

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

**BAZI KAVUN (*Cucumis melo* L.) GENOTİPLERİNİN MORFOLOJİK ve  
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU, HAPLOİD BİTKİ ELDESİ ve  
HETEROTİK GRUP OLUŞTURULMASI**

**İsmail TANTAWY**

**DOKTORA TEZİ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**2016**



T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI KAVUN (*Cucumis melo* L.) GENOTİPLERİNİN MORFOLOJİK ve  
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU, HAPLOİD BİTKİ ELDESİ ve  
HETEROTİK GRUP OLUŞTURULMASI

İsmail TANTAWY

DOKTORA TEZİ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez .../.../2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. A. Naci ONUS (Danışman)

Prof. Dr. Ece TURHAN

Prof. Dr. Ersin POLAT

Doç. Dr. Hüsnü ÜNLÜ

Yrd. Doç. Dr. Kamile ULUKAPI



## ÖZET

### **BAZI KAVUN (*Cucumis melo* L.) GENOTİPLERİNİN MORFOLOJİK ve MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU, HAPLOİD BİTKİ ELDESİ ve HETEROTİK GRUP OLUŞTURULMASI**

**İsmail TANTAWY**

**Doktora Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. A. Naci ONUS**

**Mayıs 2016, 69 sayfa**

Bu çalışma kapsamında, Kuzey Agripark Firmasına ait seralarda yetiştirilen ve ıslah materyali olarak kullanılan 17 genotipe ait 319 kavun bitkisi kullanılmıştır. Bu genotiplerin 13 ayrı morfolojik karakter açısından gözlemi yapılmıştır.

Morfolojik çalışmalar sonucu elde edilen verilerin istatistiksel analizleri, Temel Bileşenler Analizi (TBA) ve Kümeleme (Cluster) Analiz Yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizlerde SAS v 9.3 ve Minitab 17.0 bilgisayar paket programları kullanılmıştır. Genotiplerin TBA ve kümeleme analizi ile sınıflandırılması sonucunda donör bitkilere ait 4 farklı grup elde edilmiştir. On yedi genotipe ait bitkilerden elde edilen 76 tane double haploid bitkinin ise 6 morfolojik karakter için gözlemi yapılmış ve elde edilen verilerin istatistiksel analizleri, Temel Bileşenler Analizi (TBA) ve Kümeleme (Cluster) Analiz Yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerin sonucunda double haploid bitkilere ait 4 farklı grup belirlenmiştir.

Moleküler karakterizasyon çalışmalarında 47 adet SSR primeri tüm genotiplerde taranmış ve polimorfik olan 7 adet SSR primeri çalışmada kullanılmıştır. SSR analizleri sonucu elde edilen veriler için binom veri matrisi oluşturulmuştur. SAS v 9.3 ve Minitab 17.0 bilgisayar paket programları kullanılarak Çok Değişkenli Kümeleme Analizi ve Temel Bileşenler Analizi verilerin analizi için kullanılmıştır. Bu analizlerin sonucunda 17 genotipe ait bitkilerin moleküler olarak gruplandırılmasında 5 farklı grup, 76 tane double haploid bitkinin moleküler gruplandırılmasında ise yine 5 farklı grup oluşmuştur.

Ayrıca 76 adet double haploid kavun bitkisinin önemli bir fungal hastalık olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*'in 0,1 ve 2 ırkları için moleküler testlemesi SCAR ve CAPS markırları kullanılarak yapılmıştır. 33 tane bitkinin her üç ırka da dayanıklı olduğu bulunmuştur.

**ANAHTAR KELİMELER:** *Cucumis melo* L., haploid, double haploid, heterotik grup

**JURİ:** Prof. Dr. A. Naci ONUS (Danışman)  
Prof. Dr. Ece TURHAN  
Prof. Dr. Ersin POLAT  
Doç. Dr. Hüsnü ÜNLÜ  
Yrd. Doç. Dr. Kamile ULUKAPI

## ABSTRACT

### MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOME MELON (*Cucumis melo* L.) GENOTYPES, OBTAINING HAPLOID PLANTS AND HETEROTIC GROUPS

İsmail TANTAWY

PhD Thesis in Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. A. Naci ONUS

May 2016, 69 pages

In this study, 319 melon lines belonging to 17 genotypes and grown in greenhouse of Kuzey Agripark Company were used. 13 different morphological characters of these genotypes were observed and recorded. Statistical analysis of obtained data was performed by using cluster and principal component analysis (PCA). SAS 9.3 and Minitab 17.0 statistical packaged software were used for data analysis. After classification of genotypes with PCA and cluster analysis, 4 distinct groups (heterotic) belonging to parental lines were obtained.

