2.2.2. DNA İzolasyonu.....	22
3.2.2.3. DNA Konsantrasyonunun belirlenmesi.....	23
3.2.2.4. ISSR Analizleri.....	24
3.2.2.5. SRAP Analizleri.....	25
3.2.2.6. Primerlerin Polimorfizm Oranlarının Belirlenmesi.....	27
3.2.2.7. Primerlerin Polimorfizm Bilgi İçeriğinin Belirlenmesi..	27
3.2.2.8. Primerlerin Ayırma Güçlerinin Belirlenmesi.....	27
3.2.2.9. Soyağacı Analizleri.....	28
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	29
4.1.Morfolojik Gözlemler.....	29
4.1.1. Fidelerde Yapılan Gözlem ve ölçümlere Ait Veriler.....	29
4.1.2. Arazide Bitkilerde Yapılan Gözlemlere Ait Bulgular.....	30

4.1.3. Yapraklarda Yapılan Gözlemlere ve Ölçümlere Ait Bulgular.....	32
4.1.4. Çiçeklerde Yapılan Gözlemlere ve Ölçümlere Ait Bulgular.....	34
4.1.5. Meyvelerde Yapılan Gözlem ve Ölçümlere Ait Bulgular.....	37
4.1.6 Tohumda Yapılan Gözlem ve Ölçümler.....	40
4.1.7 Morfolojik Verilere Ait Dendogramın Değerlendirilmesi.....	42
4.2. Moleküler Çalışmalar.....	45
4.2.1 ISSR Analizleri.....	45
4.2.2 SRAP Analizleri.....	50
4.2.3 SRAP ve ISSR Yöntemleri Birlikte Analiz edilerek ile Kabak Genotiplerinin Aralarındaki Genetik İlişkilerinin Belirlenmesi..	55
4.2.4. SRAP ve ISSR Yöntemlerinden Elde Edilen Benzerlik İndeksleri Arasındaki Korelasyon.....	58
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59
KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	67
EKLER.....	68

ÇİZELGELER DİZİNİ	SAYFA
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan genotipler ve temin edildikleri yerler.....	14
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan ISSR primerlerinin baz dizilimleri, baz sayıları ve kabak DNA'sına PCR'da yapışma sıcaklıkları.....	25
Çizelge 3.3 Çalışma kapsamında kullanılmış olan SRAP ileri primerleri.....	26
Çizelge 3.4 Çalışma kapsamında kullanılmış olan SRAP geri primerleri.....	26
Çizelge 4.1 Fidelikteki genç bitkilerde yapılan gözlemlerin sonuçları.....	30
Çizelge 4.2 Arazide bitkilerde yapılan gözlemlere ait bulgular.....	31
Çizelge 4.3 Yaprakta yapılan gözlem ve ölçümlere ait veriler.....	33
Çizelge 4.4 Dişi çiçeklerde yapılan gözlemlere ait bulgular.....	35
Çizelge 4.5 Erkek çiçeklerde yapılan gözlemlere ait bulgular.....	36
Çizelge 4.6 Meyvelerde yapılan gözlem ve ölçümlere ait veriler.....	38
Çizelge 4.7 Meyvelerde yapılan gözlem ve ölçümlere ait veriler.....	39
Çizelge 4.8 Tohumlarda yapılan gözlem ve ölçümlere ait veriler.....	41
Çizelge 4.9 ISSR primerlerinin amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları(PBS),polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve primerin ayırma gücü(AG)değerleri.....	46
Çizelge 4.10 SRAP primerlerinin amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve primerin ayırma gücü (AG) değerleri.....	51

ŞEKİLLER DİZİNİ	SAYFA
Şekil 3.1 Bitkinin Büyüme Eğilimi.....	17
Şekil 3.2 Yaprakta Dilimlilik Durumu.....	18
Şekil 3.3 Yaprak Ayası Üst Renk Farkı.....	19
Şekil 3.4 Yaprak Sapında Dikenlilik.....	19
Şekil 3.5 Yaprakta beneklilik durumu.....	19
Şekil 3.6 Erkek Çiçek İç Halka Renk Derecesi.....	21
Şekil 4.1 Meyvelere Ait Resimler.....	22
Şekil 4.2 Meyve Tohumlarına Ait Resimler.....	23
Şekil 4.3 24 genotipe ait morfolojik veriler kullanılarak UPGMA bilgisayar analizi ile oluşturmuş dendogram.....	44
Şekil 4.4 809 ISSR primerinin 24 genotipe uygulanması sonucu elde Edilen PCR amplifikasyon ürünlerinin görüntü.....	45
Şekil 4.5 24 kabak genotipine ISSR tekniğinin uygulanması sonucu Soyağacı.....	47
Şekil 4.6 Me6/Em5 SRAP primerinin 24 genotipe uygulanması sonucu PCR amplifikasyon ürünlerinin görüntüsü.....	50
Şekil 4.7 24 kabak genotipine SRAP tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen soyağacı.....	52
Şekil 4.8 24 kabak genotipine ISSR ve SRAP tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen soyağacı.....	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorfism
AG	: Ayırma Gücü
BBE	: Bitkinin Büyüme Eğilimi
bç	: Baz Çifti
BKAD	: Bitkinin Kol Atma Durumu
BKADE	: Bitkinin Kol Atma Derecesi
BYSD	: Bitkide Yaprak Sapının Duruşu
BYSD	: Bitkide Yaprak Sapının Duruşu
CTAB	: Setil Trimetil Amonyum Bromit
çek	Çekirdek
ÇÜZF	: Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi
dATP	: Deoksi Adenozin Trifosfat
dCTP	: Deoksi Stidin Trifosfat
DÇÇYU	: Dişi Çiçekte Çanak Yaprakların Uzunluğu
DÇPR	: Dişi Çiçekte Pistil Rengi
DÇTYİH	: Dişi Çiçekte Taç Yaprakların İçindeki Halkalar
DÇTYİHR	: Dişi Çiçekte Taç Yaprakların İçindeki Halkaların Rengi
DÇTYİHYRY	: Dişi Çiçek Taç Yaprak İç Halkaların Yeşil Renk Yoğunluğu
dGTP	: Deoksi Guanozin Trifosfat
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dTTP	: Deoksi Timidin Trifosfat
d/d	Dakikadaki devir sayısı
EÇÇSÇ	: Erkek Çiçekte Çiçek Sapının Çapı
EÇÇSO	: Erkek Çiçekte Çiçek Sapındaki Olukluluk
EÇCSR	: Erkek Çiçekte Çiçek Sapının Rengi
EÇÇST	: Erkek Çiçekte Çiçek Sapındaki Tüylülük
EÇÇSU	: Erkek Çiçekte Çiçek Sapının Uzunluğu
EÇÇYU	: Erkek Çiçekte Çanak Yaprak Uzunluğu

EÇTYİHR	: Erkek Çiçek Taç Yaprak İç Halka Rengi
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetikasit
EST	: Esteraz
GBS	: Gövdede Boğum Sayısı
GS	: Gövdede Sülükler
GYR	: Gövde Yeşil Rengi
HCL	: Hidroklorik Asit
HU	: Hipokotil Uzunluğu
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat
kab	Kabuk
KB	: Kotiledon Büyüklüğü
KR	: Kotiledon Rengi
KŞ	: Kotiledon Şekli
M	: Molar
MAR	: Meyve Ana Rengi
MARY	: Meyve Ana Renginin Yoğunluğu
MAS	: Marker Yardımlı Seleksiyon
MÇ	: Meyve Çapı
MDH	: Malat Dehidrogenaz
MER	: Meyve Eti Rengi
Mgcl ₂	: Magnezyum Klorür
Mİ	: Meyve İndeksi (Uzunluk/Çap)
MİVÜR	: Meyve İkincil Ve Üçüncül Renkleri
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
MRS	: Meyve Rengi Sayısı
MŞ	: Meyve Şekli
MU	: Meyve Uzunluğu
MY	: Meyve Yivliliği
Na ₂ S ₂ O ₅	: Sodyum Metabisülfid
NaCl	: Sodyum Klorür

ng	: Nanogram
OMÜZF	: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi
PBDPBS	: Primer Başına Düşen Polimorfik Bant Sayısı
PBI	: Polimorfizm Bilgi İçeriği
PBS	: Polimorfik Bant Sayısı
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PGM	: Fosfoglikomutaz
PO	: Polimorfizm Oranı
PRO	: Peroksidaz
PVP	: Polivinilpirolidon
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic Dna
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
SCAR	: Sequence-Characterized Amplified Regions
SRAP	: Sequence Related Amplified Polimorphism
SSR	: Simple Sequence Repeat
Tag	: Thermus Aquaticus
TBE	: Tris/Borat/EDTA(Tampon Çözeltilisi)
TBS	: Toplam Bant Sayısı
THS	: Tohum Hilum Sonu
Tİ	: Tohum İriliği
TKŞ	: Tohum Kesiti Şekli
TKZÇD	: Tohum Kabuk Zarı Çıkma Durumu
TKZK	: Tohum Kabuk Zarı Kalınlığı
TR	: Tohum Rengi
TŞ	: Tohum Şekli
UBC	: University Of British Columbia
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Average
UV	: Ultraviolet
YAB	: Yaprak Ayasının Büyüklüğü
YABE	: Yaprak Ayasında Beneklilik
YAD	: Yaprak Ayasında Dilimlilik

YAK	: Yaprak Ayasında Kabarıklık
YAÜYYR	: Yaprak Ayası Üst Yüzeyinin Yeşil Rengi
YSDS	: Yaprak Sapında Dikenlerin Sayısı
YSEKŞ	: Yaprak Sapının Enine Kesit Şekli
YSK	: Yaprak Sapının Kalınlığı
YSU	: Yaprak Sapının Uzunluğu
YSYR	: Yaprak Sapının Yeşil Rengi
YÜÇR	: Yivler Üzerindeki Çizgilerin Rengi
λ DNA	: Lambda Deoksiribonükleik Asit
μ l	: Mikrolitre
μ M	: Mikromolar

1.GİRİŞ

Kabakgiller (*Cucurbitaceae*) kavun, karpuz, hıyar ve kabak gibi dünyada yetiştiriciliği yaygın olan sebzeleri içine alan önemli bir familyadır. Bu familyadaki sebzelerin yetiştiriciliği, ekolojik koşulların uygunluğu nedeniyle Türkiye’de de yaygın olarak yapılır. Dünyada ve ülkemizde değişik amaçlarla üretilen ve çeşitli türleri olan kabakta, 2005 yılı verilerine göre, dünyadaki ekim alanı yaklaşık 1,5 milyon ha, üretim miktarı ise yaklaşık 20 milyon tondur. Dünyadaki kabak üretiminin %29’unu Çin, %18’ini Hindistan, %5’ ini Ukrayna üretmektedir. Üretim sıralamasında da Türkiye, Arjantin ve Japonya ile birlikte ve yaklaşık %4’ lük üretim payı ile dördüncülük konumunda bulunmaktadır (**Anonim, 2007**).

İstatistiki verilere göre Türkiye’nin toplam sebze üretimi 25 milyon ton civarında olup, bunun 6 milyon ton kadarını kabakgiller oluşturmaktadır (**TÜİK, 2004**). Kabakgiller bu üretim miktarı ile Türkiye sebze üretiminin % 23’ünü oluşturmaktadır. Dünyada ilk 10-15 ülke arasında yer alan Türkiye’nin kabak ekim alanı 22.000 ha, değişik tiplerdeki kabakların üretimi ise 375 bin tondur (**Anonim, 2004**).

Kabaklar sıcak iklimden hoşlanan ve fakat değişik iklim koşullarında yetiştirilebilme şansına sahip olan tek yıllık bitkilerdir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış meyvelerinin insan beslemesinde kullanılmasının yanında besleyici değeri yüksek olan tohumları da özellikle ülkemiz, Akdeniz ülkeleri ve Ortadoğu ülkelerinde çerezlik olarak kullanılmakta (**Anonim, 2007**); ayrıca gıda, ilaç ve kozmetik sanayinde değerlendirilebilmektedir (**Robinson ve Decker-Walters, 1997**).

Cucurbitaceae familyası içinde 118 cins ve 825 tür bulunduğu bildirilmektedir (**Jeffery, 1990**). Bu familyada yer alan *Cucurbita* cinsi bitkiler alemi içinde morfolojik olarak en çok çeşitlilik gösteren cinslerden biridir (**Robinson ve ark., 1976**). Bu cins içinde kültürü yaygın olarak yapılan önemli türler, *Cucurbita maxima* Duch. (kışlık kestane kabakları), *Cucurbita moschata* (Duch ex.Lam.) (kışlık bal kabakları), *Cucurbita pepo* L. (yazlık kabaklar), *Cucurbita argyrosperma* Hiber.,

(syn. *C. mixta*)(kışlık bal kabakları) ve *Cucurbita ficifolia* Bouche (çok yıllık kışlık kabaklar) ‘dır.

Kabağın anavatanının Amerika olduğu bir çok kaynak tarafından bildirilmiştir. *Cucurbita maxima* Güney Amerika’nın Uruguay ve Arjantin gibi ılıman bölgelerinden, *C. moschata* ve *C. ficifolia* tropical ve sub-tropikal Amerika (Meksika ve Güney Amerika) bölgelerinden, *C. argyrsperma* ve *C pepo* Meksika ve Kuzey Amerika’dan köken almaktadır (**Whittaker ve Bemis 1975; Nee, 1990; Wilson ve ark., 1992**).

Kabak meyvelerinin kuru madde oranı % 6 - 10 arasında olup, kuru maddenin önemli kısmını şekerler oluşturur (% 2 - 4). Protein içeriği % 2 - 4, kül miktarı % 0.09 ‘dur. Kül içinde % 0.03 potasyum, % 0.02 kalsiyum, % 0.1 magnezyum, % 0.01 fosfor bulunmaktadır. Yağ oranı meyvede oldukça azdır ve % 0.4 - 1 civarındadır. Buna karşılık tohumlardaki yağ oranı ise % 10- 20 arasında değişir. Fakat bazı tür ve çeşitlerin tohumlarının yağ oranı % 30-40’a kadar çıkabilir. Kabaklarda bol miktarda A, B ve C vitamini bulunur. Niketim 100 gr kabakta 1000 - 16000 I.Ü. A vitamini, 0.16 - 0.18 mg B1, 0.2- 0.3 mg B2, 2.0 - 5.0 mg Niacin, 28 - 75 mg C vitamini vardır (**Günay, 2005**).

Cucurbita pepo L türüne giren yazlık kabakların çoğunlukla olgunlaşmamış genç meyveleri tüketilir. Buna karşılık *Cucurbita moschata* Poir ve *Cucurbita maxima* Duch. kışlık kabaklar olarak kabul edilmekte ve olgunlaşmış meyveleri çorba, tatlı ve börek yapımında kullanılmaktadır. Ülkemizde yetiştirilmekte olan çerezlik tüketim amaçlı çekirdek kabakları, çoğunlukla *Cucurbita pepo* L. türündedir. Bununla birlikte az miktarda da *Cucurbita moschata* türünden olan bal kabağı tohumları da çerezlik olarak kullanılmaktadır (**Anonim, 2007**).

Kabağın hazımının kolay olduğu ve bu bakımdan mide rahatsızlığı olanlara önerildiği; ayrıca böbrek taşı ve kum düşürmede kullanıldığı, lapa halinde kulak ağrısına iyi geldiği içerdikleri “piperazin” maddesi nedeniyle bağırsak parazitlerine karşı öldürücü özelliği bulunduğu; bağırsaklardaki kıl kurdu ve tenyanın düşürülmesinde, eskiden kabak çekirdekleri kullanıldığı bildirilmektedir (**Günay, 2005**). Ayrıca ABD’nde Buffalo Devlet Üniversitesi’nde yapılan bir çalışmada kabaktaki fitosterollerin, prostat kanseri hücrelerinin gelişmesini engellediğinin

gözlendiği de bildirilmiştir (Saraçoğlu, 2006). İdrar yolları ve idrar kesesi şikayetlerine pozitif etkisi kanıtlanan kabuksuz kabak çekirdeğinin kolesterol düşürücü olduğu da tıp literatürüne girmiştir (Anonim, 2006).

Cucurbita pepo L., *Cucurbitaceae* familyası içinde ekonomik değeri yüksek olan önemli bir türdür. Meyve özellikleri açısından da en polimorfik olan türdür. *C. pepo*'nun kültür bitkisi olarak yetiştirilenleri meyve büyüklüğü, şekli ve rengi açısından son derece çeşitlilik gösterir ve neredeyse hepsi yabani akrabalarına göre daha kalın ve etli kısmı acı olmayan daha yüksek derecede renkli ve daha az lifli meyvelere sahiptir. Kültür formlar ve çeşitleri daha büyük ve daha az sayıda vejetatif ve generatif organlara sahiptir (Whittaker ve Bemis 1964). Kabakların Büyük bir çoğunluğu gıda amaçlı üretilirken, bazıları dekorasyon amaçlı da yetiştirilmektedir. Genellikle yenilebilir yuvarlak meyveli olan türler "pumpkins", yenilebilir yuvarlak olmayan türler "squash" yenmeyenler ise "gourd" olarak adlandırılır (Paris ve ark., 2003).

C.pepo bugünkü botanik sınıflandırmanın temeli olan allozim çeşitliliğine göre üç alt türe ayrılmaktadır: *C. pepo* subsp. *fraterna* (Bailey) Andres, *C. pepo* subsp. *texana* (Scheele) Filov ve *C. pepo* subsp. *pepo* (Decker, 1988). İlki tüm türler için ata olarak kabul edilen ve sadece Kuzeydoğu Meksika'da bulunan yabani formları temsil eder (Andres, 1987 ; Nee, 1990). İkincisi Amerika'daki yabani formları temsil eder (Decker, 1988). *C. pepo* subsp. *pepo* ise yabaniler içinde tanımlanamaz. Bunun tahmini olarak üç alt tür içinde coğrafi olarak aynı bölgenin daha güneyinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Meyve şekli çeşitliliği temeline dayanan sınıflandırmaya göre, *C. pepo*'nun meyveleri yenen sekiz grubu vardır (Paris, 1986). Bunlara daha sonra iki ornemantal (süs bitkisi) grup da kültür formu olarak eklenmiştir. Bu on çeşit-grubu Pumpkin (yuvarlak), Cocozelle (uzun, şişkin ve silindirik), Vegetable Marrow (kısa, sivri silindirik), Zucchini (düzgün silindirik), Orange Gourd (küçük, yuvarlak), Acorn (Karışık çizgili), Scallop (düz, tarak kabuğu şeklinde), Crookneck (uzun, ince boyunlu), Straightneck (kısa, kalın boyunlu) ve Ovifera Gourd (küçük, çeşitli şekilli) olarak anılmaktadır.

C. pepo normalde kalın ve sert tohumlara sahiptir. Tohum kabuğundaki tabakalarda meydana gelen odunlaşma nedeniyle tohum kabuğu serttir. Buna

karşılık mutant bir form olan “*styrian*” kabağı odunlaşmamış bir testa yapısı göstermektedir. Muhtemelen 1880’lerde Güney Doğu Avusturya-Macaristan bölgesinde kabuklu çekirdekli kabak türlerinde oluşan bir mutasyon sonucu kabuksuz bir çekirdek yapısı meydana gelmiştir (**Zraidi ve Ark, 2003**). Genetik olarak kabuksuz tohumlarda da, aslında bütün doku katmanları oluşmakta, fakat ikincil dış doku katmanlarının (epidermis, hipodermis ve sklerenkima) kalınlığında azalma olmaktadır. Kabuksuz tohumlar kurutulduğu zaman, dıştaki bu katmanlar (dokular) çökerek ince kabukluluk karakteri ortaya çıkmaktadır (**Stuart ve Loy, 1983**).

Tohum kabuk karakteri ve genetiği üzerindeki birçok çalışma yapılmış ve bunlar 1950’li yıllarda başlamıştır. Genel benimseme, kabuklu tohum tipinde bazı kabuk tabakalarındaki kuvvetli odunlaşmadan sorumlu majör bir dominant genin varlığı yönündedir. Eğer bu lokustaki her iki allel homozigot resesif ise tohum temelde kabuksuz olmaktadır. Buna rağmen tohum yüzeyinde odunlaşma miktarı bakımından az odunlaşandan çok odunlaşana kadar çeşitlilik gözlemlenebilir. Bu varyasyon için, tek genden dokuz gene kadar değişik tanımlarıyla farklı genetik açıklamalar olduğu ileri sürülmüştür (**Zraidi ve ark., 2003**).

Histolojik çalışmalardan elde edilen bulgular her iki tohum kabuğu durumunda da antesis sonraki dönemin 15. ve 20. günleri arasında benzer gelişme seyrini izlediğini göstermiştir. Bu aşama içinde beş hücre tabakası açıkça ayırt edilebilir. Kabuklu tiplerde 2., 3. ve 4 tabakalar kuvvetli şekilde ligninlesirken, kabuksuz tipte eksik lignin birikimi yüzünden bu hücre tabakaları dağılır (**Zraidi ve ark., 2003**).