Six morphological characters of 76 double haploid plants belonging to 17 different types of genotype were also observed and statistical analysis of the obtained data were done by using PCA and Cluster analysis as stated above. As a result of these analyses, 4 different groups (heterotic) belonging to double haploid plants were determined.

In the molecular characterization, 47 different SSR primers were screened for both 319 melon lines and 76 double haploid plants and 7 polymorphic SSR primers were selected and used in the study. As a result of SSR analysis, binomial data matrix was formed. SAS 9.3 and Minitab 17.0 statistical packaged software were used to perform multivariate cluster analysis and PCA on obtained data. As a result of these analyses, 5 different groups, in molecular classification of plants belonging to 17 genotype and 76 double haploid plants were determined.

Beside, the 76 double haploid melon were screened for most serious fungal diseases, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* races 0,1 and 2, by using SCAR and CAPS molecular markers. 33 of these *melonis* plants were found to be resistance to 3 races of *Fusarium oxysporum* f. sp.

**KEYWORDS:** *Cucumis melo* L., haploid, double haploid, heterotic group

**COMMITTEE:** Prof. Dr. A. Naci ONUS(Supervisor)

Prof. Dr. Ece TURHAN

Prof. Dr. Ersin POLAT

Assoc. Prof. Dr. Hüsnü ÜNLÜ

Asst. Prof. Dr. Kamile ULUKAPI

## ÖNSÖZ

*Cucurbitaceae* familyasına ait bir sebze türü olan kavun bitkisi, Türkiye’de ekonomik açıdan çok büyük bir öneme sahiptir. Türkiye’de kavun yetiştiriciliğinde Orta Anadolu, Ege, Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz bölgeleri ön plana çıkmaktadır. Kavun Türkiye’de daha çok açıkta yetiştirilmekle birlikte sıcak iklime sahip bölgelerde alçak tünel ve seralarda ilkbahar yetiştiriciliği şeklinde üretilmektedir.

Dünya nüfusu hızla artmakta olup, 2050 yılında 9 milyarı aşacağı tahmin edilmektedir. Ülkemizin de bu nüfus artışından etkileneceği ve nüfusunun 2050 yılında 95 milyonu aşacağı öngörülmektedir. Gerek dünyada gerekse Türkiye’de toprakların ve suların kirlilik oranı yükselmekte, alınan verim azalmakta, tarımsal alanların daralmasıyla birlikte küresel problemler giderek artmaktadır. Modern tekniklerin ıslah alanında kullanılması, hem bitkisel üretimde verim artışına hem de ıslah çalışmalarında yeni gelişmelerin hızlı bir şekilde yeni geliştirilen çeşitler ile piyasaya sunulmasına olanak sağlayacaktır.

Klasik yolla yapılacak bir ıslah çalışmasında istenilen amaca ulaşılabilmesi çok uzun süre almaktadır. Ancak bu sürenin haploidi tekniği ile kısaltılması mümkündür.

Bu çalışmada, kavunda haploid bitki elde edilmesi, bazı hatların morfolojik karakterizasyonu ve elde edilen double haploidlerin moleküler karakterizasyon ile *Fusarium* ssp. dayanıklılığının tespit edilmeye çalışılmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen bulguların diğer ürünlerle haploid konusunda yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacağı ve temel oluşturacağı düşünülmektedir.