Kabuksuz çekirdek kabağı Balkan, Ortadoğu ve Orta Avrupa ülkelerinde daha çok çerezlik olarak üretilmektedir. Amerika’da yüksek kaliteli bitkisel yağ kaynağı olarak, çerezlik olarak ve sandviç sosu yapımında potansiyel bir besin olarak kullanılmaktadır. Yüksek protein ve enerji kaynağı olmasından dolayı Slovenya, Avusturya ve Macaristan gibi gelişmekte olan ülkelerde konsantre besin kaynağı olarak tüketimi oldukça yaygındır (**Loy, 1990**). Bu ülkelerde ayrıca kabak çekirdeği yağı, nitelikli bir salata yağı olarak yüksek fiyatlarla satılmaktadır. Türkiye’de

çekirdek kabağı üretimi fazladır ve yurt dışına çerez ve yağ sanayinde kullanılmak üzere ihracatı yapılır.

Bitkilerin akrabalık derecelerinin incelenmesi ve ıslah çalışmalarının yürütülmesinde önemli yararlar sağlayan markırlar, morfolojik, biyokimyasal ve moleküler olarak üçe ayrılırlar. Moleküler markörler, kalıtımı kolaylıkla belirlenebilen veya gözlemlenebilen DNA veya protein dizilimidir. Başka bir deyişle, kromozom üzerinde yer gösteren bir işarettir veya küçük bir DNA parçasıdır **(Kafkas, 2006)**. İyi bir moleküler markır polimorfik, tekrarlanabilir, tercihen kodominant kalıtım gösteren, hızlı ve ucuz, otomasyona uygun, güvenilir, çevre ve diğer lokuslardan etkilenmiyor olmasıdır.

Genetik markırlar parmakizi çalışmalarında, genetik haritalamada, markır yardımcı seleksiyonda (MAS), gen klonlanması ve moleküler evrim çalışmalarında günümüzde oldukça etkin kullanılmaktadır.

Türkiye’de çekirdek kabağı yetiştiriciliği, Orta Anadolu’nun Doğu kesimlerinde Nevşehir, Aksaray ve Kayseri’de; Ankara’nın Polatlı İlçesi civarında ve Trakya’da yoğunlaşmıştır. Buralardaki üretimin çoğu kabuklu materyaldir ve populasyonlar halindedir. Kabuklu olanların yanında az miktarda kabuksuz olanlar da üretilmektedir. 1985 yılında Trakya’dan getirilen bir populasyondan yapılan seleksiyonla bazı hatlar geliştirilmiştir. Burada sunulan çalışmada anılan bu hatlar ile yerli ve yabancı kimi kabuksuz kabak çekirdeği genotipleri, bunlara ek olarak bazı kabuklu çekirdek kabakları ve normal yazlık ve kışlık kabaklar kullanılarak, Türkiye orjinli kabuksuz çekirdek kabaklarının diğerleri ile akrabalık derecelerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Kabakgillerdeki moleküler karakterizasyon çalışmalarının en eskilerinden birisi 1995 yılında yapılmıştır. Bu araştırmada **Katzir ve ark. (1996)**, SSR tekniği ile kavun (*Cucumis melo* L.) ve *Cucurbitaceae* familyasına ait bazı türler arasındaki farklılıkları belirlemeye çalışmışlardır. Ayrıca SSR primerlerinin *Cucurbitaceae* familyasına ait diğer cins ve türlerde kullanılmasının mümkün olup olmadığını belirlemeye çalışmışlardır. Araştırmacılar, 8 kavun, 11 hıyar, 5 yazlık kabak, 3 karpuz ve 1 kışlık kabak çeşidinden oluşan değişik *Cucurbitaceae* türlerindeki polimorfizmi, 5 kavun ve 2 hıyar SSR primeri ile araştırmışlardır. Kavunda her biri 3-5 allelli markırlar meydana getiren 5 SSR primerinden 2 tanesinin yakın akraba kavunları birbirinden ayırdığını göstermişlerdir. Ayrıca hıyar ve kavun SSR'lerinin benzer yüksek homoloji göstermeleri yüzünden, polimorfizmlerin ana kromozom düzenlemelerinden ziyade, mutasyonlarla meydana geldiği sonucuna varmışlardır.

Garcia ve ark. (1998)'na göre, 7 farklı tipe ait 32 kavun ıslah hattı arasındaki genetik ilişkiyi, 24 agronomik özellik ve 43 RAPD primeri ile tespit etmeye çalışmışlardır. Toplam 234 bant içerisinde, 115 polimorfik bant (% 49) oluşturan RAPD tekniğinin, agronomik özelliklerle uyumlu (% 79 korelasyon) olduğu belirlenmiştir. Çalışmada ıslah hatlarının, ebeveyn ve pedigrî özelliklerine göre ayrılabilirdiği ve buna göre RAPD tekniğinin, gen kaynakları yönetimi, hibrit performansı ve heterosis tahminlerinde faydalı olabileceği kanısına varıldığı bildirilmiştir .

Katzir ve ark. (1998), 18 *Cucurbita pepo* genotipi ile ISSR tekniği kullanarak yaptıkları çalışmalarında Kolombiya Üniversitesi'nde geliştirilen kit#9'a ait 807, 809, 810, 841 ve 842 no'lu primerleri kullanmışlardır. Bu primerlerden en bilgi verici olanları 841 ve 842 no'lu primerler olmuştur. Çalışma sonucunda oluşan dendogramda dikotomi (çatallanma) meydana gelmiş, *C. pepo* ssp. *ovifera*, *C. pepo* ssp. *fraterna*'ya daha yakın, *C. pepo* ssp. *pepo*'ya daha uzak akraba bulunmuştur. *C. pepo* ssp. *ovifera* ile *C. pepo* ssp. *fraterna* aynı dalda yer almış ve *C. pepo* ssp. *ovifera* dallanmalar gösterirken, *C. pepo* ssp. *fraterna* yalnız kalmış ve dallanma göstermemiştir.

Katzir ve ark. (2000), *Cucurbita pepo*'da yaptıkları çalışmalarında ISSR yöntemiyle 90 polimorfik bantta, SSR yöntemiyle 50 bantta 28 farklı genotipin birbirinden farklılıklarını cluster analizi ile belirlemişlerdir. *Cucurbita pepo*'nun 28 farklı örneği üzerinde yapılan bu çalışmada kavuna ait 50 SSR primerinden yedisi (%14) fonksiyonel ve polimorfik bulunmuştur. Bu yedi primerden dördü (CMGA15, CSGA057, GMTG51 ve CMTG17) hiç allel vermezken, bir primer (CMCT160a) iki allel ve diğer iki primer (CMAG59 ve CSCTTT15a) üç allel vermiştir ISSR'da ise, 90 polimorfik bant değerlendirilmiş ve en bilgi verici ISSR primerlerin 841 ve 842 no'lu primerler olduğu anlaşılmıştır, (sırasıyla 20 ve 21. polimorfik bantlar). Bu çalışmaların sonucunda SSR primerlerinin *Cucurbita pepo*'nun akrabalık ilişkilerini belirlemede çok daha iyi bir markır sistemi olduğu anlaşılmıştır.

Garcia-Mas ve ark. (2000), AFLP, RAPD ve RFLP gibi üç farklı markır sistemi kullanarak *inodorus*, *agrestis*, *conomon* ve *momordica* varyetelerine ait toplam 6 genotipin genetik uzaklıklarını ölçerek, bu üç markır sistemini karşılaştırmışlardır. RAPD analizlerinde toplam 500 primer test edilmiş ve 6 genotip için 204 primer en az bir polimorfik bant içermiştir. 6 genotip için denenen 12 AFLP primer kombinasyonunun her birinden en az bir polimorfik bant elde edilmiştir, 82 RFLP probu (69 cDNA ve 13 genomik klon) kullanılmış ve 6 hat için en az bir polimorfik bant elde edilmiştir. Denenen 12 AFLP primer kombinasyonu, 82 RFLP probu ve 500 RAPD primerinin sırasıyla % 100, % 57 ve % 40'ı bu kavun çeşitleri arasında polimorfizm oluşturmuşlardır. Bu moleküler tekniklerin hepsinden 107 adet markır kullanılarak elde edilen dendogramlar, genelde benzer sonuçlar vermiş ve hepsi de birbirine yakın şekilde etkili olmuşlardır. AFLP-RFLP, RAPD-RFLP ve RAPD-AFLP arasındaki korelasyonlar sırasıyla % 79, % 90 ve % 91 olmak üzere çok yüksek bulunmuştur. Cluster analizleri üç ayrı markır tipi için yapılmış dendogramda oluşan iki grupta, tatlı kültür çeşitleri egzotik çeşitlerden ayrı bir grup oluşturmuşlardır. Ayrıca araştırmada en yüksek polimorfizm gösteren markır AFLP olmuştur.

Paris (2001), İsrail'deki New Ya'ar Araştırma Merkezi'ndeki yazlık kabak (*Cucurbita pepo*) koleksiyonunda 320 adet genotipin yer aldığını bildirmektedir. Genotiplerin 133 adeti hibrit, 187 adeti açık tozlanan ticari çeşitlerden, yöresel

genotiplerden ve yabani formlardan oluşmaktadır. Genotiplere ait bitkilerde gövde rengi, yaprak şekli ve rengi, yapraklarda gümüşlenme, gelişme tabiatı, meyve şekli, meyve rengi ve diğer bazı karakterlerin gözlemleri yapılmıştır. Bu gözlemler sonucunda genotipler alt türlerine ve çeşit gruplarına göre sınıflandırılmıştır.

Danin-Poleg ve ark. (2001), karakterizasyon ve genetik uzaklık çalışmalarında uygulamak üzere kullanışlı SSR markörleri üretmek ve geliştirmek için çalışmışlardır. 30 kavun ve 10 hıyar SSR'ını 13 kavun ve 11 hıyar (*Cucumis sativus* L.) genotipini ayırmada kullanmışlardır. PCR amplifikasyonları ile kavun genotipleri arasındaki 6 allel ve hıyar genotipleri arasındaki 5 allel belirlenmiş ve genetik uzaklık değerleri kavun ve hıyar için sırasıyla 0.52 ve 0.28 bulunmuştur. Bu farklılık hıyarın bilinen genetik yakınlığıyla uyumlu bulunmuştur. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlarda, tatlı ve egzotik tipler arasında; turuncu etli ve yeşil/beyaz etli meyvelere sahip çeşitler arasında farklılaştırma gözlenmiş ve bazı allellerin, *flexuosus*'u tatlı çeşitlerden ayırabildiğini belirlemişlerdir. Ayrıca hıyarın iki alttürü (*C. sativus* var. *sativus* ve *C.sativus* var. *hardwickii*) arasında fark elde edilmiş, kavun ile hıyar arasındaki SSR lokus benzerliği dizi karşılaştırmasıyla kanıtlanmıştır.

Paris ve ark., (2003) ise, özellikle kültür formları ağırlıklı olarak oluşturan bir *Cucurbita pepo* gen havuzunda bulunan genetik akrabalık ilişkilerini AFLP, ISSR ve SSR tekniklerini kullanarak açıklığa kavuşturmaya çalışmışlardır. Bu çalışmalarında 45 genotipi, 448 AFLP, 147 ISSR ve 20 SSR bandının bulunup bulunmamasına göre karşılaştırmışlar ve bunların genetik uzaklığını (GDs), UPGMA Cluster Analizi yaparak tahminlemişlerdir. AFLP analizleri AFLP Analiz Sistem I Kit (Gibco BRL) ile gerçekleştirilmiş, (Vos ve ark., 1995) ISSR analizlerinde Kanada'daki British Columbia Üniversitesi'nden Kit#9 ait 807,809, 810, 841,842 ve 855 no'lu primerler ISSR analizlerinde kullanılmıştır (Zietkiewickz ve ark., 1994). SSR reaksiyonlarında ise kavun ve hıyardan elde edilen yedi primer çifti test edilmiştir. Bu primerlerden beşi (CMAG59,CMTC51, CSTCC813, CSCTTT15a) Katzir ve ark.(1996) ve Danin-Poleg ve ark.(2001) tarafından tarif edilirken, kalan iki primer çifti CMAGN73 ve CMTGN17 primerleri olmuştur. Çalışma sonucunda, bu üç markır sistemi arasında yüksek korelasyonlar elde edilmiştir($p<0.01$). Araştırmacıların bu çalışmaları sonucunda *Cucurbita pepo* içindeki üç alt türün

(*fraterna*, *texana*, ve *pepo*) morfolojik özellikleri ile moleküler bulgular arasında uygunluk tespit edilmiştir. *Cucurbita pepo* subsp. *fraterna*, *C. pepo* subsp. *texana*'ya daha yakın, *C. pepo* subsp. *pepo*'ya daha uzak bulunmuştur. *Cucurbita pepo*'daki DNA polimorfizmi iki yüksek poligenik karakter olan meyve boyutu ve meyve şekli için fenotipik varyasyonla oldukça uyumlu çıkmıştır.

Kabakta yapılan bir başka çalışmada **Ferriol ve ark. (2003)**, ticari olarak üretimi yapılan çeşitler ve İspanya'nın yerel genotiplerinden oluşan *Cucurbita pepo*'ya ait 69 genotipi morfolojik ve moleküler olarak değerlendirmişlerdir. Moleküler çalışmalar için PCR' a dayalı AFLP ve SRAP olmak üzere iki moleküler tekniği kullanmışlardır. Araştırmacılar tercihen amplifikasyon işleminde ORFs(open reading frames, açık okuma çerçeveleri) tercih edilmiştir. Çalışmalarda UPGMA metodu kullanılarak cluster analizi yapılmış ve bu iki markır sistemi kullanılarak genotipler iki alt türe ayrılmıştır. Araştırmacılar AFLP tekniği çok kompleks olduğundan hepsi morfolojik olarak bir grup gösteren 47 genotipten SRAP markırları ile uygunluk gösterenleri seçmişler ve koleksiyondaki farklılıkları en yüksek derecede ortaya çıkarmaya çalışmışlardır. Çalışmanın sonucunda genetik çeşitlilik ve genetik tanılama değerleri morfolojik ve alt türlerde iki markır sistemi arasında farklılık göstermiştir. SRAP markırları ile elde edilen bilgiler AFLP'ye göre gerek morfolojik çeşitlilik, gerekse de morfolojilerin evrimsel tarih süreciyle daha uyumlu bulunmuştur. Bu çalışmada, *C. pepo* ssp. *ovifera* alttüründe meyve rengine göre farklı morfolojide görülen örnekler morfolojik olarak gruplandırılmıştır.

Paris (2004), son çalışmalarında AFLP, ISSR ve SSR markırlarını kullanarak özellikle kültür formların ağırlıklı olarak yer aldığı, *Cucurbita pepo* içindeki 45 genotipin genetik ilişkilerini tayin etmeye çalışmışlardır. Araştırmacılar bu çalışmalarında 14 AFLP primer kombinasyonundan 18 ile 55 arasında bant elde etmişler ve bunlardan 10 ile 32 kadarını polimorfik bulmuşlardır. Elde edilen toplam 448 kolay skorlanabilir banttan 280'i (%63) polimorfik bulunmuştur. Altı SSR primerinin kullanılmasıyla üretilen sırasıyla 16 ile 30 arasındaki güvenilir şekilde skorlanabilen bantların sayısından 15 ile 23 arası polimorfik bant bulunmuştur. Araştırmacılar toplam 147 ISSR bandının 108'ini (%74) polimorfik bulmuşlardır. Bu çalışmada yedi *Cucumis* SSR primeri amplifiye edilmiş toplam 20 polimorfik, farklı,

skorlanabilir bant elde edilmiştir. Böylece, sonuçta temel veriler büyük sayıdaki AFLP bandı, orta sayıda ISSR bandı ve göreceli olarak az sayıda SSR bandından oluşturulmuştur. AFLP, ISSR ve SSR verilerinden elde edilen dendogramlar ve genetik uzaklık matrisleri benzer bulunmuştur. Uygulanan Mental testlerin korelasyon katsayıları AFLP ve ISSR arasında 0.95, AFLP ve SSR arasında 0.78 ve ISSRs ile SSRs arasında 0.77 bulunmuş ve bu üçününde istatistiki önemliliği ve güvenilirliği yüksek ($P < 0.000001$) çıkmıştır. Sonuc olarak bu çalışmada yüksek derecede poligenik karakter olan meyve büyüklüğü, AFLP ve SSR markörlerinden elde edilen sonuçlarla yenilebilir meyveli formların, büyük meyveliler; pumpkin ve squash, süs ve yabani formlardan, küçük meyveliler; gourd olarak ayrıldığı görülebilmektedir. Ayrıca diğer bir yüksek derecede poligenik karakter olan meyve şekli bakımından, *Cucurbita pepo*'nun yenilebilir meyveli formları sekiz çeşit- grubu ayrımı da (Paris, 1986) , üç DNA markör tipiyle alınan sonuçlara yansımıştır.

Zhuang ve ark. (2003), *Cucumis* türlerinde (*C. sativus* var. *sativus* L., *C. sativus* var. *hardwickii*(R.) Alef., *C. hystrix*, *C. hytivus* ve *C. metuliferus*) ve türler arası melezleme sonucu oluşan genotiplerde genetik akrabalıkları RAPD ve SSR markırlarını kullanarak araştırmışlardır. Türler arası melezleme sonucu oluşan melez (*C. sativus* x *C. hystrix*, $2n=38$) steril olmuş ve fertilitate, kromozom katlaması ile amfidiploidleri elde edilerek sağlanmıştır. Araştırmacılar toplam 109 SSR bandı ve 398 RAPD primer bölgesini ele almışlar ve cluster analizi için Jaccard katsayılarını ve UPGMA metodunu uygulamışlardır. Genetik ilişkilerin tanımlanmasında SSR ve RAPD markırları yüksek derecede uyumlu bulunmuştur. Çalışma sonucunda SSR ve RAPD markırları arasındaki genetik uzaklık (GD) tahmini korelasyon katsayısı $r = 0.94$ olarak hesaplanmıştır. Çalışmada SSR ve RAPD analizleri sonucu 22 genotip iki gruba ayrılmışlardır. Bu grupları CS ve CM olarak isimlendirmişlerdir. Bu gruplardan CM de 11 adet *C. sativus* genotipi ile *C. hytivus* ve *C. hystrix* genotipi bulunurken, CS'de 6 adet *C. melo* ile *C. metuliferis* genotipleri yer almıştır. SSR ve RAPD analizleri sonucu bulunan GD değerleri hesaplanmış ve *C. Hystrix* *C. Melo*'ya *C. Sativus*'tan daha yakın bulunmuştur.

Düzeltir (2004), çekirdek kabaklarında (*Cucurbita pepo* L.) 2003 ve 2004 yıllarında ilk yıl 20 ve ikinci yıl 9 olmak üzere toplam 29 kendilenmiş çekirdek

kabağı hattında morfolojik özelliklere göre tanımlama ve seleksiyon çalışmaları yapmıştır. Araştırmacı daha önceki çalışmalarda umutvar olarak belirlenmiş hatlarda çeşit tanımlamaya yönelik bitki, yaprak, çiçek, genç meyve olgun meyve, tohumluk meyve ve tohum özellikleri belirlemeye ve bu hatlar arasından kabak çekirdeği tüketimine uygun olanları seçmeye çalışmıştır. Çeşit tanımlamada Uluslararası Çeşit Koruma Birliği (UPOV) tarafından sakız kabağı (*Cucurbita pepo* L,) için geliştirilen çeşit özellik belgesindeki kriterleri esas alan araştırmacı, bitki özellikleri, yaprak özellikleri, çiçek özellikleri, genç meyve özellikleri, olgun meyve özellikleri, tohumluk meyve özellikleri ve tohum özellikleri üzerine gözlem ve ölçümler yaparak değerlendirmiştir. Yapılan seleksiyon çalışmaları sonucunda, 3/1, 9/1, 19/1 ve 20/1 no'lu hatlar umutvar bulunmuş ve ileriki yıllarda yapılacak çalışmalarda bu hatlarda seleksiyona devam edilmesinin yararlı olacağı bildirilmiştir.

Morimoto ve ark. (2006) da, yaptıkları çalışmada *Lagenaria siceraria*'da beyaz çiçekli Kenya köy çeşitleri arasındaki genetik farklılıkları ortaya koyarak, morfolojik farklılıkları açıklamaya çalışmışlardır. Araştırmacılar *Lagenaria siceraria*'nın kültüre alınan 53 köy çeşidi ve üç yabancı türe ait 42 genotipte (40 adet *L. Sphaerica*, 1 adet *L. abyssinica*, 1 adet *L. breviflora*) RAPD analizleri yapmışlar ve 54 primer kullanarak toplam 432 polimorfik bant elde etmişlerdir. Bu çalışmada dört tür özellikle diğerlerinden farklı bulunmuştur. Tür içi çeşitlilik *L. siceraria* ve yabancı akrabası olan *L. Sphaerica*'da araştırılmıştır. Araştırmacılar farklı etnik topluluk veya bölgelerden toplanan kültüre alınan köy çeşitlerini birbirinden ayırmışlardır. Bununla birlikte çalışma sonucunda morfolojik farklılıklar RAPD analizleriyle ilişkilendirilememiştir.

Gülşen ve ark. (2007) de, yaptıkları çalışmalarında SRAP ve fenotipik markır kullanarak Türk bamya gen kaynaklarında genetik farklılık ve akrabalıkları belirlemeye çalışmışlardır. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışmada 21 Türk orjinli ve ikisi rastgele seçilmiş ABD orjinli olmak üzere toplam 23 genotip kullanmışlardır. SRAP tekniğini kullanarak yaptıkları araştırmada ileri ve geri olmak üzere 39 primer kombinasyonu kullanarak 97 skorlanabilir markır elde etmişlerdir. Bu markırların %50' si 23 genotipin tümü için polimorfik bulunmuştur. 23 genotipte 17 genotip dışındaki genotipler diğer her bir genotipten 0.93 benzerlik oranıyla ayrılmıştır.

Fenotipik markır olarak 33 kalıtlanabilir özellik arazide 10 replikasyon ile değerlendirmiş ve bunların 28'i polimorfik bulunmuştur. Araştırmacılar 33 fenotipik markır ile yaptıkları UPGMA analizi sonucunda hazırladıkları dendogramda tüm genotipleri ayırabilmişler ancak banya genotipleri arasında coğrafik ilişkilerin çok net ayrılmadığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak SRAP tekniğinin markır yardımcı seleksiyonda, genetik haritalamada ve evrim çalışmalarında çok yararlı bir teknik olduğunu bildirmişlerdir.

Şensoy ve ark. (2007), yaptıkları bir çalışmada kavunun ikincil gen merkezleri arasında yer alan Türkiye'nin değişik bölgelerinden toplanmış olan kavun genotipleri ile önemli yerli kavun çeşitlerini, yurtdışından sağlanan bazı referans genotiplerle fenotipik ve moleküler yöntemlerle karşılaştırmışlar, aralarındaki genetik akrabalık derecelerini belirlemeye çalışmışlardır. Bu çalışmada 56 toplanmış yerel genotip ile 23 yerli ve yabancı referans çeşit yer almış ve RAPD tekniği kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda Türkiye orijinli kavun genotiplerinden hiçbiri tamamen birbirinin aynısı çıkmamıştır. Böylece Türkiye kavun genotipleri arasında sürekli bir tozlanma ve döllenmenin devam ettiği ve yerel materyalin içinde pratikte hiçbir genotipin birbirinin aynı olma olasılığının olmadığı saptanmış fakat benzer yörelerden toplanan genotipler arasında yüksek benzerliklerin bulunduğu da ortaya çıkartılmıştır. Ayrıca, farklı bölgelerdeki genetik çeşitlilik oranlarının da değiştiği saptanmıştır.

3.MATERYAL VE METOD

Araştırma 2007 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümüne ait Sebze Deneme Alanı ve Moleküler Genetik Laboratuvarı'nda yürütülmüştür

3.1 Materyal

Çalışmada toplam 24 farklı kabak genotip kullanılmıştır. Denemelerde yer alan materyalin orijinleri ve isimleri **Çizelge 3.1**'de verilmiştir. Kullanılan genotiplerden beşi Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde **Abak ve ark. (1990)** tarafından başlatılan bir çalışma sonunda geliştirilen kabuksuz çekirdekli kabak hatlarıdır (sel no. 5, 7, 10, 16 ve 23). Birisi bunların içinden bir hat ile kabuklu bir hattın melezidir. (sel no.22 x sel no.23). İkisi yurtiçinden (Bolu) ve dördü yurtdışından gelen altı kabuksuz çeşit ile bir meyvesi tüketilen çeşit de (Sakız) bunlara eklenmiştir. Bunların yanında, ayrıca Ondokuzmayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden Doç. Dr. Ahmet Balkaya'dan sağlanan altı ve piyasadan satın alınan bir adet kışlık kabak genotipi de inceleme materyali arasına alınmıştır.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan genotipler ve temin edildikleri yerler

Genotip No	GENOTİP ADI*	GELDİĞİ YER	TÜR OLASILIĞI	ADI VE/VEYA ÖZELLİKLER
5	ÇÜZF NO. 5	ÇÜZF	<i>C. pepo</i>	Kabuksuz tohumlu
6	ÇÜZF NO. 7	ÇÜZF	<i>C. pepo</i>	Kabuksuz tohumlu
8	ÇÜZF NO. 10	ÇÜZF	<i>C. pepo</i>	Kabuksuz tohumlu
9	ÇÜZF NO. 16	ÇÜZF	<i>C. pepo</i>	Kabuksuz tohumlu
10	ÇÜZF NO.23	ÇÜZF	<i>C. pepo</i>	Kabuksuz tohumlu
11	22x23 F ₁ Melez	ÇÜZF	<i>C. pepo</i>	Kabuklu tohumlu
12	Lady Godiva	İSVİÇRE	<i>C. pepo</i>	Kabuksuz tohumlu
13	Baby Bear	ALMANYA	<i>C. pepo</i>	Kabuksuz tohumlu
14	Gleisdorfer Ölkürbis	AVUSTURYA	<i>C. pepo</i>	Kabuksuz yağ kab.
15	Yabancı yeşil	ADANA	<i>C. pepo</i>	Kabuksuz tohumlu
16	Nevşehir 1	NEVŞEHİR	<i>C. pepo</i>	Kabuklu çek. kab.
18	Nevşehir 3	NEVŞEHİR	<i>C. pepo</i>	Kabuklu çek. kab.
19	Bolu Kabuksuz Kabak Çekirdeği	OMUZF	<i>C. pepo</i>	Kabuksuz tohumlu
20	İskenderun 2	İSKENDERUN	?	Kabuklu çek. kab.
21	İskenderun 3	İSKENDERUN	?	Kabuklu çek. kab.
22	Bolu Kabuksuz Kabak Çekirdeği	OMUZF	<i>C. pepo</i>	Kabuksuz tohumlu
24	Sakız 5801	BURSA	<i>C. pepo</i>	Yazlık sebze kab.
25	Bal kabağı	KONYA	<i>C.maxima</i>	Kışlık kabak
27	55 B 02 Bal kabağı	OMUZF	<i>C.moschata</i>	Kışlık kabak
28	05 AM 02 Bal kabağı	OMUZF	<i>C.moschata</i>	Kışlık kabak
29	14 BO 01 Bal kabağı	OMUZF	?	?
30	05 AM 14 Kestane kabağı	OMUZF	<i>C.maxima</i>	Kışlık kabak
32	05 AM 05 Kestane kabağı	OMUZF	<i>C.maxima</i>	Kışlık kabak
36	55 B 06 Bal kabağı	OMUZF	<i>C.maxima</i>	Kışlık kabak

* Tohum paketlerinin üzerinde yazan veya tohumu sağlayan kişilerin belirttiği isimler

3.2 Metod

Çalışma morfolojik ve moleküler karakterizasyon olmak üzere birbirine paralel iki deneme şeklinde yürütülmüştür. Bu iki denemede izlenen yöntemlere ilişkin bilgiler aşağıda verilmiştir.

3.2.1. Morfolojik çalışmalarda izlenen yöntemler**3.2.1.1 Tohum Ekimi ve Fide Elde Edilmesi**

Denememiz fide ile yetiştirme yapılarak kurulmuş ve bu amaçla kabak tohumları 14 Mart 2007 tarihinde, 45 gözlü plastik fide tepsilerinde her hücreye birer adet tohum gelecek şekilde ekilmiştir. Yetiştirme ortamı olarak hacim esasıyla “1:1” oranında “torf : perlit” karışımı kullanılmıştır

Dikim yapılacak arazi önce pullukla derin olarak sürülmüş, daha sonra iki defa freze ile yüzlek olarak işlenerek dikime hazır hale getirilmiştir. Toprak hazırlığı esnasında 30 kg/da 15:15:15 kompoze gübre taban gübresi şeklinde kullanılmıştır.

Deneme sıra arası 150 cm, sıra üzeri 50 cm ve her sıra üzeri 10 adet bitki olacak şekilde 04 Nisan 2007 tarihinde kurulmuştur. Dikim sırasında iki-üç gerçek yaprak aşamasında olan fideler viollerden alınarak toprağa şaşırtılmış ve dikimden hemen sonra damla sulama boruları bitki gövdelerine yakın mesafelere serilmiş ve ilk sulama yapılmıştır. Ayrıca her sıranın ilk ve son birer metrelik kısımlarına da kenar etkisini kaldırmak için fazladan ikişer bitki dikilmiş, fakat buradaki bitkiler gözlemlerde kullanılmamıştır.

Denemede yetiştiricilik süresi boyunca 5-7 günlük aralıklarla sulama yapılmış, yabancı ot gelişmesine izin verilmeyecek biçimde iki defa çapalama gerçekleştirilmiştir. Dikimden 3 gün sonra 15 kg 15-15-15 kompoze gübresi, daha sonrasında ise 5 kg/da üre uygulanmıştır. Tozlanma ve dölleme açık arazide mevcut olan böceklerle doğal yollardan gerçekleştirilmiş, yeterli polinatör varlığı gözlemlendiği için ek arı kullanılmamıştır.

Hastalık ve zararlılara karşı düzenli gözlemler yapılmış, dikimden hemen sonra bozkurtlara karşı ve çiçeklenme safhasında ise afitlere karşı birer defa ilaçlama yapılmıştır. Ayrıca iki kez de beyaz sineğe karşı ilaçlama yapılmıştır.

3.2.1.2 Bitkilerde Yapılan Gözlem ve Ölçümler

Bitkilerde fide ve gelişmiş bitki aşamasında aşağıdaki gözlemler yapılmıştır. Ele alınan bu gözlem parametrelerinin seçiminde esas olarak UPOV kriterleri benimsenmiş, ayrıca bazılarında Düzeltir, 2004' den de yararlanılmıştır. Morfolojik karakterizasyon için kullanılan gözlem parametereleri şunlardır:

Kotiledon şekli: oval (1), geniş oval veya ters yumurtamsı (2).

Kotiledon rengi: açık yeşil (1), yeşil (2), koyu yeşil (3).

Kotiledon büyüklüğü: çok küçük (1), küçük (2), orta(3), büyük (4), çok büyük (5).

Hipokotil uzunluğu: çok kısa (1), kısa (2), orta (3), uzun (4), çok uzun (5).

<1cm: çok kısa, 1-3cm: kısa, 3-5cm: orta, 5-6cm: uzun, >6cm: çok uzun

Bitkinin büyüme eğilimi: çalı (1), yarı sürünücü (2), sürünücü (3).

Bitkinin kol atma durumu: var (0)veya yok (1)

Bitkinin kol atma derecesi: az (1), orta (2), kuvvetli (3).

Bitkinin yaprak sapının duruşu: dik (1), yarı dik (2), yatık (3).

Gövde yeşil rengi: yalnız açık (1), yalnız koyu (2), açık ve koyu (3).

Gövdede boğum sayısı: yok veya az gelişmiş (0), iyi gelişmiş (1).

Gövde sülükler: yok veya az gelişmiş (0), iyi gelişmiş (1).



a



b



c

Şekil 3.1 Bitkinin büyüme eğilimi: a: yarı sürünücü, b: sürünücü, c: çalı

Yaprak ayasının büyüklüğü: küçük (1), orta (2), büyük (3)

<1:küçük, 1.1-1.2:orta, >1.2: büyük

Yaprak ayasında dilimlilik: yok veya çok hafif (1), hafif (2), orta (3), kuvvetli (4), çok kuvvetli(5)

Yaprak ayası üst yüzeyinin yeşil rengi: açık (1), orta (2), koyu (3)

Yaprak sayısında kabarıklık: yok (0) veya var (1)

Yaprak ayasında beneklilik: yok (0) veya var (1)

Yaprak sapının yeşil rengi: açık (1) , orta (2), koyu (3)

Yaprak sapının uzunluğu: kısa (1), orta (2), uzun (3)

<30 cm:kısa, 20-30 cm:orta, >30 cm: uzun

Yaprak sapının kalınlığı: ince (1), orta (2), kalın (3) <1.6 cm:ince, 1.6-1.7 cm:orta, >1.7 cm: kalın

Yaprak sapının enine kesit şekli: ince (1), orta (2), kalın (3)

Yaprak sapında dikenlerin sayısı: az (1), orta (2), çok (3)



a



b



c



d

Şekil 3.2. Yaprakta dilimlilik durumu: a: çok kuvvetli dilimlilik, b:kuvvetli dilimlilik, c: orta dilimlilik, d: hafif dilimlilik



Şekil 3.3. Yaprak ayası üst renk farkı



Şekil 3.4. Yaprak sapında dikenlilik



a



b

Şekil 3.5. Yaprakta beneklilik durumu: a: benekli, b:beneksiz

Dişi çiçekte taç yaprakların içindeki halkalar: yok (0), var (1)

Dişi çiçekte taç yaprakların içindeki halkaların rengi: yok (0), yeşil (1), sarı (2), yeşil ve sarı (3)

Dişi çiçek taç yaprak içi halkaların yeşil renk yoğunluğu: yok (0), hafif (1), orta (2), kuvvetli (3)

Dişi çiçekte çanak yaprakların uzunluğu: kısa (1), orta (2), uzun (3)

Dişi çiçekte pistil rengi (açmadan önce) : sarı (1), portakal (2)

Erkek çiçek taç yaprak iç halka rengi: yok (0), hafif (1), orta (2), kuvvetli (3) çok kuvvetli (4)

Erkek çiçekte çiçek sapının uzunluğu: kısa (1), orta (2), uzun (3)

<6cm :kısa, 6-16cm: orta, >16: uzun

Erkek çiçekte çiçek sapının çapı: küçük (1), orta (2), büyük (3)

<3cm:küçük, 3-5cm: orta, >5cm:büyük

Erkek çiçekte çiçek sapının rengi: açık yeşil (1), yeşil (2), koyu yeşil (3)

Erkek çiçekte çiçek sapındaki olukluluk: hafif (1), orta (2), kuvvetli(3)

Erkek çiçekte çiçek sapındaki tüylülük: hafif (1), orta (2), kuvvetli (3)

Erkek çiçekte çanak yaprak uzunluğu: kısa (1), orta (2), uzun (3)

<15cm:kısa, 15-50cm: orta, >50cm: uzun



Şekil 3.6. Erkek çiçek iç halka renk derecesi: a:kuvvetli, b:orta, c:hafif, d:yok

Meyve şekli : tarak kabuğu şeklinde (1), ovalimsi (2), küre (3), topaç (4), beyzi (5), oval(6), silindirik(7), golf sopası şekli (8), armudi (9), kanca şekli (9)

Meyve ana rengi : beyazımsı (1), krem (2), sarı (3), portakal (4), yeşil

Meyve ana renginin yoğunluğu: açık (1), orta (2), koyu (3)

Meyve rengi sayısı : bir (1), iki(2), üç (3)

Meyve ikincil ve üçüncül renkleri: yok (0), var (1)

Meyve çapı : küçük (1), orta (2), büyük (3)

<10cm:küçük, 10-20cm: orta, > 20cm:büyük

Meyve uzunluğu: kısa (1), orta (2), uzun (3)

<12cm:kısa, 12-20cm: orta, >20 uzun

Meyve indeksi (uzunluk/çap): çok düşük (1), düşük (2), orta (3), yüksek (4), çok yüksek (5)

<0.5 çok düşük, 0,6-1:düşük, 1,0-2,0:orta, 2,0-3,0:yüksek, >3:çok yüksek

Meyve yivliliği: var (1), yok (0)

Yivler üzerindeki çizgilerin rengi: beyazımsı (1), sarı (2), portakal (3), yeşil (4)

Meyve eti rengi: beyazımsı (1), sarımsı (2), portakal (3), yeşilimsi (4)

Tohum iriliği : küçük (1), orta (3), iri (5)

Tohum şekli : dar oval (1), oval (2), geniş oval (3)

Tohum kesiti şekli: dar eliptik (1), eliptik (2)

Tohumlarda hilum sonu: sivri (1), küt (2)

Tohum rengi: beyazımsı (1), sarımsı (2), yeşilimsi (3), koyu yeşilimsi (4)

Tohum kabuk zarı kalınlığı: çok ince (1), ince (2), orta (3), kalın(4), çok kalın (5)

Tohum kabuk zarı çıkma durumu: kolay (1), orta (2), zor (3)

3.2.2 Moleküler karakterizasyon

3.2.2.1 Bitki Materyalinin Hazırlığı

Moleküler karakterizasyon için genç fideler kullanılmış, bu amaçla 5 Mayıs 2007 tarihinde 45 gözlü plastik fide tepsilerine her hücreye birer adet gelecek şekilde her bir genotipten 10’ar adet tohum ekilmiştir. Ortam olarak hacim esasıyla yine “1:1” oranında “torf:perlit” karışımı kullanılmıştır. DNA izolasyonu için 4 -8 kadar bitkinin ilk yaprakların ortaya çıktığı beklenmiş ve 25 Mayıs 2007 tarihinde bu yaprak örnekleri toplanmıştır. Yaprak örnekleri yıkandıktan ve kurutulduktan sonra sıvı azot (-196⁰C) ile muamele edilip, DNA izolasyonuna kadar -80⁰C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.2 DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için **Doyle ve Doyle’nin (1987)** geliştirdiği ve **Kafkas ve ark.’nın (2005)** modifiye ettiği DNA izolasyon yöntemi uygulanmıştır.

Bu yöntemde; 1 g genç yaprak örneği, içerisinde sıvı azot bulunan havanda iyice ezilmiş, tüp içerisine 6 ml CTAB tampon çözeltisi (100 mM Tris-HCl, 1.4 M

NaCl, 20 mM EDTA, %2 CTAB, %2 PVP, β -mercaptoethanol, %0.1 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) ilave edilmiş ve sıcaklığı 65°C 'de olan su banyosuna konmuştur.

İçerisinde ezilmiş yaprak örnekleri bulunan eppendorf tüpler her 10 dakikada bir karıştırılmak suretiyle 60 dakika boyunca su banyosunda tutulmuştur. Su banyosundan çıkarılan örnekler oda sıcaklığında 5-10 dk bekletilmiştir. Daha sonra herbir eppendorf tüp içerisine, ekstraksiyon tampon çözeltisi ile eşit oranda, 6 ml “kloroform:isoamyl alkol” (24:1) ilave edilmiştir. Tüpler her 3 dakikada bir karıştırılarak oda koşullarında 15 dk tutulmuştur.

Bu tüpler daha sonra 5000 d/d'de 15 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Üstteki faz yeni bir 15 milimetrelik eppendorf tübe aktarılmış ve içerisine eşit oranda soğuk (-20°C 'de bekletilmiş) isopropanol ilave edilmiş ve yavaşça tüp çevrilerek DNA'nın çökmesi sağlanmıştır. Daha iyi bir çökeltme sağlamak için örnekler 2 saat -70°C 'de veya 1 gece -20°C 'de bekletilerek ve daha sonra tüpler 1500 d/d'de 10 dk süre ile santrifüj edilerek tüp içerisindeki isopropanol boşaltılmıştır.

Tüplere içerisine 10 mM amonyum asetat bulunan, 3 ml %76'lık etanol yani yıkama tampon çözeltisi ilave edilmiş ve 1-2 saat $+4^\circ\text{C}$ 'de bekletilmiştir. Yıkanan DNA kurutularak saf suda çözündürülmüştür.

3.2.2.3 DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi

İzole edilen DNA'nın konsantrasyonunun belirlenmesi çalışmanın ileriki aşamalarında yürütülecek PCR reaksiyonlarının düzgün meydana gelmesi açısından önemlidir. Bu nedenle her genotipe ait DNA konsantrasyonu jel-elektroforesis yöntemiyle %0.8'lik agaroz jelde konsantrasyonu belli λ (lambda) DNA ile karşılaştırılarak UV altında belirlenmeye çalışılmıştır.

DNA konsantrasyonunun belirlenmesi için her bir genotip örneği toplam hacmi 20 μl olacak şekilde 2 μl stok DNA, 4 μl jel yükleme boyası ve 14 μl saf su konularak hazırlanmıştır. Hazırlanan örneklerden 10 μl 'si, %0.8 konsantrasyondaki agaroz jel üzerinde hazırlanmış yuvalara yerleştirilmiş ve elektroforezde 90 voltta 45 dakika koşturma işlemi yapılmıştır. UV transilluminatör ile jelde görüntü alınmış ve elde edilen DNA yoğunlukları belli λ DNA'lar (25ng-50ng-100ng-200ng) ile

karşılaştırılarak belirlenmiştir. Bu işlem ile her bir genotipten elde edilen stok DNA miktarı tahmini olarak belirlenmiştir.

Stok DNA'nın konsantrasyonu belirlendikten sonra PCR çalışmaları için gerekli DNA konsantrasyonunun 5 ng/µl şeklinde ayarlanmasına çalışılmıştır. Bu işlem için toplam hacmi 20 µl olacak şekilde 10 µl seyreltik DNA, 4 µl jel yükleme boyası ve 6 µl saf su konularak yine %0.8'lik agaroz jeldeki her yuvaya 10 µl gelecek şekilde DNA örneklerinin yüklemesi yapılmıştır. Yüklenmesi tamamlanmış agaroz jel 90 volta 45 dakika elektroforez işlemine tabi tutulmuş böylece her örneğin 5ng/µl olup olmadığı kontrol edilmiştir. Örneklerin 5 ng/µl ayarlaması yapılırken 5ng/µl'den fazla olanlarına ultra saf su, az olanlarına ise orantılı olarak DNA eklenmiştir. Bu aşamadan sonra tüm DNA örnekleri PCR aşaması için hazır hale gelmiştir.