Çalışmamın her aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen, bana bu araştırma konusunda doktora yapma imkânı veren, çalışmalarım sırasında her türlü olanağı sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. A. Naci ONUS’a, istatistik analizlerin yapılmasında yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Mehmet Ziya FIRAT’a,

Tezimin savunulmasındaki katkılarından dolayı değerli jüri üyeleri Sayın Prof. Dr. A. Naci ONUS’a, Sayın Prof. Dr. Ersin POLAT’a, Sayın Prof. Dr. Ece TURHAN’a, Sayın Doç. Dr. Hüsnü ÜNLÜ’ye ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Kamile ULUKAPI’ya,

Ayrıca çalışmalarımın çeşitli aşamalarında bana her konuda yardımcı olan, desteklerini esirgemeyen Arş. Gör. Burcu ÇELİKLİ’ye, Arş. Gör. Tuğçe ÖZSAN’a, Arş. Gör. Esmanur DEMİREL’e,

Tez çalışmamın başından sonuna kadar yardımlarını esirgemeyen büyük bir titizlik ile bilgi ve tecrübesini gece gündüz demeden paylaşan, her türlü özveride bulunarak yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Adem DOĞAN’a, doktora öğrencisi Yasin TOPÇU’ya, Yusuf AL-GABRİ’ye, Abobakr AL-SAGHEER’e ve Hussein IMBABI’ye,

Bana arazi ve laboratuvarlarının kapılarını ardına kadar açan başta Kuzey Agripark Ailesi olmak üzere Sayın Hasan ÜNAL’a, arazi ve laboratuvar çalışmalarımda

yardımlarını esirgemeyen, analizlerin gerçekleştirilmesinde sağladığı teknik destekten dolayı Fatma ASLAN'a, Aylin KULALI'ya, Hanife ŞAHİN'e, Buket ÇETİN'e, Z. Özgecan TANYOLAÇ'a, Tuba TIRAŞ'a ve Sevgi ACARBULUT'a,

Doktora eğitimim süresince arazi ve laboratuvar çalışmalarım esnasında maddi ve manevi desteklerini esirgmeden, moral ve motivasyon sağlamak için her türlü zorluğa katlanan Sevgili Annem Kevser İBRAHİM'e, Kıymetli Babam Prof. Dr. Abobaker TANTAWY'e, Kıymetli Kayınpederim Prof. Dr. Mustafa ELASHMONY'e, Canım Eşim Ranya ELASHMONY'e ayrıca varlıklarından güç aldığım çocuklarım Mustafa ve Yara TANTAWY'etezimin her döneminde eşsiz desteklerinden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.





## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI.....	4
2.1. Morfolojik Karakterizasyon İle İlgili Kaynak Taramaları.....	4
2.2. Dihaploidizasyon ile İlgili Kaynak Taramaları.....	7
2.3. Moleküler Karakterizasyon İle İlgili Kaynak Taramaları.....	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	16
3.1. Materyal.....	16
3.2. Yöntem.....	21
3.2.1. Genotiplerin morfolojik olarak değerlendirilmesi.....	31
3.3. Genotiplerin Moleküler Olarak Değerlendirilmesi.....	23
3.3.1. Bitkisel materyal.....	23
3.3.2. Metot.....	23
3.3.2.1. Moleküler analizler.....	23
3.3.2.2. DNA izolasyonu.....	23
3.3.2.3. DNA kalitesi ve kantitesinin belirlenmesi.....	26
3.3.2.4. Double haploid bitkilerde fusarium hastalığının moleküler tanılması.....	26
3.3.3. Karakterizasyon Çalışmaları.....	28
3.4. Verilerin İstatistiksel Analizi.....	32
4. BULGULAR.....	34
4.1. Bazı Kavun Genotiplerinin Morfolojik Özelliklerin Değerlendirilmesi.....	34
4.2. Bazı Kavun Genotiplerinin Moleküler Özelliklerin Değerlendirilmesi.....	42
4.3. Elde Edilen Embriyo ve Double Haploid Bitki Sayısı.....	46
4.3.1. Haploid ve double haploid bitkilerin ploidi seviyesinin belirlenmesi.....	48
4.4. Double Haploid Bitkilerin Fusarium'a dayanım durumlarının moleküler olarak tespit edilmesi.....	49
4.5. Double Haploid Bitkilerin Morfolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi.....	51
4.6. Double Haploid Bitkilerin Moleküler Özelliklerinin Değerlendirilmesi.....	57
5. TARTIŞMALAR.....	60
6. SONUÇ.....	62
7. KAYNAKLAR.....	64
ÖZGEÇMİŞ.....	70