3.2.2.4 ISSR Analizleri

ISSR analizleri **Zietkiewicz ve ark.(1994)**'nın geliştirdiği ve **Katzir ve ark. (1998)**'nin kabak için uygun olduğunu bildirdiği aşağıdaki şekilde uygulanan yöntemle yapılmıştır. Bunun için 25 µl amplifikasyon reaksiyonu 75 mM Tris-HCl, pH=8.8, 20 mM (NH₄)₂SO₄ 2 mM MgCl₂, 0.1% Tween 20, 100 µM dATP, 100 µM dTTP, 100 µM dGTP, 100 µM dCTP, 0.2 µM primer, 1.0 unite Taq DNA polymerase ve 10 ng DNA içermiştir. Sıcaklık ve döngü koşulları olarak, 94⁰C'de 7 dk ön denatürasyon işleminden sonra, 35 döngü boyunca örnekler denatürasyon için 94⁰C'de 1 dk, primerin DNA'ya yapışması için primere göre değişmek üzere 50-54⁰C'de 1 dk ve uzama safhası için 72⁰C'de 2 dk tutulmuştur Ayrıca, örnekler son uzama safhası için 72⁰C'de 7 dk bekletilmişlerdir.

Kabak çeşitlerinin karakterizasyonunda ISSR primeri olarak University of British Columbia tarafından üretilen ISSR primerleri (set #9) kullanılmıştır. Bu primerler **Katzir ve ark. (1998; 2000)** ve **Paris ve ark.(2003)**'nin kabaklar için kullandığı ve polimorfik olarak belirlediği primerlerdir. Bu primerlerin baz dizilimleri farklıdır, dolayısıyla kalıp DNA'ya yapışma sıcaklıkları da farklıdır. Bu sıcaklıklar **Kafkas ve ark. (2006)** tarafından yapılan bir çalışmada belirlenmiştir. Bu primerler sırasıyla UBC 807, UBC 809, UBC 810, UBC 812, UBC 841, UBC

842, UBC 854 ve UBC 855 no'lu primerlerdir. **Çizelge 3.2**'te bu primerlerin baz dizilimleri ve kalıp DNA'ya yapışma sıcaklıkları verilmiştir.

Bu aşamada da elde edilen PCR ürünleri 0.5 x TBE tampon çözeltisinde (89 mM Tris-Cl, 89 mM borik asit, 20 mM EDTA) % 1,8'lik agaroz jelde koşularak etidiyum bromit ile boyanmış ve UV altında fotoğrafları çekilmiştir.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan ISSR primerlerinin baz dizilimleri, baz sayıları ve kabak DNA'sına PCR'da yapışma sıcaklıkları

Sıra No	Kod	Baz dizilimi (5' – 3')	Baz sayısı	DNA'ya yapışma sıcaklıkları(°C)
1	UBC 807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	17	50
2	UBC 809	AGA GAG AGA GAG AGA GG	17	52
3	UBC 810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	17	50
4	UBC 812	GAG AGA GAG AGA GAG AC	17	50
5	UBC 841	GAG AGA GAG AGA GAG AYC	18	54
6	UBC 842	GAG AGA GAG AGA GAG AT	17	54
7	UBC 854	TCT CTC TCT CTC TCT CRG	18	54
8	UBC 855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT	18	52

Bant büyüklüklerinin belirlenmesinde λ DNA'nın *EcoRI* ve *HindIII* kesim enzimleri ile hazırlanmış olan DNA'sı kullanılmıştır. Bu DNA'da bant büyüklükleri sırasıyla 564, 831, 947, 1375, 1584, 1904, 2027, 3520 bp şeklindedir.

3.2.2.5 SRAP Analizleri

SRAP analizleri **Li ve Quiorus (2001)**'un geliştirmiş olduğu, **Ferriol ve ark. (2003)**'nın da kabak için uygun olduğunu belirttikleri yöntemle göre yapılmış, **Ferriol ve ark. (2003)**'nın kabak için polimorfik olduğunu belirttikleri SRAP primerleri kullanılmıştır (**Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4**).

SRAP analizlerinin PCR döngü koşulları ve reaksiyon koşulları; 25 µl amplifikasyon reaksiyonu 75 mM Tris-HCl, pH=8.8, 20 mM (NH₄)₂SO₄ 2 mM MgCl₂, 0.1% Tween 20, 100 µM dATP, 100 µM dTTP, 100 µM dGTP, 100 µM dCTP, 0.2 µM primer, 1.0 unite Taq DNA polymerase ve 20 ng DNA içermiştir. İleri primerlerin DNA'ya yapışma (annealing) sıcaklığı ilk 5 döngüde 35 °C geri kalan 30 döngüde ise 50 °C olmuştur. Toplam 35 döngü boyunca örnekler 94 1 dk °C ve 72

$^{\circ}\text{C}$ 'de 2 dk tutulmuşlardır. Örnekler 35 döngü sonunda 72°C 'de 5 dk bekletilmişlerdir.

Çizelge 3.3. Çalışma kapsamında kullanılmış olan SRAP ileri primerleri

Sıra No	Kod	Baz dizilimi (5' – 3')	Baz sayısı
1	Me1	TGA GTC CAA ACC GGA TA	17
2	Me2	TGA GTC CAA ACC GGA GC	17
3	Me6	TGA GTC CAA ACC GGA CA	17
4	Me8	TGA GTC CAA ACC GGA CT	17

Çizelge 3.4. Çalışma kapsamında kullanılmış olan SRAP geri primerleri:

Sıra No	Kod	Baz dizilimi (5' – 3')	Baz sayısı
1	Em1	GAC TGC GTA CGA ATT AAT	18
2	Em2	GAC TGC GTA CGA ATT TGC	18
3	Em3	GAC TGC GTA CGA ATT GAC	18
4	Em6	GAC TGC GTA CGA ATT GCA	18

Polimorfik olduğu belirlenen (**Ferriol ve ark. (2003)**) ve daha sonra 24 genotipe uygulanan primer kombinasyonları ise sırasıyla şunlardır: Me1/Em2, Me2/Em1, Me2/Em2, Me2/Em6, Me6/Em6, Me8/Em1, Em8/Em3

Elde edilen PCR ürünleri 0.5 x TBE tampon çözeltisinde (89 mM Tris-Cl, 89 mM borik asit, 20 mM EDTA) %2'lik agaroz jelde koşularak etidiyum bromit ile boyanmış ve UV altında fotoğrafları çekilmiştir.

Elde edilen DNA bantlarının büyüklüklerinin belirlenmesinde λ DNA'nın 50 bp'lik Generuler markalı DNA'sı kullanılmıştır. Bu DNA'da bant büyüklükleri sırasıyla 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 bp şeklindedir

3.2.2.6. Primerlerin Polimorfizm Oranlarının Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan ISSR ve SRAP primerlerinin polimorfizm oranları, primerlerden elde edilen polimorfik bant sayılarının, toplam bant sayısına bölünüp 100 ile çarpılması şeklindeki aşağıdaki formül ile bulunmuştur.

$$\text{Polimorfizm Oranı (\%)} = (\text{Polimorfik Bant Sayısı} / \text{Toplam Bant Sayısı}) \times 100$$

3.2.2.7. Primerlerin Polimorfizm Bilgi İçeriğinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBi) **Smith ve ark. (1997)'nın** aşağıda belirtilen formülü yardımıyla belirlenmiştir. Buna göre, öncelikle polimorfik bantlarda toplam var (1) ve yok (0) olan bantların sayıları belirlenmiştir. Daha sonra bu bantların ayrı ayrı frekansları hesaplanmıştır. Formüle göre P_i , i bandının frekansıdır.

$$\text{PBi} = 1 - \sum P_i^2$$

3.2.2.8 Primerlerin Ayırma Güçlerinin Belirlenmesi

Çalışmada primerlerin ayırma güçleri **Prevost ve Wilkinson (1999)** tarafından geliştirilen aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır. Formüldeki p, I bandının 24 genotipteki oranıdır.

$$\begin{aligned} \text{Ayırma gücü} &= \sum I_b && \text{burada} \\ I_b &= 1 - (2 \times |0.5 - p|) \end{aligned}$$

3.2.2.9 Soyağacı Analizleri

SRAP ve ISSR amplifikasyon ürünleri var (1) ya da yok (0) şeklinde değerlendirilmiş ve elde edilen veriler NTSYSpc 2.1 (**Rohlf, 2004**) bilgisayar paket programında analiz edilmiştir. Her bir markır tekniğinden elde edilen veriler ayrı ayrı değerlendirildiği gibi birlikte de değerlendirilmiştir. Genetik benzerlik indeksi Jaccard'a göre hesaplanmıştır. Soyağacının elde edilmesinde UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average) yöntemi kullanılmıştır.

Her iki yöntemden elde edilen benzerlik indeksleri arasındaki korelasyon Mantel kofenetik korelasyon testi (**Mantel, 1967**) yapılarak hesaplanmıştır.

SRAP ve ISSR moleküler markır tekniklerinin analizlerinde kullanılan bilgisayar paket programları morfolojik analizlerde de kullanılmış olup, aynı şekilde genetik uzaklık katsayılarının elde edilmesinde NeiLi Katsayısı kullanılmış ve UPGMA analizi ile dendogram elde edilmiştir.

4.ARAŞTIRMA BULGULARI**4.1. Morfolojik Gözlemler**

Materyal ve Metot kısmında belirtilen gözlem ve ölçümlerden elde edilen bulgular fide, bitki, yaprak, çiçek, meyve ve tohum alt başlıkları halinde aşağıda sunulmuştur.

4.1.1. Fidelerde Yapılan Gözlem ve Ölçümlere Ait Veriler

24 farklı kabak genotipinde bitkiler fide aşamasındayken yapılan gözlemler sonucunda alınan veriler **Çizelge 4.1'** de gösterilmiştir. Gözlemlerde 20 genotipin kotiledon şeklinin oval, geri kalan 4 genotipinkinin ise geniş oval olduğu görülmüştür. Kotiledon rengi bakımından 2 genotipte açık yeşil, 15 genotipte yeşil ve 7 genotipte ise koyu yeşil renk gözlemlenmiştir. Genotipler kotiledon büyüklüğü açısından değerlendirildiğinde 10 genotipin küçük, 9 genotipin orta ve 5 genotipin büyük kotiledonlara sahip olduğu görülmüş, çok kısa veya çok büyük kotiledonlu genotipe rastlanmamıştır. Yine hipokotil uzunluğu kıyaslandığında 1 genotipin çok kısa, 2 genotipin kısa, 7 genotipin orta, 12 genotip uzun ve 2 genotipin çok uzun hipokotillere sahip oldukları not edilmiştir.

Çizelge 4.1. Fidelikteki genç bitkilerde yapılan gözlemlerin sonuçları

Genotipler	K Ş	KR	KB	HU
5	1	2	3	4
6	1	2	3	4
8	1	1	3	4
9	1	2	3	5
10	1	2	3	4
11	1	1	3	4
12	1	2	3	4
13	1	2	2	2
14	1	2	3	3
15	1	2	3	4
16	1	2	4	5
18	1	2	2	4
19	1	2	2	4
20	1	2	2	4
21	1	3	2	3
22	1	2	2	4
24	1	3	2	1
25	2	3	2	3
27	1	3	2	3
28	1	3	2	3
29	1	2	4	4
30	2	2	4	3
32	2	3	4	2
36	2	3	4	3

Kotiledon Şekli (KŞ): oval (1), geniş oval veya ters yumurtamsı (2).

Kotiledon rengi (KR): açıkyeşil(1), yeşil(2), koyu yeşil(3)

Kotiledon büyüklüğü (KB): çok küçük(1), küçük(2), orta(3), büyük(4), çok büyük(5)

Hipokotil uzunluğu (HP): çok kısa(1), kısa(2), orta(3), uzun(4), çok uzun(5).

4.1.2 Arazide Bitkilerde Yapılan Gözlemlere Ait Bulgular

Bitkilerde arazideki yerlerine dikimden sonra yapılan ölçüm ve gözlemler **Çizelge 4.2'**de toplu şekilde verilmiştir. Bu gözlemlere göre genotiplerin 12 tanesinin çalı, 4 tanesinin yarı sürünücü ve 8 tanesinin sürünücü yapıda olduğu tespit edilmiştir. Kol atma durumu açısından 8 tanesi kol atmamış, 16 tanesinde ise kol atma görülmüştür. Kol atan genotiplerin 9 tanesinin az, 11 tanesinin orta ve 4 tanesinin çok kuvvetli kol attığı saptanmıştır. Genotiplerden 1 tanesinin yatık, 4 tanesinin dik, 19 tanesinin yarı dik yaprak sapı duruşu gösterdiği

belirlenmiştir. Gövde renkleri 11 genotipte yalnız açık yeşil, 4 tanesinde yalnız koyu yeşil ve 9 tanesinde açık ve koyu yeşil olarak işaretlenmiştir. Gövde boğum sayısı 7 tanesinde yok, 16 tanesinde az gelişmiş ve 1 tanesinde iyi gelişmiş olarak değerlendirilmiştir. Gövde sülüklerinin 3 tanesinde iyi gelişmiş, 21 tanesinde az gelişmiş olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.2. Arazide bitkilerde yapılan gözlemlere ait bulgular

Genotipler	BBE	BKAD	BKADE	BYSD	GYR	GBS	GS
5	1	0	1	2	1	0	1
6	1	0	2	2	1	0	0
8	2	1	2	2	3	0	0
9	2	1	2	1	1	0	0
10	1	0	1	2	1	0	0
11	3	1	2	2	1	0	1
12	3	1	2	2	3	1	0
13	3	1	2	2	3	0	0
14	3	1	3	2	3	0	0
15	3	1	3	2	3	0	1
16	1	0	1	2	3	0	0
18	1	0	1	2	2	1	0
19	2	1	2	3	3	0	0
20	1	1	1	2	1	0	0
21	2	1	1	2	3	0	0
22	3	1	3	2	3	0	0
24	1	0	1	2	1	0	0
25	3	1	2	2	1	0	0
27	3	0	1	1	2	0	0
28	3	0	1	1	2	0	0
29	3	1	3	2	2	0	0
30	3	1	2	2	1	0	0
32	3	1	2	1	1	0	0
36	3	1	2	2	1	0	0

Bitkinin Büyüme Eğilimi (BBE) : çalı (1), Yarı sürünücü (2), sürünücü (3)

Bitkinin Kol Atma Durumu (BKAD) : Var (1), Yok (0)

Bitki de Kol Atma Derecesi (BKADE) : Az (1), Orta (2), Kuvvetli (3)

Bitkide Yaprak Sapının Duruşu (BYSD): Dik (1), Yarı dik (2), Yatık (3)

Gövde Yeşil Rengi (GYR): yalnız açık(1), yalnız koyu (2), açık ve koyu (3)

Gövdede Boğum Sayısı (GBS): yok veya az gelişmiş(0), iyi gelişmiş (1)

Gövde de Sülükler (GD) : yok veya az gelişmiş (0), iyi gelişmiş (1)

4.1.3. Yapraklarda Yapılan Gözlemlere ve Ölçümlere Ait Bulgular

Yapılan gözlem ve ölçümlere ait bulgular **Çizelge 4.3**'de verilmiştir. Yapılan gözlemler sonucunda farklı genotipler arasında, yaprak ayasındaki dilimlilik 5 genotipte çok hafif, 12'sinde hafif, 5'inde orta, 1 tanesinde kuvvetli dilimlilik olduğu belirlenmiştir. Yaprak ayası üst yeşil rengi bütün genotiplerde orta yeşil renk olarak kaydedilmiştir. Yaprak ayası üzeri kabarıklığa sadece 1 genotipte rastlanmıştır. Yapraklarda beneklilikte ise 1 genotipte az, 2 genotipte çok diğer genotiplerde ise yapraklarda benekliliğe rastlanmamıştır. Yaprak sapının yeşil rengi 3 genotipte orta koyulukta geri kalan 21 genotipte ise genotiplerde açık koyulukta görülmüştür ve ayrıca tüm genotipler yuvarlak kesitli olarak belirlenmiştir. Yaprak sapının kalınlığına bakıldığında 3 genotipte kalın yaprak sapına, 5 genotipte ince ve 16 genotipte orta kalınlıkta yaprak sapına rastlanmıştır. Yaprak sapındaki dikenlilik 6 genotipte az, 11 genotipte orta düzeyde ve 7 genotipte çok dikenlilik şeklinde görülmüştür. Yaprakta yapılan ölçümler, gelişimi normal olarak tamamlamış ve büyümesi durmuş olan yapraklarda yapılmıştır. Aya ölçümünde en uzun mesafeler arasından ölçüm yapılmıştır.

Çizelge 4.3. Yaprakta yapılan gözlem ve ölçümlere ait veriler

Genotipler	Y A D	Y AÜYYR	YAK	Y AB	Y S YR	Y SU	Y S K	Y SE K Ş	Y S D S
5	2	2	0	0	1	2	3	1	2
6	2	2	0	0	1	2	2	1	2
8	2	2	0	0	2	2	2	1	2
9	2	2	0	0	1	2	3	1	2
10	2	2	0	0	1	2	2	1	2
11	2	2	0	0	1	2	1	1	2
12	3	2	0	0	1	2	2	1	3
13	2	2	0	0	1	1	1	1	1
14	2	2	0	0	1	2	1	1	2
15	3	2	0	0	1	2	1	1	3
16	3	2	0	0	1	3	2	1	3
18	2	2	0	0	1	2	2	1	2
19	2	2	0	1	1	3	2	1	1
20	3	2	0	0	1	2	2	1	3
21	2	3	0	0	2	1	1	1	2
22	4	2	0	0	1	2	2	1	1
24	3	2	0	0	1	2	3	1	2
25	0	2	0	0	1	2	2	1	3
27	1	2	0	3	1	2	2	1	1
28	1	2	0	3	2	1	2	1	1
29	2	3	0	0	1	2	2	1	2
30	1	1	1	0	1	3	2	1	1
32	1	2	0	0	1	3	2	1	3
36	1	2	0	0	1	2	2	1	3

Yaprak Ayasında Dilimlilik (Y A D) yok (0), çok hafif (1), hafif(2), orta(3), kuvvetli(4), çok kuvvetli(5)

Yaprak Ayası Üst Yüzey Yeşil Rengi(YAÜYYR): açık (1), orta (2), koyu(3)

Yaprak Ayasında Kabarıklık (YAK): var(1), yok(0)

Yaprak Ayasında Beneklilik (YAB) : var {az(1),orta (2), çok (3)},yok (0)

Yaprak Sapının Yeşil Rengi (YSYR)i:açık (1), orta (2), koyu (3)

Yaprak Sapının Uzunluğu (cm) (YSU): kısa (1),orta (2),uzun (3)

Yaprak Sapının Kalınlığı (mm) (YSK): ince (1),orta (2), kalın(3)

Yaprak Sapının Enine Kesit Şekli (YSEKŞ) : yuvarlak (1), üçgen (2), diğer (3)

Yaprak Sapında Dikenlerin Sayısı (YSDS): az (1), orta (2), çok (3)

4.1.4 Çiçeklerde Yapılan Gözlemlere ve Ölçümlere Ait Bulgular

Genotiplere ait çiçeklerde yapılan gözlem ve ölçümlere ait bulgular **Çizelge 4.4** 'de ve **Çizelge 4.5**'de verilmiştir. Gözlem ve ölçümler çiçek açmadan 1 gün önce, taç yaprak uçlarının sarı renk almaya başladığı zaman yapılmıştır. Dişi çiçeklerde pistil rengi bütün genotiplerde sarı olarak gözlemlenmiştir.

Erkek çiçek taç yaprak iç halka rengi 5 genotipte yok, 7 genotipte hafif renk yoğunluğu, 6 genotipte orta renk yoğunluğu, 3 genotipte kuvvetli, 1 genotipte çok kuvvetli renk yoğunluğu olarak gözlemlenmiştir. Erkek çiçeklerde çiçek sapının çapına bakıldığında 2 genotip kalın, diğer tüm genotipler orta kalınlıkta bulunmuştur. Erkek çiçek sap rengi 2 genotipte yeşil, diğer bütün genotipler açık yeşil renge sahiptir. Erkek çiçeklerde çiçek saplarındaki olukluluk incelendiğinde 17 genotipte hafif, 6 genotipte orta, 1 genotipte de kuvvetli olukluluk görülmüştür. Erkek çiçekte çiçek sapındaki tüylülük 17 genotipte hafif derecede, 7 genotipte orta derecede görülmüştür.

Çizelge 4.4. Dişi çiçeklerde yapılan gözlemlere ait bulgular

Genotipler	DÇTYİH	DÇTYİHR	DÇTYİHYRY	DÇÇYU	DÇPR
5	0	0	0	2	1
6	0	0	0	2	1
8	0	0	0	2	1
9	0	0	0	2	1
10	0	0	0	2	1
11	0	0	0	2	1
12	0	0	0	2	1
13	0	0	0	2	1
14	0	0	0	2	1
15	0	0	0	1	1
16	0	0	0	1	1
18	0	0	0	2	1
19	0	0	0	2	1
20	0	0	0	1	1
21	0	0	0	1	1
22	0	0	0	2	1
24	0	0	0	1	1
25	0	0	0	2	1
27	0	0	0	3	1
28	0	0	0	2	1
29	0	0	0	2	1
30	0	0	0	2	1
32	0	0	0	2	1
36	0	0	0	2	1

Dişi çiçekte taç yaprak içindeki halkalar (DÇTYİH): yok (0) var (1)

Dişi Çiçekte Taç Yaprakların İçindeki Halkaların Rengi (DÇTYİHR): yok (0), yeşil (1), sarı (2), yeşil ve sarı (3)

Dişi çiçekte taç yaprak içindeki halkaların yeşil renk yoğunluğu (DÇTYİHYRY): yok(0), hafif (1), orta(2), kuvvetli (3)

Dişi Çiçekte Çanak Yaprakların Uzunluğu(mm) (DÇÇYU): kısa(1),orta (2),uzun (3)

Dişi Çiçekte Pistil Rengi (DÇPR) : sarı(1), portakal(2)

Çizelge 4.5. Erkek çiçeklerde yapılan gözlemlere ait bulgular

Genotipler	EÇTYHR	EÇÇSU	EÇÇSÇ	EÇÇSR	EÇÇSO	EÇÇST	EÇÇYU
5	4	2	3	1	1	1	3
6	1	2	2	1	1	1	2
8	2	2	2	1	1	1	2
9	5	2	2	1	1	1	2
10	4	2	2	1	1	1	2
11	3	2	2	1	2	1	1
12	2	1	2	2	2	1	2
13	2	1	2	1	2	1	1
14	3	2	2	1	2	1	2
15	3	2	2	1	1	2	2
16	2	2	2	1	2	2	2
18	4	2	2	1	2	1	2
19	2	2	2	1	3	1	2
20	3	2	2	1	1	2	2
21	1	3	2	2	1	2	2
22	3	2	2	1	1	2	2
24	1	2	3	1	1	1	2
25	1	1	2	1	1	1	1
27	1	2	2	1	1	1	2
28	1	2	2	1	1	1	2
29	2	2	2	1	1	2	2
30	1	2	2	1	1	2	2
32	1	2	2	1	1	1	2
36	1	2	2	1	1	1	2

Erkek Çiçek Taç Yaprak İç Halka Rengi (EÇTYİHR): yok (1), hafif (2), orta (3), kuvvetli (4), çok kuvvetli (5)

Erkek Çiçekte Çiçek Sapının Uzunluğu(EÇÇSU): kısa (1), orta (2),uzun (3)

Erkek Çiçekte Çiçek Sapının Çapı (EÇÇSÇ): küçük (1), orta (2),büyük (3)

Erkek Çiçekte Çiçek Sapının Rengi (EÇÇSR): Açık yeşil(1), yeşil(2), koyu yeşil(3),

Erkek Çiçekte Çiçek Sapındaki Olukluk (EÇÇSO):hafif(1), orta(2), kuvvetli(3)

Erkek Çiçekte Çiçek Sapındaki Tüylülük (EÇÇST):hafif(1), orta(2), kuvvetli(3)

Erkek Çiçekte Çanak Yaprak Uzunluğu (EÇÇYU): kısa (1), orta (2), uzun (3)

4.1.5 Meyvelerde Yapılan Gözlem Ve Ölçümlere Ait Bulgular

24 genotipe ait meyvelerin şekilleri incelendiğinde 18 genotipin küre, 2 tanesinin topaç, 2 tanesinin silindirik ve 2 genotipinde armudi şekilli olduğu görülmüştür. 6 genotipin meyve rengi sarı, 8'i portakal, 4'ü yeşil ve biri beyazımsıdır. Meyvelerin ana renklerinin yoğunluğuna bakıldığında, 8 genotipte açık, 10 genotipte orta ve 6 genotipte koyu yoğunluk gözlemlenmiştir. Meyve rengi sayısı 14 genotip için bir, 9 genotip için iki ve 1 genotip için üç olarak belirlenmiştir. 15 genotipin ikincil veya üçüncül rengi vardır. Meyve çapı ölçümlerinde 2 genotip küçük, 13 genotip orta ve 9 genotip büyük çaplı olarak ölçülmüştür. Arazi şartlarında bazı genotiplere ait bitkilere virüs bulaşımı söz konusu olduğundan bazı meyvelerin büyüklüğünün normalden fazla veya az olma durumunda göz önünde bulundurulmalıdır. Meyve uzunluğuna bakıldığında 4 genotip kısa, 15 genotip orta ve 5 genotip uzun olarak ölçülmüştür. Meyve indeksi hesaplanmış ve 4 genotipin indeksi çok düşük, 16 genotipin düşük, 2 genotipinki orta ve yine 2 genotipinki yüksek olarak hesaplanmıştır. 14 genotipte ait meyvede meyve yivliğine rastlanmıştır. Yivler 30 ve 36 kodlu genotiplerde beyaz renkte, 29 kodlu genotipte sarı renkte dir. Bu veriler **Çizelge 4.6** ve **4.7** verilmiştir.

Çizelge 4.6 Meyvelerde yapılan gözlem ve ölçümlere ait bulgular

Genotipler	MŞ	MAR	MARY	MRS	MİVÜRVB	MÇ
5	3	3	2	1	0	2
6	3	3	2	1	0	2
8	3	3	2	1	0	2
9	3	3	2	1	0	2
10	3	3	2	1	1	2
11	3	3	1	1	1	2
12	3	4	3	2	0	2
13	3	4	3	1	0	1
14	3	4	3	2	1	2
15	3	4	2	2	1	2
16	3	2	1	1	0	2
18	3	4	3	1	1	2
19	3	3	3	1	1	1
20	7	2	2	1	0	2
21	4	4	1	2	1	3
22	3	4	2	1	1	2
24	7	1	1	1	1	3
25	3	5	2	3	1	3
27	9	4	1	1	1	3
28	9	4	1	2	1	3
29	3	5	3	2	0	3
30	3	5	2	2	1	3
32	3	5	1	2	1	3
36	4	5	1	2	1	3

Meyve şekli (MŞ): Tarak kabuğu şeklinde (1), ovalimsi (2),küre (3),
 Topaç (4),beyz i(5),oval (6),silindirik (7),Golf sopası şekli (8),armudi (9),kanca şekli (10)
 Meyve ana rengi (MAR):beyazımsı (1),krem (2),sarı (3),portakal (4),yeşil (5)
 Meyve ana renginin yoğunluğu (MARY): açık (1), orta (2), koyu (3)
 Meyve rengi sayısı (MRS): bir (1),iki (2),üç (3)
 Meyve ikincil ve üçüncül renkleri varsa belirlenecek (MİVÜRVB): yok (0), var (1)
 Meyve çapı (MÇ): küçük (1), orta (2),büyük (3)

Çizelge 4.7 Meyvelerde yapılan gözlem ve ölçümlere ait veriler

Genotipler	MU	Mİ	MY	YÜÇR	MER
5	2	2	0	-	2
6	2	2	0	-	1
8	2	2	0	-	1
9	2	2	1	-	1
10	2	2	1	-	1
11	2	2	1	-	1
12	2	2	0	-	1
13	1	2	0	-	2
14	2	2	0	-	1
15	2	2	1	-	1
16	3	2	0	-	1
18	2	2	0	-	1
19	2	2	0	-	2
20	3	4	0	-	1
21	2	2	1	-	2
22	2	2	1	-	1
24	3	4	1	-	1
25	1	1	1	-	2
27	3	3	1	-	3
28	3	3	1	-	3
29	1	1	1	3	3
30	1	1	1	1	3
32	2	1	1	-	3
36	2	2	1	1	3

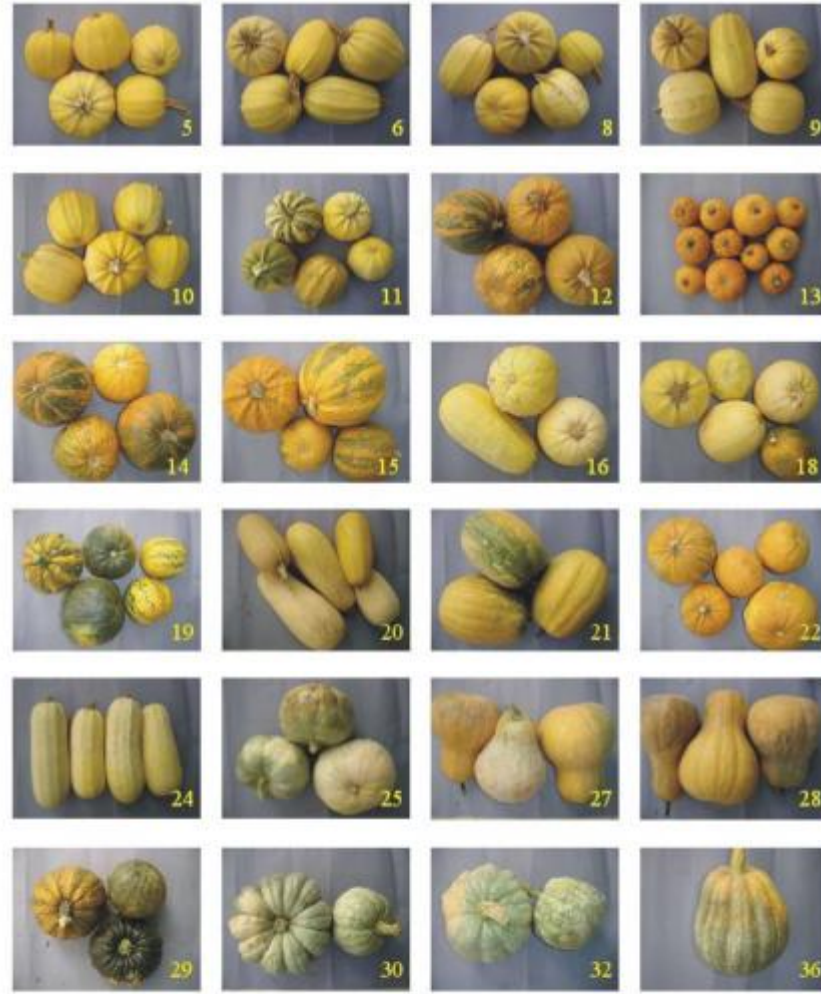
Meyve uzunluğu (MU): kısa (1), orta (2), uzun (3)

Meyve indeksi(uzunluk/çap) (Mİ): çok düşük (1),düşük (2),orta (3), yüksek (4), çok yüksek (5)

Meyve yivliği(MY) : yok (0), var(1)

Yivler üzerindeki çizgilerin rengi (YÜÇR): beyazımsı (1), sarı (2), portakal (3), yeşil(4)

Meyve eti rengi (MER): beyazımsı (1), sarı (2), portakal (3),yeşilimsi (4)



Şekil 4.1. Meyvelere ait resimler

4.1.6 Tohumlarda Yapılan Gözlem ve Ölçümler

Genotiplere ait tohumlarda yapılan gözlemlerde tohumlarda irilik bakımından 13 genotip ufak, 8 genotip orta ve 3 genotip iri bulunmuştur. Tohum şekli gözlemlendiğinde 8 genotip dar oval, 14 genotip oval ve 2 genotip geniş oval olarak değerlendirilmiştir. 8 genotipte tohum kesiti şekli dar eliptik olarak gözlemlenirken, kalan 16 genotip eliptik olarak belirlenmiştir. Tohum hilum sonu genotiplerin 5 tanesinde sivri, 19 'unda küttür. Tohum rengi için yapılan gözlemler sonucunda 11 genotip beyazımsı, 1 genotip sarımsı, 8 genotip yeşilimsi

4 genotip koyu yeşilimsi renkli olarak belirlenmiştir. Tohum kabuk zarı kalınlığı 3 genotipte çok ince, 6 genotipte orta 1 genotipte kalın, 1 genotipte çok kalın olarak gözlenmiş geri kalan 12 genotipte ise kabuk zarı gözlenmemiştir. Tohumda son olarak kabuk zarı çıkma durumuna bakılmış 4 genotipte kolay, 6 genotipte orta, 1 genotipte zor ve geri kalan diğer genotiplerde zarın çıkma durumu mümkün değil olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.8 Tohumlarda yapılan gözlem ve ölçümlere ait veriler

Genotipler	Tİ	TŞ	TKŞ	THSFG	TR	TKZK	TKZÇD
5	1	1	2	2	3	3	2
6	1	2	2	2	3	3	2
8	1	1	1	2	3	3	2
9	1	2	1	2	3	3	2
10	1	2	1	2	3	3	2
11	1	1	1	2	1	4	3
12	3	2	1	1	4	1	1
13	1	1	1	2	3	3	2
14	3	1	1	2	4	1	1
15	3	2	1	1	4	1	1
16	3	2	2	2	1	0	0
18	3	1	2	2	1	0	0
19	3	2	2	2	3	0	0
20	3	1	2	2	1	0	0
21	1	2	2	2	1	2	1
22	3	2	2	1	4	0	0
24	1	2	2	2	1	0	0
25	5	2	2	1	3	0	0
27	1	2	2	2	1	0	0
28	1	2	2	2	1	0	0
29	3	1	2	2	1	0	0
30	3	2	2	1	1	0	0
32	5	3	2	2	2	0	0
36	5	3	2	2	1	0	0

Tohum iriliği (Tİ):ufak (1), orta (3), iri (5)

Tohum şekli (TŞ):dar oval (1),oval (2), geniş oval(3)

Tohum kesiti şekli(TKŞ):dar eliptik (1),eliptik (2)

Tohum hilum sonu (THS):sivri (1),küt (2)

Tohum rengi (TR):beyazımsı (1),sarımsı (2),yeşilimsi (3),koyu yeşilimsi (4)

Tohum kabuk zarı kalınlığı(TKZK):çok ince (1),ince (2),orta (3),kalın (4), çok kalın (5)

Tohum kabuk zarı çıkma durumu (TKZÇD):kolay (1),orta (2),zor (3)



Şekil 4.2. Meyve tohumlarına ait resimler

4.1.7 Morfolojik Verilere Ait Dendogramın Değerlendirilmesi

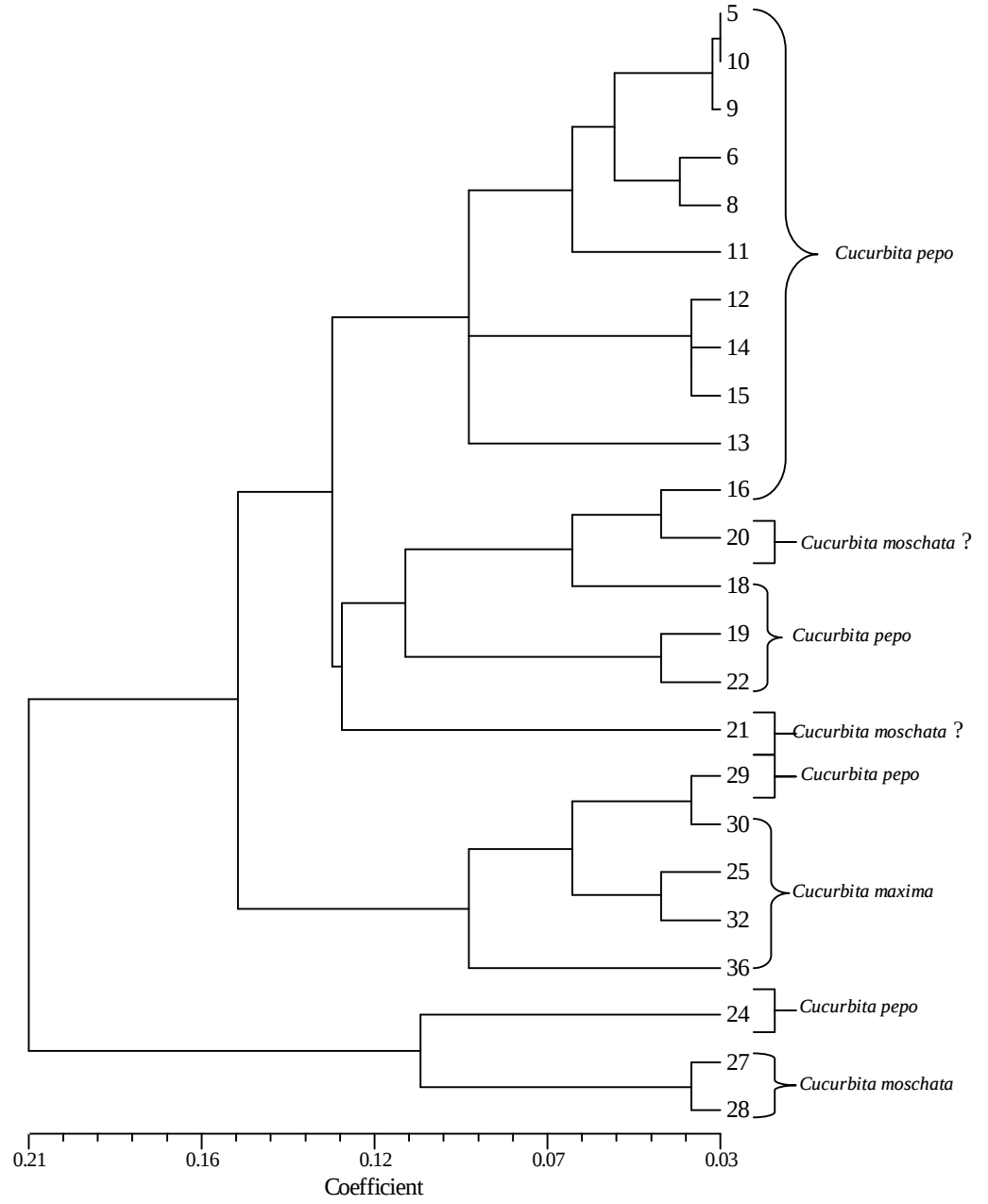
24 genotipe ait morfolojik veriler kullanılarak ve NeiLi benzerlik katsayısı kullanılarak UPGMA analizi ile oluşturulmuş dendogram incelendiğinde genotiplerin büyük bir ana grup ve bir de küçük grup olmak üzere iki gruba ayrıldığı görülmüştür (Şekil 4.3).

Büyük ana grubun kendi içinde yine iki gruba ayrıldığı görülmüştür. Bu gruplardan ilki yine biri büyük diğeri küçük olmak üzere iki dala ayrılmıştır. Büyük

dal iki kola ayrılmıştır. Bu kollardan birincisi sadece kabuksuz çekirdekli kabak genotiplerini bulundurmakta ve üç kola ayrılmaktadır. İlk kolda 5 ve 10 no'lu genotipler en yakın ilişkili genotipler olarak görülmüş ve 8 no'lu genotip bunlardan farklılaşarak ayrı bir dal oluşturmuştur. İkincisinde 12 ve 14 no'lu yabancı orjinli kabuksuz çekirdekli genotipler ile yabancı orjinli olduğu düşünülen 15 no'lu genotip yakın ilişkili görülmüştür. Üçüncüsünde ise yabancı orjinli 13 no'lu genotip farklılaşarak diğerlerinden ayrı bir dal oluşturmuştur. Kollardan ikincisinde 16 ve 20 no'lu genotipler yakın ilişkili olup, 18 no'lu genotip bunlardan farklılaşarak ayrılmıştır. Yine 19 ve 22 no 'lu genotipler yakın ilişki oluşturmuş, 21 no'lu genotip bu ikinci koldaki genotiplerin hepsinden ayrılarak ayrı bir dal oluşturmuştur.

Büyük ana grubun ikinci ve küçük olan gurubunda ise 29 ve 30 no'lu genotipler ile 25 ve 32 no'lu genotipler kendi aralarında yakın ilişkili olup, 36 no'lu genotipler bunlardan ayrılarak farklı bir dal oluşturmuştur.

Dendogramda büyük ana gruptan ayrılan küçük grupta ise, 27 ve 28 no'lu genotipler en yakın ilişkili genotipler olup, 24 no'lu genotip bundan farklılaşarak ayrı bir dal oluşturmuştur.

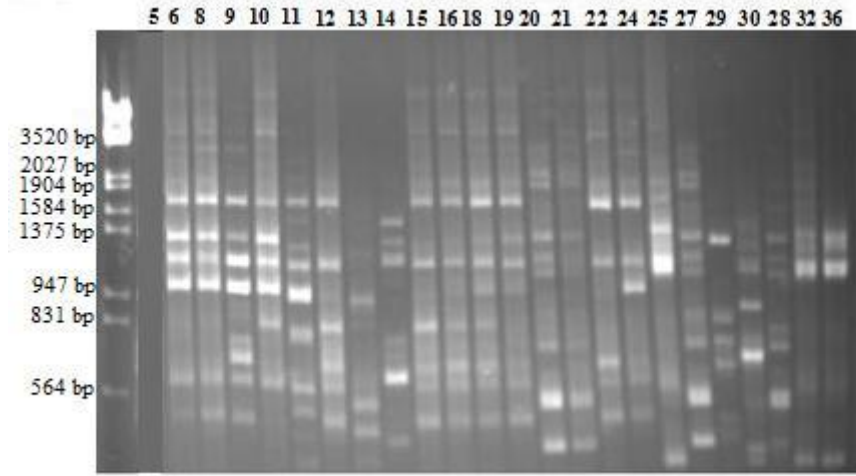


Şekil 4.3. 24 genotipe ait morfolojik veriler kullanılarak UPGMA bilgisayar analizi ile oluşturmuş dendrogram.