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

%	Yüzde
d/dk	Devir/dakika
ppm	parts per million (milyonda bir)
s	Saniye
bp	Basepair
C	Sitozin
°C	Derece santigrad
Cm	Santimetre
g	Gram
G	Guanin
L	Litre
Mb	Megabase
mg	Miligram
ml	Mililitre
rpm	Revolution per minute (Devir/dakika)
T	Timin
Mg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
V	Volt

### Kısaltmalar

CAPS	Cleaved Amplified Polymorphic Sequence
CTAB	Cetyltrimethylammonium bromide
DNA	Deoksiribo nükleik asit
EDTA	Ethylenediaminetetracetate
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
PCR	Polymerase Chain Reaction
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RNase	Ribonuclease
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SCAR	Sequence Characterized Amplified Region
SNP	Single Nucleotide Polymorphisms
SSR	Simple Sequence Repeat
TE	Tris-EDTA tamponu
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
BAF	Biyolojik azot fiksasyonu
CIA	Chloroform: isoamylalcohol
CpSSR	Chloroplast Simple Sequence Repeat
CV	Varyans katsayısı
SNP	Single Nucleotide Polymorphisms
SSCP	Single Stranded Conformational Polymorphism
SSRLP	Simple Sequence Repeat Length Polymorphism
TAE	Tris asetat-EDTA tamponu
TE	Tris-EDTA tamponu
TİRS	Tanede ikinci renk sayısı
UV	Ultra viole

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. a) Işık kaynağı altında haploid bitkilerin kalp şeklinden ayırt edilmesinden bir görünüm b) haploid embriyodan bir görünüm .....	8
Şekil 3.1. Çalışmanın yürütüldüğü seraların genel görünümü .....	16
Şekil 3.2. a) Kavun tohum ekimi b) Kavun tohumlarının çimlenmesi c) Kavun tohumlarının fide haline gelmesi d) Kavun fidelerinin gatırlara dikilmesi e) Kavun bitkilerinde morfolojik gözlemlerin yapılması.....	16
Şekil 3.3. a) Dişi çiçekte emaskülasyon işlemi b) Emaskülasyon sonrası dişi çiçeğin kapatılması c) Erkek çiçeklerin toplanması d) Erkek çiçek ile dişi çiçeğin tozlanması e) Tozlama sonrası dişi çiçeğin kapatılması.....	17
Şekil 3.4. a-b-c-d. Tozlama sonrası hasat edilen farklı genotipte kavun meyveleri .....	18
Şekil 3.5. a) Kavun bitkisinin sterilizasyonu b) Sterilizasyon sonrasında kavun bitkisinden tohumların çıkarılması c) Kavun tohumlarının petrielerde iklim odasına alınması d) Işık altında embriyo kontrolü yapılması e) Kalp şeklinde olan embriyonun belirlenmesi f) Embriyoların MS ortamına alınması g) Embriyonun MS ortamında gelişiminin yaklaşık 1 ay sonraki hali.....	19
Şekil 3.6. a) Bitkiye uygulanacak kolhisinin hazırlanması b) Haploid kavun bitkilerinin Kolhisin uygulama öncesi köklerinin kesilmesi c) Kökleri uzaklaştırılan bitkilerin kolhisin kavanozuna atılması d) Kesilen haploid kavun bitkilerinin 2 saat kolhisinde bekletilmesi e) Kolhisin uygulamasından sonra bitkilerin MS ortamına aktarılması f) MS ortamındaki haploid bitkilerin iklim odasına alınması.....	20
Şekil 3.7. a) MS ortamından çıkan kavun bitkilerinin mini seralara alınması b) Mini serada büyüyen bitkilerin saksılara alınarak şaşırtılması c, d) Saksılara alınan kavun bitkilerinin serada gelişimi .....	21
Şekil 3.8. DNA izolasyon aşamaları a) Yaprak örneklerinin öğütülmesi, b) Öğütülen örneklerin 2 ml'lik santrifüj tüpüne koyulması, c) CTAB+β-merkaptolanol eklenmiş örneklerin kuru blokta bekletilmesi d) Örneklerin santrifüjlenmesi e) Santrifüj sonrası süpernatant f) Süpernatantın alınması, g) Soğuk isopropanol eklenerek DNA varlığının kontrol edilmesi h) Peletin kurutulması i) Peletin TE buffer içinde çözünmesi .....	25
Şekil 3.9. Multiskan™ GO Microplate Spektrofotometre .....	26
Şekil 3.10. PCR ve Agaroz Jel Hazırlanması. a) PCR ön hazırlık işlemi, b) Hazırlanan PCR ürününün Thermal Cycler Cihazına yerleştirilerek reaksiyon kurulması, c) Agaroz Jelin Mikrodalga Fırında Kaynatılması, d) Jel İçerisine Ethidium Bromide Eklenmesi, e)	