4.2 Moleküler Çalışmalar

4.2.1 ISSR Analizleri

ISSR tekniğinde liteartür taraması (**Katzir ve ark., 1998;2000; Paris ve ark., 2003**) sonucunda belirlenmiş sekiz adet polimorfik primer 24 genotipe uygulanmıştır. UBC 809 no'lu ISSR primerinin 24 genotipe uygulanması sonucu elde edilen PCR amplifikasyon ürünlerinin görüntüsü **Şekil 4.4**'de verilmiştir.



Şekil 4.4. UBC 809 ISSR primerinin 24 genotipe uygulanması sonucu elde edilen PCR amplifikasyon ürünlerinin görüntüsü

Elde edilen amplifikasyon ürünlerinden çok güçlü ve belirgin olanlar dikkate alınarak bantlar var (1) veya yok (0) şeklinde değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), bu primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) ve ayırma gücü (AG) değerleri toplu şekilde **Çizelge 4.9**'da verilmiştir.

Çalışmada kullanılan 8 ISSR primeri değerlendirildiğinde; toplam 60 adet bant elde edilmiş, bunların 60 adedi de polimorfik bulunmuştur. Primer başına düşen toplam ve polimorfik bant sayısı 4–15 (ortalama 7.5) arasında değişim göstermiştir. Toplam ve

polimorfik bant sayısı açısından UBC 810 ve 854 no'lu primerler en düşük (4 adet) bant sayısını üretmiş olup, UBC 809 no'lu primerden ise en fazla (15 adet) bant elde edilmiştir

Çalışmada kullanılan 8 adet ISSR Primerlerin polimorfizm oranı %100 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.9. ISSR primerlerinin amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve primerin ayırma gücü (AG) değerleri

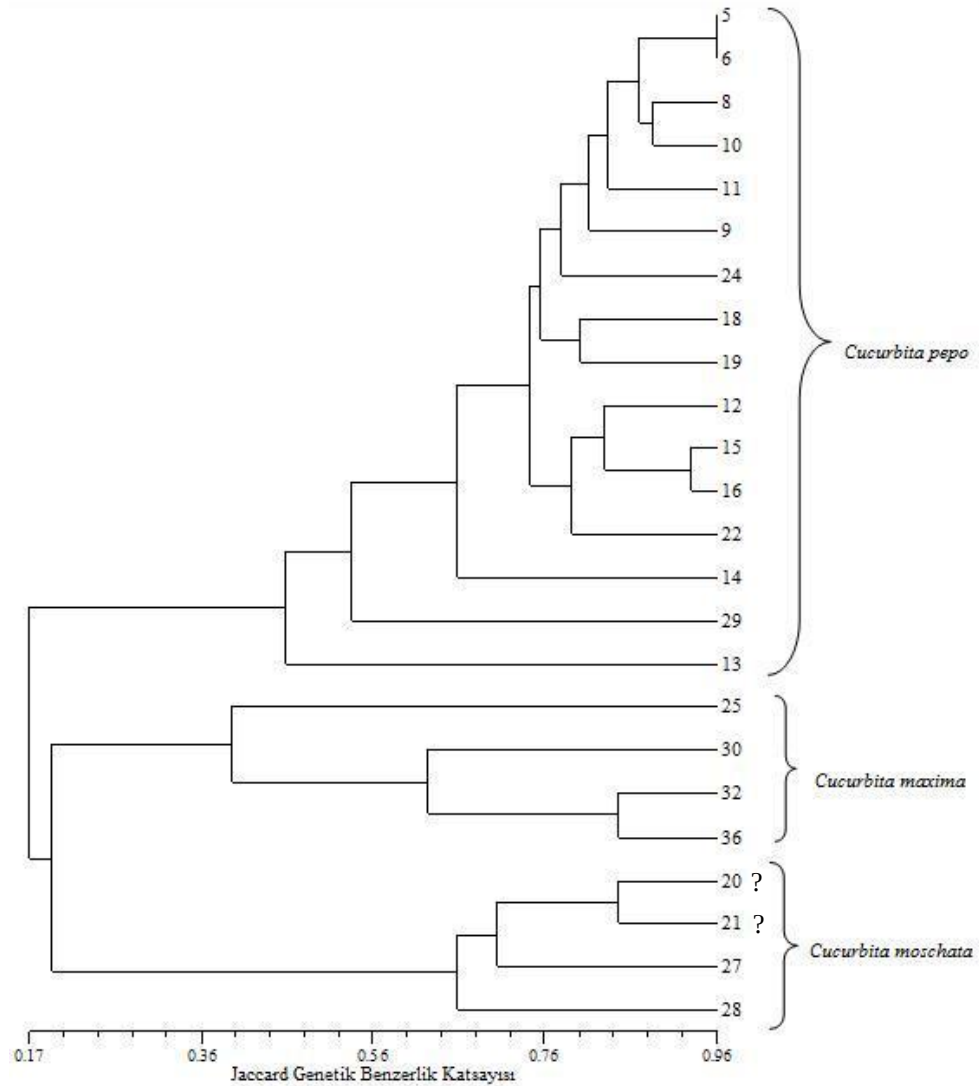
	TBS	PBS	PO	PBI	AG
UBC 807	6	6	100	0.83	0.72
UBC 809	15	15	100	0.60	0.60
UBC 810	4	4	100	0.74	0.90
UBC 812	5	5	100	0.90	0.48
UBC 841	10	10	100	0.68	1.00
UBC 842	7	7	100	0.69	0.95
UBC 854	4	4	100	0.62	1.13
UBC 855	9	9	100	0.73	0.88
TOPLAM	60	60	-	-	6.66
ORTALAMA	7.5	7.5	100	0.73	-

ISSR primerlerinin polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve ayırma güçleri de (AG) bu çalışmada değerlendirilmiştir. Ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 0.73 olarak bulunmuştur. En düşük (0.60) polimorfizm bilgi içeriği değeri UBC 809 nolu primerden, en yüksek (0.90) polimorfizm bilgi içeriği değeri ise UBC 812 nolu primerden elde edilmiştir.

Primerlerin ayırma gücü (AG) değerleri incelendiğinde ise; toplam ayırma gücü değeri 6.66 olarak belirlenmiş olup; en düşük (0.48) ayırma gücü değeri UBC 812 nolu primerden elde edilirken, en yüksek (1.13) ayırma gücü değeri ise UBC 854 nolu primerden elde edilmiştir.

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, kabak genotipleri arasındaki genetik benzerlik indekslerinin de 0.07 ile 0.96 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Araştırmada yer alan tüm kabak genotipleri arasındaki Jaccard genetik benzerlik katsayıları **Ek 1**'de verilmiştir.

Yirmidört adet kabak genotipi genetik benzerlik açısından incelendiğinde, birbirine en yakın genotiplerin sırasıyla; 5 ile 6 (0.96), 15 ile 16 (0.93), 5 ile 11 (0.92), 8 ile 9 (0.90) oldukları anlaşılmıştır. Genetik olarak en uzak genotiplerin ise sırasıyla; 13 ile 25 (0.07), 15 ile 20 (0.08), 12 ile 20 (0.10), 24 ile 25 (0.11), 10 ile 25 (0.12), 25 ile 15 (0.13), 11 ile 27 (0.14), 27 ile 29 (0.15), 10 ile 30 (0.16) olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.5. 24 kabak genotipine ISSR tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen soyağacı

ISSR analizleri sonucunda 24 kabak genotipinin tamamının birbirinden ayrıldığı ortaya çıkmıştır. Analiz sonucunda elde edilen soyağacında (**Şekil 4.5**) 2 ana grup oluşmuştur. Birinci grupta 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 22, 24, 29 no'lu genotipler yer alırken, ikinci grup tekrar iki gruba ayrılmak üzere dallanma göstermiştir. İkinci grubun ilk dalında 25, 30, 32, 36 no'lu genotipler yer alırken, ikinci dalda 20, 21, 27, 28 no'lu genotipler yer almıştır.

Dendograma ait birinci grup incelendiğinde genelde *Cucurbita pepo* türüne ait genotiplerin bu grupta bir araya geldiği gözlenmiştir. Seleksiyon sonucu elde edilen 5, 6, 8, 9, 10 kabuksuz çekirdekli seleksiyon hatları ve 11 no'lu kabuklu x kabuksuz melezin birbirlerine en yakın genotipler oldukları ve bunlar içinde 5 ve 6 no'lu genotiplerin birinci grup içinde en yakın ilişkili genotipler (0.96) oldukları belirlenmiştir. Yine yurt dışından gelen 12, 13, 14 no'lu *Cucurbita pepo* 'ya ait kabuksuz çekirdek kabaklarına ait genotipler de dendogramda birinci grupta yer almıştır. Ancak bu yabancı genotipler içinde 13 no'lu genotip birinci gruptaki genotiplere en uzak dallanmayı göstermiştir. Kabuksuz çekirdek kabağı olup, yabancı orjinli olduğu düşünülen 15 no'lu genotip ve Nevşehir orjinli kabuklu *Cucurbita pepo* genotipleri birbirleriyle yakın ilişkili (0.93) bulunmuştur. Birinci grup içinde 18 ve 19 no'lu genotipler diğer genotiplerden farklılaşarak bu grup içinde ayrı bir dal oluşturmuş ve birbirleriyle kendi aralarında yakın ilişkili görülmüşlerdir. Birinci grup içinde genelde *Cucurbita pepo*'ya ait genotipler toplanmış iken, ilginç bir durum olarak Balkabağı ismi ile bize ulaşan 29 no'lu genotip de bu grup içinde yer almıştır. Fakat morfolojik gözlem sonuçları da göz önüne alındığında 29 no'lu genotipin bize gönderilen isminde bir yanlışlık olduğu ve bunun bir *Cucurbita pepo* olabileceği anlaşılmıştır.

Dendograma ait ikinci grup incelendiğinde grubun birinci dalında bulunan genotiplerin hepsinin *Cucurbita maxima* türüne ait genotipler olduğu görülmüştür. Bunlar 25, 30, 32, 36 no'lu genotiplerdir. Bu genotiplerden 32 ve 36 no'lu olanlar birbirleriyle en yakın ilişkili (0.85) genotiplerdir. İkinci grubun oluşturduğu ikinci dalda ise 20, 21, 27, 28 no'lu genotipler bulunmaktadır. Bu dal içinde İskenderun orjinli *Cucurbita pepo* olduğunu düşündüğümüz kabuklu çekirdekli 20 ve 21 no'lu genotipler

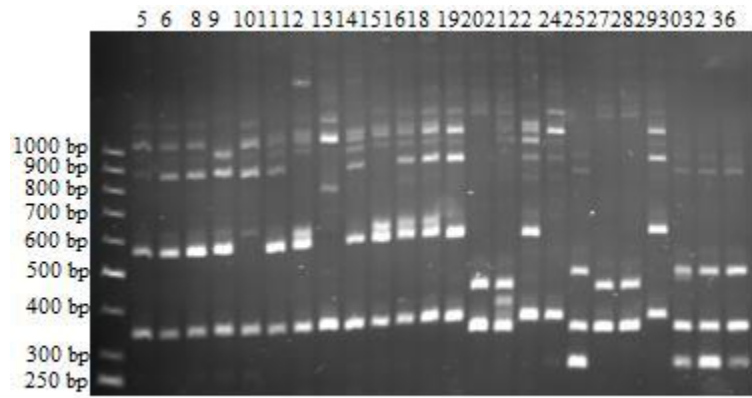
en yakın ilişkili (0.84) genotipler olarak görülmüştür. Bu iki genotip *Cucurbita pepo* türüne çok uzak bulunmuştur.

Katzir ve ark. (1998), 18 *Cucurbita pepo* genotipi ile ISSR tekniği kullanarak yaptıkları çalışmalarında İngiltere Columbia üniversitesi'nde geliştirilen kit#9'a ait UBC 807, UBC 809, UBC 810, UBC 841 ve UBC 842 no'lu primerleri kullandıkları çalışmalarında bu primerlerden en bilgi verici olanlarının UBC 841 ve UBC 842 no'lular olduğunu bulmuşlardır. Yine aynı ekibin (**Katzir ve ark., 2000**) *Cucurbita pepo*'ya ait 28 farklı örnek ile yaptıkları bir başka çalışmalarında ISSR yöntemiyle 90 polimorfik bant değerlendirilmiş ve en bilgi verici ISSR primerlerin 841 ve 842 no'lu primerler olduğu anlaşılmıştır (sırasıyla 20 ve 21. polimorfik bantlar). Bizim çalışmamızda ise çalışılan 24 genotipte toplam 60 polimorfik bant elde edilmiş ve en bilgi verici primer olarak UBC 812 no'lu primer belirlenmiştir. UBC 812 no'lu primerin tüm bantları polimorfik bulunmuştur.

Paris ve ark. (2003) ise, **Katzir ve ark. (1998;2000)**'nın çalışmalarında kullandıkları ISSR primerlerine ek olarak UBC 855 no'lu primeri kullanarak 45 *Cucurbita pepo* genotipine ISSR tekniğini uygulamışlardır. Araştırmacılar kullandıkları primerlerden 147 bant elde ettiklerini, primer başına düşen bant sayısının 16 ile 34 arasında değiştiğini ve polimorfik bant sayısının ise 15 ile 23 arasında değiştiğini bulmuşlar ve skorlanan 147 ISSR bandın 108'ni (%74) polimorfik bulmuşlardır. Çalışmamıza bakıldığında primer başına düşen toplam ve polimorfik bant sayısı 4–15 (ortalama 7.5) arasında değişim göstermiş, elde edilen 60 bandında tümünün polimorfik olduğu görülmüştür. Bunda genotiplerin sadece *Cucurbita pepo* türüne ait olmaması *Cucurbita maxima* ve *Cucurbita moschata* gibi farklı türlerden de olması etkili olabilir.

4.2. SRAP Analizleri

SRAP tekniğinde liteartür taraması (Ferriol ve ark., 2003) sonucunda belirlenmiş sekiz adet polimorfik primer kombinasyonu 24 genotipe uygulanmıştır. Me6/Em5 primer kombinasyonunun 24 genotipe uygulanması sonucu elde edilen PCR amplifikasyon ürünlerinin görüntüsü **Şekil 4.6**'de verilmiştir.



Şekil 4.6. Me6/Em5 SRAP primer kombinasyonunun 24 genotipe uygulanması sonucu elde edilen PCR amplifikasyon ürünlerinin görüntüsü

Elde edilen amplifikasyon ürünlerinden çok güçlü ve belirgin olanlar dikkate alınarak bantlar var (1) ve yok (0) şeklinde değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), bu primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) ve ayırma gücü (AG) değerleri **Çizelge 4.10**'da verilmiştir.

Çalışmada kullanılan 8 SRAP primeri değerlendirildiğinde; toplam 71 adet bant elde edilmiş, bunların 71 adedi de polimorfik bulunmuştur. Elde edilen bantların tümü polimorfik olduğundan primer başına düşen toplam bant sayısı ile polimorfik bant sayısı aynı değeri vermiş ve değerler 3–19 (ortalama 8.88) arasında değişmiştir.

Toplam bant sayısı açısından Me2/Em1 primer kombinasyonu en düşük (3 adet) bant sayısını üretmiş olup, Me2/Em6 primer kombinasyonu ise en fazla (19 adet) bandı

vermiştir. Polimorfik bant sayısı bakımından ise, yine Me2/Em1 primer kombinasyonu en düşük sayıda (3 adet) bant üretirken Me2/Em6 primer kombinasyonundan ise en yüksek sayıda (19 adet) bant elde edilmiştir. Tüm primerlerin polimorfizm oranı %100 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.10. SRAP primerlerinin amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve primerin ayırma gücü (AG) değerleri

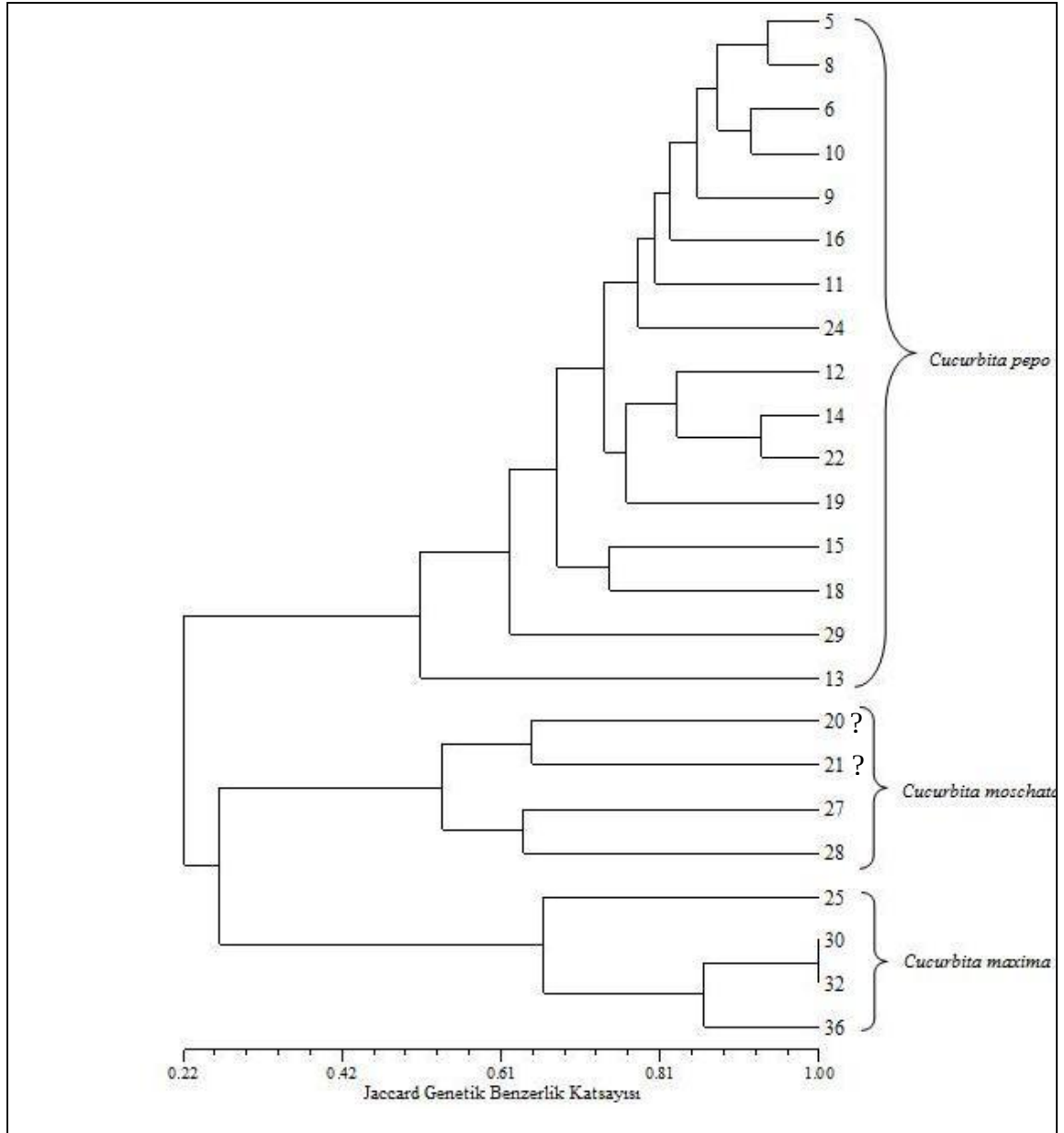
	TBS	PBS	PO	AG	PBI
Me1/Em2	8	8	100	0.44	4.59
Me2/Em1	3	3	100	0.92	0.67
Me2/Em3	8	8	100	1.05	0.65
Me2/Em6	19	19	100	0.77	0.80
Me6/Em5	13	13	100	0.70	0.82
Me6/Em6	8	8	100	0.53	0.92
Me7/Em6	4	4	100	0.75	0.80
Me8/Em3	8	8	100	0.85	0.91
TOPLAM	71	71	-	6.01	-
ORTALAMA	8.88	8.88	100	-	1.27

SRAP primerlerinin polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve ayırma güçleri de bu çalışmada değerlendirilmiştir. Ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 1.27 olarak bulunmuştur. En düşük (0.65) polimorfizm bilgi içeriği değeri Me2/Em3 primer kombinasyonundan, en yüksek (4.59) polimorfizm bilgi içeriği değeri ise Me1/Em2 primer kombinasyonundan elde edilmiştir. Primerlerin ayırma gücü (AG) değerleri incelendiğinde ise; toplam ayırma gücü değeri 6.01 olarak belirlenmiş olup; en düşük (0.44) ayırma gücü değeri Me1/Em2 primer kombinasyonundan elde edilirken, en yüksek (1.05) ayırma gücü değeri ise Me2/Em3 primer kombinasyondan elde edilmiştir.

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, kabak genotipleri arasındaki genetik benzerlik indeksinin 0.13–1.00 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Araştırmada yer alan tüm kabak genotipleri arasındaki Jaccard genetik benzerlik katsayıları **Ek 2'**de verilmiştir.

Yirmidört adet kabak genotipi genetik benzerlik açısından incelendiğinde, birbirine en yakın genotipler sırasıyla; 30 ile 32 (1.00), 5 ile 8 (0.94), 6 ile 10 (0.92), 10

ile 11(0.92), 5 ile 6 (0.91), 6 ile 8 (0.90) şeklinde belirlenmiştir. En uzak genotipleri ise sırasıyla 13 ile 27 (0.13), 12 ile 30 (0.14), 11 ile 20 (0.15), 15 ile 25 (0.16) şeklinde olmuştur.



Şekil 4.7. 24 kabak genotipine SRAP tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen soyağacı

SRAP analizleri sonucunda 24 kabak genotipinin tamamının birbirinden ayrılmadığı görülmüştür. Analiz sonucunda elde edilen soyağacında (**Şekil 4.7**) iki ana grup oluşmuştur. Birinci grupta yer alan genotipler sırasıyla 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 22, 24 ve 29 no'lu genotiplerdir. İkinci grupta ise 20, 21, 27, 28, 30, 32 ve 36 no'lu genotipleri yer almaktadır.

Dendograma ait birinci grup incelendiğinde, genelde *Cucurbita pepo* türüne ait kabuksuz çeşitlerin bu grupta bir araya geldiği gözlenmiştir. Seleksiyon sonucu elde edilen 5, 6, 8, 9, 10 seleksiyon hatları ve 11 no'lu melez genotipin bu grup içinde yer aldığı ve grup içinde 5 ve 8 no'lu genotiplerin en yakın ilişkili genotipler (0.94) oldukları belirlenmiştir. 5 ve 8 no'lu genotiplerle aynı daldan çıkıp farklılaşan 8 ve 10 no'lu genotipler kendi aralarında yakın ilişkili (0.92) görülmüştür. Yabancı orjinli 14 no'lu kabuksuz çekirdekli *Cucurbita pepo* genotipinin, Bolu kökenli kabuksuz çekirdekli genotip olan 22 no'lu genotiple yakın ilişkili (0.93) olduğu görülmüştür. Bunun yanında 12 no'lu yabancı orjinli genotipte 14 ve 22 no'lu genotiplerle aynı daldan çıkıp, daha sonra bunlardan farklılaşmış olarak dendogramda yer almıştır. Ayrıca 15 ile 18 (0.74) aralarında yakın ilişki bulunan genotiplerdir. Yabancı orjinli 13 no'lu genotip yine birinci grupta yer almış ancak grubun en başında farklılaşarak farklı bir dal oluşturmuş ve bu grupta yer alan diğer genotiplerden en uzak ilişkili görülmüştür. ISSR analizinde karşılaştığımız 29 no'lu genotiple ilgili ilginç duruma SRAP analizlerinde de karşılaşmaktayız. Balkabağı ismi ile bize ulaşan 29 no'lu genotip te bu grup içinde yer almıştır. Fakat morfolojik gözlem sonuçları da göz önüne alındığında 29 no'lu genotipin bize gönderilen isminde bir yanlışlık olduğu ve bunun bir *Cucurbita pepo* olabileceği anlaşılmıştır.

Dendogramda ikinci grup incelendiğinde, tekrar iki gruba ayrılmak üzere dallanma gösterdiği görülmüştür. İkinci grubun ilk dalında 20, 21, 27, 28 no'lu genotipler yer almıştır. Bu dalda bulunan İskenderun orjinli *Cucurbita pepo*'ya ait 20 ve 21 no'lu genotipler bu dal için bir birbirine en yakın ilişkili (0.65) genotipleri oluştururken, yine aynı dalda *Cucurbita moschata*'ya ait 27 ve 28 no'lu genotipler kendi aralarında yakın ilişkili (0.64) görülmüştür.

İkinci grubun ikinci dalında ise bulunan tüm genotipler *Cucurbita maxima*'ya aittir ve bu genotipler sırasıyla 25, 30, 32, 36 no'lu genotiplerdir. Bu genotipler içinde en yakın ilişkili genotipler 30 ve 32 no'lu genotiplerdir (1.00). 36 no'lu genotip bunlardan farklılaşarak yeni bir dal oluşturmuştur. 25 nolu genotipin ise ikinci grubun ikinci dalında bulunarak diğer genotiplerden en uzak olduğu ve farklı bir dal oluşturduğu görülmüştür.

Kabakta yapılan bir başka çalışmada **Ferriol ve ark. (2003)**, ticari olarak üretimi yapılan çeşitler ve İspanya'nın yerel genotiplerinden oluşan *Cucurbita pepo*'ya ait 69 genotipi morfolojik ve moleküler olarak değerlendirmişlerdir. Moleküler çalışmalarında SRAP ve AFLP tekniklerini kullanmışlardır. 11 SRAP primer kombinasyonunu kullanarak toplam 88 bant elde etmişler ve bunların 64'ünü (% 72.7) polimorfik bulmuşlardır. Primer başına düşen toplam bant sayısı 4 ile 15 arasında değişmiş ortalama 8 olmuştur. En fazla polimorfik bandı Me7/Em5 primer kombinasyonu vermiştir (14). Bu çalışmada 24 kabak genotipi için **Ferriol ve ark. (2003)**'nında kullandığı primer kombinasyonlarından sekizi kullanılmış ve toplam 71 bant elde edilmiştir. Bu 71 bandın hepsi polimorfik bulunmuştur. Primer başına düşen toplam bant sayısı 3 ile 19 arasında değişmiş ortalama 8.875 olmuştur. En fazla polimorfik bandı Me2/Em6 primer kombinasyonu vermiştir. Bu farklılığın nedeni *Cucurbita pepo* genotiplerinden farklı türlerinde kullanılması olabilir.

4.2.3 SRAP ve ISSR Yöntemleri Birlikte Analiz Edilmesi İle Kabak Genotiplerinin Aralarındaki Genetik İlişkilerin Belirlenmesi

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, kabak genotipleri arasındaki genetik benzerlik indeksinin 0.13–0.93 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Araştırmada yer alan tüm kabak genotipleri arasındaki Jaccard genetik benzerlik katsayıları **Ek 3** 'de verilmiştir

Yirmidört adet kabak genotipi genetik benzerlik açısından incelendiğinde, birbirine en yakın genotipler sırasıyla; 5 ile 6 (0.93), 6 ile 8 (0.90), 6 ile 10(0.90) no'lu genotipler şeklinde belirlenmiştir. En uzak genotiplerin no'ları ise 11 ile 20 (0.13), 12 ile 20 (0.14), 9 ile 20 (0.15), 14 ile 20(0.16) şeklindedir.

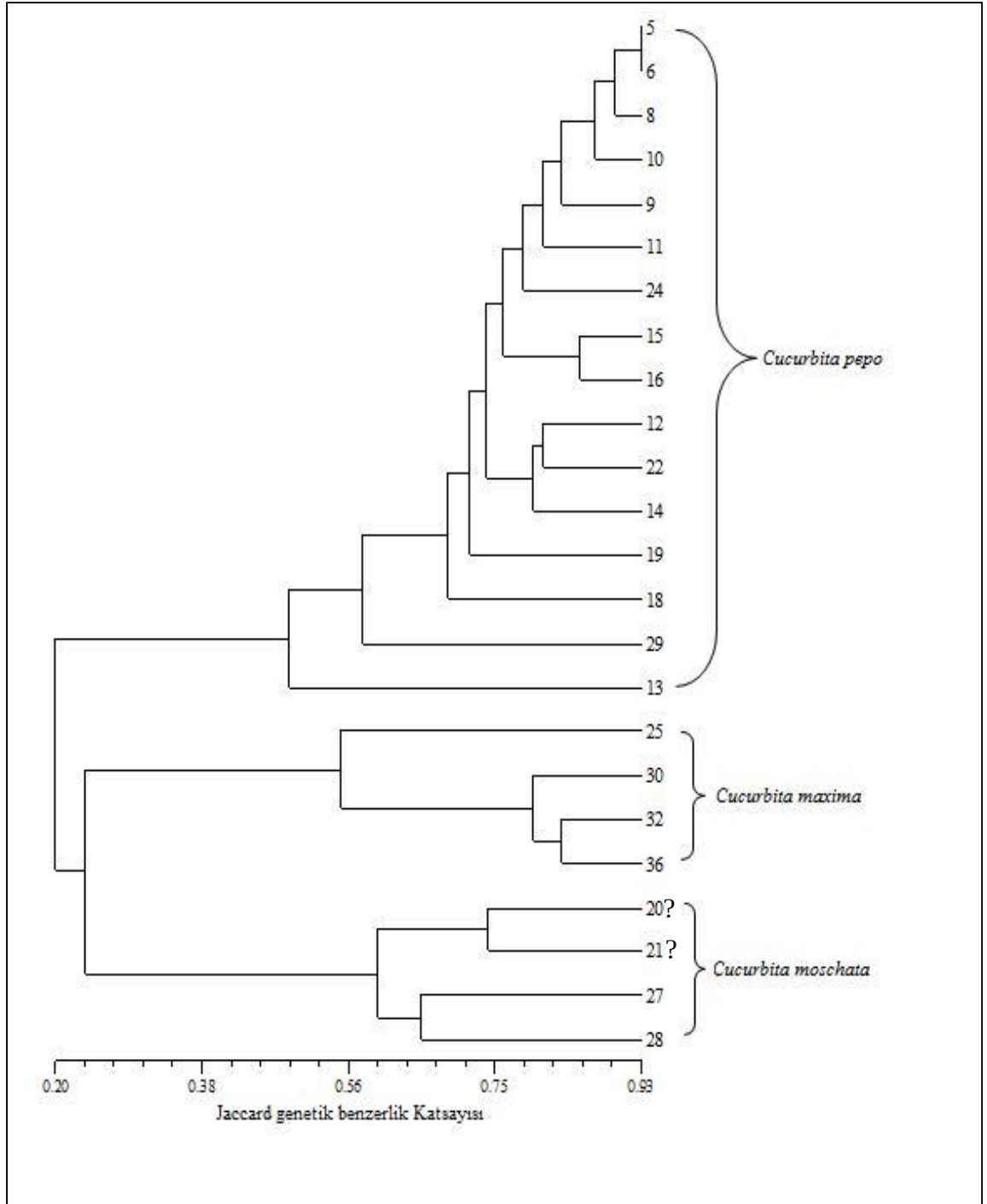
Yirmidört kabak genotipine ISSR ve SRAP tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen soyağacı (**Şekil 4.8**) incelendiğinde, tüm 24 genotipin birbirinden ayrıldığı ve iki ana grup oluştuğu görülmüştür. Birinci grupta yer alan genotipler sırasıyla 5, 6, 8, 9,10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 22, 24 ve 29 no'lu genotiplerdir. İkinci grupta ise 20, 21, 27, 28, 30, 32 ve 36 no'lu genotipleri yer almaktadır.

Dendogramda birinci grup incelendiğinde, seleksiyon ile elde edilen kabuksuz çekirdekli kabak hatları (5, 6, 8, 9, 10 no'lu genotipler) ve kabuklu x kabuksuz çekirdek kabağı melezinin (11 no'lu genotip) bu grup içinde yer aldığı görülmüştür. 5 ve 6 no'lu genotiplerin en yakın ilişkili (0.93) genotipler oldukları ve 8 no'lu genotipin bu genotiplerden farklılaşarak ayrı bir dal oluşturduğu görülmüştür. Bu genotiplere 9, 10, 11 ve 24 no'lu genotipler yakın ilişkili bulunmuş ancak 15 ve 16 nolu genotipler bunlardan farklılaşarak ayrı bir dal oluşturmuş ve kendi aralarında yakın ilişkili (0.85) göstermişlerdir. Yine birinci grup içinde yabancı orjinli kabuksuz çekirdekli bir genotip olan 12 no'lu genotip Bolu orjinli kabuksuz çekirdekli 22 no'lu genotiple yakın ilişki (0.81) göstermiş, yine yabancı orjinli kabuksuz çekirdekli bir genotip olan 14 no'lu genotip bunlardan farklılaşarak ayrı bir dal oluşturmuştur. 13, 18, 19 ve 29 no'lu genotipler aynı grupta olup, diğer genotiplerden farklı dallanmalar göstererek uzak

ilişki göstermişlerdir. Birinci grupta en uzak ilişkili genotip yabancı orjinli bir genotip olan 13 no'lu genotip olmuştur.

Dendogramda ikinci grup incelendiğinde tekrar iki gruba ayrılmak üzere dallanma gösterdiği görülmüştür. İkinci grubun ilk dalında ise bulunan tüm genotipler *Cucurbita maxima*'ya aittir ve bu genotipler sırasıyla 25, 30, 32, 36 no'lu genotiplerdir. Bu genotipler içinde en yakın ilişkili genotipler 30 ve 36 no'lu genotiplerdir (0.83). 32 no'lu genotip bunlardan farklılaşarak yeni bir dal oluşturmuştur. 25 nolu genotipin ise ikinci grubun ilk dalında bulunarak diğer genotiplerden en uzak olduğu ve farklı bir dal oluşturduğu görülmüştür

İkinci grubun ikinci dalında 20, 21, 27, 28 no'lu genotipler yer almıştır. Bu dalda bulunan İskenderun orjinli *Cucurbita pepo*'ya ait 20 ve 21 no'lu genotipler bu dal için bir birbirine en yakın ilişkili (0.74) genotipleri oluştururken, yine aynı dalda *Cucurbita moschata*'ya ait 27 ve 28 no'lu genotipler kendi aralarında yakın ilişkili (0.65) görülmüştür.



Şekil 4.8. 24 kabak genotipine ISSR ve SRAP tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen soyağacı

4.2.4. SRAP ve ISSR Yöntemlerinden Elde Edilen Benzerlik İndeksleri Arasındaki Korelasyon

ISSR, SRAP yöntemleri sonucu elde edilen benzerlik indekslerinin arasındaki korelasyonların belirlemede Mantel kofenetik korelasyon testi (**Mantel, 1967**) kullanılmıştır. Her iki yöneme göre korelasyon katsayısı 0.947 olarak hesaplanmıştır

Bu sonuç ISSR ve SRAP tekniklerinden elde edilen verilerin birbirine çok yakın neredeyse aynı olduğunu göstermiştir.

Korelasyon katsayısının bu kadar yüksek olmasının nedenleri arasında daha önce kabakta yürütölmüş çalışmalarda en yüksek polimorfizm veren primerlerin kullanılmış olması, genotip ve primer sayısının sınırlı olması söylenebilir.

Budak ve ark., (2004), yaptıkları çalışmada daha çok geniş ovalık alanlarda yetişen bir çimen türü olan [*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Englem.] 'in tohum ve vegetatif biyotiplerinin her birinden elde ettikleri 20 genotipi karşılaştırarak yaptıkları çalışmada SSR, ISSR, RAPD ve SRAP markır sistemlerini kullanmışlar ve filogenetik yakınlığı bulmaya çalışmışlardır. Araştırmacılar bu çalışmalarında her yöntem için elde ettikleri benzerlik indeklerinin aralarındaki korelasyonları Mantel kofenetik korelasyon testi (**Mantel, 1967**) ile hesaplamışlardır. RAPD ile SRAP arasındaki korelasyon $r = 0.73$, RAPD ve SSR arasındaki korelasyon $r = 0.24$, ISSR ile SSR arasındaki ise $r = 0.66$ olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada bulunan en yüksek değer RAPD ile SRAP teknikleri arasındaki korelasyon olmuş ($r = 0.73$) ve oldukça yüksek bulunmuştur. Kendi çalışmamızda ise ISSR ile SRAP teknikleri arasındaki korelasyon 0.947 olarak hesaplanmıştır.

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

1.Çalışmamızdan elde edilen bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, farklı kabak tür ve tiplerinin hem morfolojik özelliklere dayalı karakterizasyon çalışmaları hem de moleküler yöntemlerle yapılan analizler sonucunda birbirinden ayrılabilirdiği görülmüştür. Özellikle ISSR ve SRAP teknikleri ile bu ayrımlar daha net ve belirgin çıkmıştır. Moleküler çalışmalar sonucunda her iki yöntemde de benzerlik açısından *Cucurbita maxima* ve *Cucurbita moschata* türleri birbirlerine daha yakın bulunmuş; *Cucurbita pepo* ise farklı bir grup halinde ayrılmıştır. Ayrıca *Cucurbita pepo* türü içinde farklı grupların da olduğu görülmüştür. Bu farklı gruplar içinde seleksiyonla elde edilen yerli kabuksuz kendilenmiş hatlar, genetik olarak birbirine çok yakın çıkmıştır. Bu hatların aynı popülasyondan seçildiği düşünüldüğünde genetik benzerlik oranının yüksek çıkması yöntemlerin iyi çalıştığının bir göstergesi olarak düşünülebilir.

2.Yaptığımız çalışmada kullandığımız ana materyalin bir kısmını kabuksuz çekirdek kabaklarına ait genotipler oluşturmaktadır. Bu genotiplerin bir kısmı yerel materyal, bir kısmı yerel bir popülasyondan seleksiyon sonucu elde edilmiş hatlar, bir kısmı ise yabancı orjinli genotiplerdir. Çalışmanın bulguları yurt içi ve yurt dışı kökenli kabuksuz tohumlu kabak genotiplerinin yan yana geldiğini ve oluşan dendogramlarda genelde aynı grupta yer aldıklarını göstermiştir. Özellikle Bolu'dan gelen iki kabuksuz tohumlu genotipinin (19 ve 22 no'lu genotipler) genelde yurt dışından gelen kabuksuz tohumlu materyale (12, 13, 14 ve 15 no'lu genotipler) çok yakın çıkması, diğerlerinin de çok uzak olmaması, Türkiye'deki kabuksuz çekirdekli kabaklar ile yurt dışındakilerin, en azından bizim denemelerimizde yer alan Orta Avrupa kabuksuz çekirdek kabaklarının aynı kökenden geldiklerini düşündürmektedir. Bunların Türkiye'den mi Orta Avrupa'ya gittiği, yoksa tersine Orta Avrupa'dan mı Türkiye'ye geldiği konusunun bu çalışmanın bulguları ile ortaya çıkartılması olanaksızdır. Bunun için iki farklı yerden alınan daha geniş materyal ile yapılacak daha ayrıntılı çalışmalara gerek vardır.

3.Elde ettiğimiz bulgularla kabukluluk ve kabuksuzluğu da kesin olarak birbirinden ayırmak mümkün olmamıştır. Bu konuyla ilgili daha önce yapılmış

genetik ve histolojik çalışmalar bulunmakla birlikte, genetik çalışmalar ancak klasik Mendel Genetiği ile sınırlı kalmış, ayrıca bu konuda çelişkili bilgiler de literatürde yer almıştır (Zraidi ve ark., 2003; Stuart ve Loy, 1983). Bundan sonraki çalışmalarda kabuksuz tohum özelliğinin genetik yapısını ortaya çıkaracak yeni ve moleküler tekniklere dayalı çalışmalara gerek vardır ve bu yöndeki çalışmalar çok yararlı olacaktır.

4. Hem ISSR hem de SRAP çalışmalarında *Cucurbita maxima*'ya ait genotipler bir grup, *Cucurbita moschata* 'ya ait genotipler ayrı bir grupta çıkmıştır. Türü belli olmayan deneme materyalinden 29 no'lu genotipin hem morfolojik hem de moleküler verilere göre *Cucurbita pepo* olduğu anlaşılmıştır. 20 ve 21 no 'lu genotiplerin ise *Cucurbita moschata* 'ya girdiği ortaya çıkmıştır. Samsun'dan gönderilen ve farklı yerlerden toplanan genotiplerin yerel adlandırmalarında da bazı yanlışlıklar olduğu ortaya çıkmıştır. Örneğin Balkabağı ismi ile bize ulaşan 29 no'lu genotipin *Cucurbita pepo* 'ya ait genotipler ile aynı grupta yer alması ilginçtir. Morfolojik gözlem sonuçları da göz önüne alındığında 29 no'lu genotipin bize gönderilen isminde bir yanlışlık olduğu ve bunun bir *Cucurbita pepo* olabileceği anlaşılmıştır. Yine SRAP analizleri sonucunda bal kabağı ismiyle bize gelen 36 no'lu genotipin kestane kabağı ismiyle gelen 32 no'lu genotiple çok yakın akraba olduğu belirlenmiştir. Bu veriler ışığında 30, 32 ve 36 no 'lu genotiplerin *Cucurbita maxima* yani kestane kabağı oldukları sonucuna varılmıştır.

5. Morfolojik ve moleküler veriler ışığında hazırlanan dendogramlar kıyaslandığında moleküler verilerle elde edilen bilgilerin morfolojiklere göre daha gerçeğe yakın olduğu görülmüştür. Morfolojik çalışmalar sırasında yapılan gözlem ve ölçümlerin bir kısmı duyuşal olduğundan güvenilirlikleri kesin değildir. Örneğin tipik bir *Cucurbita pepo* olan 24 no'lu Sakız 5801 morfolojik değerlendirmenin dendrogramında bu grubun dışında yer almıştır. Bu durum akrabalık ilişkilerinin arandığı ve benzerlik derecesinin ölçülmesinin hedeflendiği çalışmalarda moleküler tekniklerin kullanılmasının daha uygun olduğunu bir kez daha göstermiştir.