Hazırlanan Agaroz Jelin Platelere Dökülmesi, f) PCR Ürünlerinin agazor jele yüklenmesi, g) Jel görüntüleme sisteminde bantların fotoğrafının çekilmesi .....	32
Şekil 4.1. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği özelliklerin dağılımı .....	38
Şekil 4.2. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği genotiplerin dağılımı.....	39
Şekil 4.3. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği 17 genotip ve 13 özelliğin birlikte yer aldığı ikili-grafik.....	40
Şekil 4.4. Kullanılan özelliklerin kümeleme analizi ile sınıflandırılması.....	41
Şekil 4.5. Genotiplerin kümeleme analizi ile sınıflandırılması.....	42
Şekil 4.6. CMCT 134b primerinin genotiplerdeki polimorfik görüntüsü .....	42
Şekil 4.7. TJ 24 primerinin genotiplerdeki polimorfik görüntüsü .....	43
Şekil 4.8. CMIA 134a primerinin genotiplerdeki polimorfik görüntüsü .....	43
Şekil 4.9. CMGAN 80 primerinin genotiplerdeki polimorfik görüntüsü .....	43
Şekil 4.10. CMAGN 73 primerinin genotiplerdeki polimorfik görüntüsü .....	43
Şekil 4.11. CMGA 172 primerinin genotiplerdeki polimorfik görüntüsü .....	44
Şekil 4.12. CMTCN 18 primerinin genotiplerdeki polimorfik görüntüsü .....	44
Şekil 4.13. Moleküler verilerin Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği genotiplerin dağılımı .....	45
Şekil 4.14. Moleküler verilerin kümeleme analizi sonucu 17 genotipin sınıflandırılması .....	45
Şekil 4.15.a) Haploid kavun bitkisi stoması, b) Double haploid kavun bitkisi stoması .....	48
Şekil 4.16.a) Haploid ve double haploid bitkilerin yaprakları, b) Haploid ve double haploid bitkilerinin çiçekleri .....	48
Şekil 4.17. Double haploid bitkilerin Fusarium 0,1 ırklarına karşı genotiplerin dayanımının moleküler olarak tespiti.....	49
Şekil 4.18. Double haploid bitkilerin Fusarium 2 ırklarına karşı genotiplerin dayanımının moleküler olarak tespiti.....	50

Şekil 4.19. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği özelliklerin dağılımı .....	53
Şekil 4.20. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği genotiplerin dağılımı .....	54
Şekil 4.21. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği double haploid genotip ve 6 özelliğin birlikte yer aldığı ikili-grafik.....	54
Şekil 4.22. Kullanılan 6 özelliğin kümeleme analizi ile sınıflandırılması .....	55
Şekil 4.23. Double haploid bitkilerin genotiplerin kümeleme analizi ile sınıflandırılması .....	56
Şekil 4.24. Moleküler verilerin Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği double haploid bitkilerin genotipik dağılımı .....	57
Şekil 4.25. Double haploid bitkilerin moleküler verilerin kümeleme analizi sonucu genotipik olarak sınıflandırılması .....	58