6. Bir diğer ilginç sonuç da morfolojik verilere göre yapılan analizde *Cucurbita pepo*'ya daha yakın görünen İskenderun orjinli 20 ve 21 no'lu

genotiplerin her iki moleküler markır analizi sonucuna bakıldığında *Cucurbita moshcata*' ya daha yakın bulunmasıdır. Bu sonucun yeniden yapılacak bazı çalışmalarla incelenmesinde yarar görmekteyiz. Bunun sebeblerinden birinin farklı genotiplerin yıllar boyu yan yana yetiştirilmesi türler arası melezleme meydana gelme ihtimali olabilir. Morfolojik gözlem parsellerinde özellikle 21 no'lu olanın tüm vegetasyon boyunca *C. pepo*'nun hassas olduğu virüslere dayanıklı görünmesi, ya da daha doğru bir deyişle hiçbir virüs semptomu göstermemesi bunu düşündürmektedir. Diğer yandan bu morfolojik benzerliğin tesadüfi olabileceği ya da yöntem yetersizliğinden de kaynaklanmış olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

7. Bundan sonra kabakla ilgili yapılacak genetik yakınlık çalışmalarında daha çok türün yer alması ve genetik çalışmada kullanılacak primerlerin sayısının daha fazla olması önerilir.

8. Araştırmada yer alan tüm kabak genotipleri arasındaki SRAP verilerine ait Jaccard genetik benzerlik katsayıları tablosuna baktığımızda 30 ile 32 no'lu genotiplerin genetik benzerlik katsayısının 1.00 olduğunu görmekteyiz. Bu durum SRAP tekniğinin bu genotipleri tam ayıramadığını göstermektedir. Ancak ISSR tekniğinin tüm genotipleri tam olarak ayırdığı görülmüştür. Bu durumda iki sistem karşılaştırıldığında, ileri çalışmalarda ISSR tekniğinin kullanılmasının tercih edilmesi daha doğru olacaktır kanısındayız.

KAYNAKLAR

- ABAK, K., SAKİN, M., KARAKULLUKÇU, S., 1990. Improvement of Pumpkin for naked seeds. XIII rd Int. Hort. Cong. Abst. Contr. Papers, 2. Poster Frenze 1990, 3074.
- ANDRES, T.C., 1987. *Cucurbita fraterna*, the closest wild relative and progenitor of *C. pepo* Cucurbit Genet. Coop. Rep. 10:69-71
- ANONİM, 2004. TÜİK istatistik veri tabanı <http://tüik.gov.tr>
- ANONİM, 2006. <http://www.boludayenihayat.com/cols/kosedetay.asp?id=446>
- ANONİM, 2007. <http://www.palancikuruyemisblogspot.com/2007/02/erezlik-kabak-ve-besin-deeri.html>
- BUDAK, H., SHEARMAN, R.C., PARMAKSIZ, I., DWEIKAT, I., 2004. Comparative analysis of seeded and vegetative biotype buffalograsses based on phylogenetic relationship using ISSRs, SSRs, RAPDs, and SRAPs. Theor. Appl. Genet. 109:280-288.
- DANIN- POLEG Y., TZURI G., REIS N., KATZIR, N., 2001. Development and characterization of microsatellite markers in *Cucumis*. Theor Appl Genet 102:61-72.
- DECKER, D.S., 1988. Origin(s), evolution, and systematics of *Cucurbita pepo* (*Cucurbitaceae*). Econ. Bot. 42(1): 4-15.
- DOYLE, J.J., DOYLE, J.L., 1987. A Rapid Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. Phytochemical Bulletin, 19: 11-15.
- FERRIOL, M., PICO, B., NUEZ, F., 2003. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. Theor. Appl. Genet. 107:271-282.
- DÜZELTİR, B., 2004. Çekirdek Kabağı (*Cucurbita pepo* L.) Hatlarında morfolojik Özelliklere Göre Tanımlama Ve Seleksiyon Çalışmaları. Yüksek lisans Tezi.
- GARCIA-MAS, J., OLIVER, H., GOMEZ-PANAGUNA, H., DE VIVENTE, M.C., 2000. Comparing AFLP, RAPD ve RFLP markers for measuring genetic diversity in melon. Theor Appl Genet 101:860-864.

- GARCIA, E., JAMILENA, M., ALVAREZ, J.I., ARNEDO, T., OLIVER, J.L., LOZANO, R., 1998. Genetic relationships among melon breeding lines revealed by RAPD markers and agronomic traits. *Theor. Appl. Genet.*, 96:878-885
- GULSEN, O., KARAGUL, S., ABAK, K., 2007. Diverstiy and relationship among Turkish okra germplasm by SRAP and phenotypic marker polymorphism. *Section Cellular and Molecular Biology, Bratislava*, 62/1:41-42.
- GÜNAY, A., 2005. Sebze yetiştiriliciği. ISBN 975-00725-2-9:187
- JEFFERY, C., 1990. Sistematics of the *Cucurbitaceae*. In: Bates, D.M., Tropical East Africa, vol.4. Whitefriabs Pres Ltd., London and Tonbridge, 157 pp
- KAFKAS, S., ÖZKAN, H., AK, B.E. AÇAR, İ., ATLI, H. S., KOYUNCU, S., 2006. Detecting DNA Polymorfism and Genetic Diversity in A Wide Pistachio Germplasm: Comparison of AFLP, ISSR and RAPD Markers. *Amer. Soc. for Hort. Sci.*, 131(4): 522–529.
- KAFKAS, S., 2006. DNA markörleri ve bitki ıslahında kullanımı. Çukurova Üniversitesi DNA markörleri ve bitki ıslahında kullanımı kursu, 19-20 Ocak 2006. Kurs notu (Yayınlanmamış.)
- KATZIR, N., DANIN-POLEG, Y., TZURI, G., KARCHI Z., LAVI U, CREGAN PB, 1996. Lengh polimorphism and homologies of microsatallites in several Cucurbitaceae species. *Theor. Appl. Genet.* 93:1282-1290.
- KATZIR, N., LESHZEHEN, E., TZURI G., REIS, Y., DANIN-POLEG, H.S. PARIS, 1998. Relationships among accessions of *Cucurbita pepo* based on ISSR analysis; in: J.D. McCreight, ed., *Cucurbitaceae'98, evaluation and anchancement of cucurbit germplasm*, pp. 331-335. ASHS, Alexandria, VA.
- KATZIR, N., TADMOR, Y., TZURI G., LESHZEHEN, E., MOZES-DAUBE, N., DANIN-POLEG, Y., PARIS, H.S., 2000. Further ISSR and preliminary SSR analysis of relationship among accession of *Cucurbita pepo*. *Acta Hort.* 510:433-439.
- LI, G., C. F. QUIRUS, 2001. Sequence-Related Amplified Polymorfism (SRAP) a new marker system based on a sample, PCR reaction: its application to mapping, and gene tagging in Brassica. *Theor. Appl. Genet.* 103:455-461.

- LOY, J.B., 1990. Hull-less seeded pumpkins: a new edible snackseed crop.p.403-407. In: J. Janick and J.S., Simon (eds.), Advances in New Crops. Timber Pres, Portland, OR.
- MANTEL, N., 1967. The Detection of Disease Clustering and Generalized Regression Approach. Cancer Res., 27: 209–220.
- MORIMOTO, Y., MAUNDU, P., MAKOTO, K., FUJIMAKI, H., MORISHIMA , H., 2006. RAPD polimorphism of the white-flowered gourd (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. Landraces and its wild relatives in Kenya. Genetic Res.Crop Evol. 53:963-974.
- NEE, M., 1990. The domestication of *Cucurbita* (Cucurbitaceae). Econ Bot (supplement): 56-68
- NEI, M., LI, W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **76**: 5269–5273.
- PARIS, H.S., 1986. A proposed subspecific classification for *Cucurbita pepo*. Phytologia 61:133-138.
- PARIS, H.S., 2001. Characterization of the *Cucurbita pepo* collection at the Newe Ya'ar Research Center, Israel. Plant Genet Res Squash. J Hered 77:403-409.
- PARIS, H.S., YONAH, N., PORTNOY, V., MOZES-DAUBE, N., TZURI, N., KATZIR, N., 2003. Assesment of genetic relationships in *Cucurbita pepo* (*Cucurbitaceae*) using DNA markers. Theor. Appl. Genet. 106:971-978
- PARIS, H.S.,2004. AFLP, ISSR, and SSR polymorphisms are in accordance with botanical and Cultivated plant taxonomies of the highly polymorphic *Cucurbita pepo*. Acta Hort. 634:167-171.
- PREVOST, A., WILKINSON, M. J., 1999. A New System of Comprasing PCR Primers Applied to ISSR Fingerprinting of Potato Accessions. Theor. Appl. Gen., 98: 107–112.
- ROBINSON, R.W., DECKER-WALTERS D.S., 1997. Cucurbits. In: Crop Production Department of Horticultural Science. Cornell Univ. and D.S. DECKER-WALTERS, The Cucurbit Network U.S.A.
- ROHLF, F.J., 2004. NTSYSpc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system Version 2.1, Exeter Software, Setauket, New York.

- SARAÇOĞLU, M., 2006. Kabak. <http://fesif.com/haber106.html>
- SENSOY, S., BUYUKALACA, S., ABAK, K. 2007. Evaluation of genetic diversity in Turkish melon (*Cucumis melo* L.) based on phenotypic characters and RAPD markers. *Genetic Res.Crop Evol.* 54(6):1351-1365.
- SMITH, J.S.C., CHIN, E.C.L., SHU, H., SMITH, O.S., WALL, S.J., SENIOR, M.L., MITCHEL, S.E., KRESORICH, S., TIEGLE, J., 1997. An Evaluation of The Utility of SSR Loci as Molecular Marker in Maize (*Zea mays*): Comparisons with Data from RFLP and Pedigree. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 163–173.
- STUART, S.G., LOY, J.B., 1983. Comparison of testa development in normal and hull-less seeded strains of *Cucurbita pepo* L. *Bot. Gaz.*144:491-500.
- VOS, P., HOGERS, R., BLEEKER, M., REIJANS, M., LEE T VAN DE, HORNES, M, FRIJTERS, A., POT, J., PELEMAN, J., KUIPER, M., ZABEAU, M., 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res* 23:4407-4414.
- WHITTAKER, T.W., BEMIS, W.P., 1975. Origin and evolution of the cultivated *Cucurbita*. *Bull Torrey Bot Club*, 102:362-368.
- WHITTAKER, T.W., BEMIS, W.P., 1964. Evolution in genus *Cucurbita*. *Evolution* 18:553-559.
- WILSON, H.D., DOEBLEY, J., DUVALL, M. 1992. Chloroplast DNA diversity among wild and cultivated members of *Cucurbita* (Cucurbitaceae). *Theor Apply Genet*, 84: 859-865.
- ZIETKIEWICZ, E., RAFALSKI ANTONI and DAMIAN LABUDA, 1994. Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)- Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification . *Genomics*, 20(2): 176–183.
- ZRAIDI, N., PACHNER, M., LELLEY, T., 2003. On the Genetics and Histology of the Hull-less Character of Styrian oil-pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) *Cucurbits Genetics Cooperative Report* 26:57-61.

ZHUANG, Y., Ç., CHEN, J.E., STAUB, J.E., QIAN, C.T., 2004. Assegment of genetik relationships among *Cucumis ssp.* by SSR. Plant Breeding 123:167-172.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında İskenderun'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İskenderun'da tamamladı. 2000 yılında Pamukkale Üniversitesi Denizli Sağlık Yüksekokulu'ndan hemşire ve 2004 yılında Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden biyolog olarak mezun oldu. 2005 yılında Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Anabilim dalın'da yüksek lisans öğrenimine başladı. Aynı yıl İskenderun Devlet Hastanesi'nde biyolog olarak göreve başladı ve halen aynı görevde devam etmektedir.

Ek 1. Araştırmada yer alan tüm kabak genotipleri arasındaki ISSR verilerine ait Jaccard genetik benzerlik katsayıları

Genotip no	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15	16	18	19	20	21	22	24	25	27	28	29	30	32	36
5	-																							
6	0.96	-																						
8	0.84	0.90	-																					
9	0.84	0.81	0.84	-																				
10	0.86	0.88	0.88	0.79	-																			
11	0.92	0.81	0.84	0.76	0.76	-																		
12	0.80	0.74	0.77	0.75	0.74	0.75	-																	
13	0.56	0.47	0.48	0.44	0.50	0.44	0.50	-																
14	0.84	0.70	0.67	0.71	0.63	0.71	0.69	0.47	-															
15	0.78	0.70	0.77	0.66	0.72	0.76	0.80	0.47	0.65	-														
16	0.84	0.74	0.83	0.70	0.78	0.81	0.86	0.50	0.64	0.93	-													
18	0.88	0.77	0.74	0.68	0.85	0.73	0.71	0.39	0.62	0.72	0.77	-												
19	0.84	0.77	0.74	0.68	0.71	0.73	0.66	0.39	0.62	0.67	0.71	0.80	-											
20	0.18	0.17	0.12	0.16	0.11	0.12	0.10	0.13	0.14	0.08	0.08	0.15	0.20	-										
21	0.27	0.24	0.19	0.23	0.19	0.18	0.17	0.22	0.21	0.14	0.15	0.19	0.22	0.84	-									
22	0.81	0.77	0.80	0.78	0.71	0.78	0.83	0.48	0.72	0.77	0.77	0.69	0.69	0.12	0.19	-								
24	0.76	0.73	0.82	0.74	0.81	0.80	0.67	0.43	0.53	0.73	0.79	0.70	0.70	0.08	0.13	0.70	-							
25	0.13	0.16	0.14	0.13	0.12	0.15	0.14	0.07	0.13	0.13	0.14	0.14	0.17	0.23	0.16	0.14	0.11	-						
27	0.20	0.20	0.15	0.19	0.17	0.14	0.16	0.14	0.17	0.13	0.13	0.20	0.20	0.74	0.67	0.15	0.11	0.24	-					
28	0.26	0.26	0.20	0.24	0.20	0.22	0.18	0.20	0.26	0.15	0.16	0.20	0.20	0.64	0.67	0.20	0.14	0.14	0.68	-				
29	0.68	0.48	0.50	0.50	0.57	0.55	0.52	0.42	0.53	0.53	0.57	0.55	0.50	0.14	0.19	0.45	0.61	0.09	0.15	0.15	-			
30	0.25	0.20	0.17	0.26	0.16	0.16	0.18	0.15	0.24	0.17	0.18	0.14	0.14	0.20	0.16	0.21	0.15	0.38	0.18	0.14	0.21	-		
32	0.22	0.22	0.19	0.17	0.17	0.17	0.12	0.12	0.21	0.14	0.15	0.15	0.15	0.27	0.22	0.15	0.13	0.40	0.20	0.20	0.19	0.63	-	
36	0.21	0.21	0.18	0.17	0.17	0.17	0.15	0.17	0.21	0.14	0.15	0.15	0.15	0.21	0.17	0.15	0.13	0.42	0.19	0.19	0.22	0.63	0.85	-

Ek 2. Araştırmada yer alan tüm kabak genotipleri arasındaki SRAP verilerine ait Jaccard genetik benzerlik katsayıları

Genotip no	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15	16	18	19	20	21	22	24	25	27	28	29	30	32	36
5	-																							
6	0.91	-																						
8	0.94	0.90	-																					
9	0.82	0.84	0.87	-																				
10	0.85	0.92	0.85	0.88	-																			
11	0.76	0.84	0.76	0.75	0.92	-																		
12	0.68	0.74	0.72	0.77	0.75	0.66	-																	
13	0.54	0.55	0.49	0.44	0.60	0.61	0.57	-																
14	0.69	0.75	0.73	0.77	0.79	0.77	0.86	0.58	-															
15	0.69	0.75	0.73	0.72	0.76	0.72	0.73	0.48	0.74	-														
16	0.83	0.85	0.77	0.76	0.88	0.76	0.73	0.54	0.74	0.79	-													
18	0.59	0.65	0.63	0.62	0.75	0.62	0.63	0.40	0.64	0.74	0.64	-												
19	0.68	0.69	0.68	0.71	0.74	0.67	0.73	0.50	0.74	0.69	0.83	0.59	-											
20	0.20	0.17	0.19	0.15	0.16	0.15	0.18	0.14	0.17	0.20	0.20	0.23	0.20	-										
21	0.22	0.21	0.23	0.19	0.22	0.24	0.23	0.19	0.24	0.30	0.24	0.30	0.24	0.65	-									
22	0.68	0.74	0.72	0.77	0.82	0.77	0.79	0.53	0.93	0.73	0.78	0.63	0.83	0.19	0.27	-								
24	0.71	0.78	0.76	0.81	0.91	0.75	0.71	0.47	0.77	0.67	0.71	0.62	0.71	0.17	0.24	0.83	-							
25	0.24	0.23	0.20	0.19	0.20	0.18	0.20	0.21	0.21	0.16	0.27	0.16	0.27	0.21	0.23	0.24	0.21	-						
27	0.21	0.20	0.22	0.20	0.18	0.18	0.19	0.13	0.18	0.23	0.21	0.26	0.25	0.64	0.53	0.17	0.18	0.24	-					
28	0.31	0.30	0.30	0.29	0.24	0.28	0.27	0.24	0.31	0.34	0.33	0.29	0.36	0.52	0.47	0.36	0.31	0.27	0.64	-				
29	0.65	0.71	0.64	0.63	0.69	0.63	0.54	0.38	0.60	0.51	0.61	0.56	0.56	0.22	0.23	0.66	0.73	0.20	0.20	0.35	-			
30	0.16	0.17	0.16	0.14	0.17	0.17	0.14	0.15	0.19	0.18	0.20	0.18	0.23	0.27	0.24	0.20	0.18	0.74	0.29	0.33	0.17	-		
32	0.24	0.20	0.22	0.18	0.17	0.18	0.19	0.20	0.23	0.23	0.26	0.21	0.29	0.26	0.30	0.27	0.20	0.65	0.26	0.31	0.15	1.00	-	
36	0.29	0.28	0.30	0.26	0.25	0.23	0.22	0.18	0.26	0.23	0.29	0.16	0.29	0.21	0.25	0.30	0.28	0.61	0.24	0.31	0.22	0.89	0.82	-

Ek 3. Araştırmada yer alan tüm kabak genotipleri arasındaki SRAP ve ISSR verilerine ait Jaccard genetik benzerlik katsayıları tablosu

Genotip no	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15	16	18	19	20	21	22	24	25	27	28	29	30	32	36
5	-																							
6	0.93	-																						
8	0.89	0.90	-																					
9	0.83	0.83	0.85	-																				
10	0.85	0.90	0.87	0.83	-																			
11	0.83	0.83	0.80	0.76	0.83	-																		
12	0.73	0.74	0.74	0.76	0.75	0.70	-																	
13	0.55	0.51	0.48	0.44	0.55	0.52	0.53	-																
14	0.75	0.72	0.70	0.74	0.70	0.74	0.77	0.52	-															
15	0.73	0.72	0.75	0.69	0.74	0.74	0.77	0.48	0.69	-														
16	0.83	0.80	0.80	0.73	0.83	0.78	0.79	0.52	0.69	0.85	-													
18	0.70	0.71	0.68	0.65	0.80	0.67	0.67	0.39	0.63	0.73	0.70	-												
19	0.75	0.73	0.71	0.70	0.73	0.70	0.69	0.45	0.68	0.68	0.77	0.69	-											
20	0.19	0.17	0.15	0.15	0.14	0.13	0.14	0.13	0.16	0.13	0.14	0.18	0.20	-										
21	0.24	0.22	0.21	0.21	0.20	0.21	0.20	0.20	0.23	0.22	0.20	0.24	0.23	0.74	-									
22	0.73	0.75	0.75	0.77	0.76	0.77	0.81	0.50	0.81	0.75	0.77	0.65	0.75	0.15	0.23	-								
24	0.73	0.76	0.79	0.77	0.86	0.77	0.69	0.45	0.65	0.70	0.75	0.66	0.71	0.13	0.18	0.76	-							
25	0.20	0.20	0.17	0.16	0.16	0.17	0.17	0.15	0.18	0.15	0.21	0.15	0.22	0.22	0.20	0.19	0.17	-						
27	0.20	0.20	0.19	0.20	0.17	0.16	0.17	0.13	0.18	0.18	0.17	0.23	0.23	0.69	0.59	0.16	0.15	0.24	-					
28	0.29	0.28	0.26	0.27	0.22	0.25	0.23	0.22	0.29	0.25	0.25	0.25	0.29	0.57	0.55	0.28	0.23	0.22	0.65	-				
29	0.66	0.60	0.57	0.57	0.63	0.59	0.53	0.40	0.16	0.52	0.59	0.55	0.54	0.18	0.21	0.55	0.67	0.16	0.17	0.26	-			
30	0.20	0.18	0.17	0.20	0.16	0.16	0.16	0.15	0.21	0.17	0.19	0.16	0.18	0.23	0.20	0.19	0.16	0.55	0.23	0.23	0.19	-		
32	0.23	0.21	0.21	0.18	0.17	0.18	0.16	0.17	0.23	0.20	0.22	0.19	0.23	0.26	0.27	0.21	0.18	0.56	0.24	0.27	0.16	0.82	-	
36	0.26	0.25	0.25	0.22	0.21	0.20	0.19	0.17	0.24	0.20	0.23	0.15	0.23	0.21	0.22	0.22	0.22	0.54	0.22	0.27	0.22	0.77	0.83	-