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Kullanılan Primer Bilgileri (SSR).....	26
Çizelge 3.2. Kullanılan Primer Bilgileri (CAPS).....	27
Çizelge 3.3. Kullanılan Primerlerin Listesi.....	29
Çizelge 4.1. Morfolojik karakterizasyonu yapılan genotiplerin tanımlayıcı istatistikleri.....	34
Çizelge 4.2. Morfolojik özellikler arasındaki korelasyon katsayıları ve anlamlılıkları.....	35
Çizelge 4.3. Çalışılan özelliklerin genotiplere göre ortalama değerleri.....	36
Çizelge 4.4. Temel Bileşen Analizinden (TBA) elde edilen ilk 5 Eigen değeri ve %'de açıklanabilir varyans .....	37
Çizelge 4.5. Morfolojik özelliklere ait Temel Bileşen Analizi değerleri.....	37
Çizelge 4.6.Farklı kavun genotiplerinde meyve sayısı, embriyo sayısı, anormal embriyo, kolhisin uygulanan bitki ve double haploid bitki sayıları ile meyve başına embriyo, anormal embriyo, double haploid bitki oranları ve double haploid bitki yüzdesi üzerine etkileri .....	47
Çizelge 4.7. Morfolojik karakterizasyonu yapılan genotiplerin tanımlayıcı istatistikleri.....	51
Çizelge 4.8. Morfolojik özellikler arasındaki korelasyon katsayıları ve anlamlılıkları .....	51
Çizelge 4.9. Temel Bileşen Analizinden (TBA) elde edilen ilk 5 Eigen değeri ve %'de açıklanabilir varyans. ....	52
Çizelge 4.10. Morfolojik özelliklere ait Temel Bileşen Analizi değerleri.....	52

## 1. GİRİŞ

Türkiye, gerek coğrafi konumu gerek ekolojik avantajları sayesinde dünya üzerinde yetiştiriciliği yapılan çok sayıda bahçe ürününün anavatanı ve üreticisi konumundadır (Ağaoğlu vd 1997). Türkiye, 2015 yılı verilerine göre 29.552.290 ton sebze üretimi ile Çin, Hindistan ve Amerika Birleşik Devletleri'nden sonra dünyanın 4. büyük sebze üreticisi konumundadır (TUİK 2014).

Türkiye sebze yetiştiriciliğinde *Cucurbitaceae* familyası önemli bir yere sahiptir. Kavun bitkisinin botanik sınıflandırması aşağıdaki gibidir;

Âlem : *Plantae*

Şube : *Magnoliophyta*

Sınıf : *Magnoliopsida*

Takım : *Cucurbitales*

Familya : *Cucurbitaceae*

Cins : *Cucumis*

Tür : *Cucumis melo*

*Cucurbitaceae* familyasında yer alan kavun (*Cucumis melo* L.) yüksek besin değerine sahip ve üretimi gün geçtikçe artan önemli bir sebze türüdür. Anavatanı arasında Türkiye'de bulunan kavun dünyada yaklaşık 29.4 milyon ton üretilmektedir. Dünya kavun üretiminde söz sahibi ülkeler sırasıyla; Çin, Türkiye, İran, Mısır, Hindistan, Amerika Birleşik Devletleri, İspanya, Kazakistan ve Fas'tır (FAO 2013).

Türkiye sebze üretimi içerisinde kavun 1.707.302 ton ile önemli bir yere sahiptir. Türkiye kavun üretimi incelendiğinde, Ankara (184.933 ton), Adana (128.428 ton), Antalya (104.378 ton), Manisa (103.531 ton), Denizli (97.686 ton) illeri üretim miktarları ile ön plana çıkmaktadır (TUİK 2014).

Türkiye'de kavun yetiştiriciliği bölgesel bazlı incelendiğinde Orta Anadolu, Ege, Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz bölgeleri ön plana çıkmaktadır. Türkiye 'de kavun yetiştiriciliği yaygın olarak açık arazi koşullarında yetiştirilmektedir. Bununla birlikte sıcak iklim bölgelerinde hem alçak tünellerde hem de seralarda ilkbahar yetiştiriciliği şeklinde üretilmektedir (Yılmaz 2009).

Dünya nüfusu son 65 yıldır artışını sürdürerek 2015 yılında 7.3 milyara ulaşmış ve bu artış hızıyla 2050 yılında 9 milyarı aşacağı tahmin edilmektedir. Ülkemizin de bu nüfus artışından etkileneceği ve ülkemizin nüfusunun 2050 yılında 95 milyonu aşacağı tahmin edilmektedir (FAO 2015). Ancak, dünyadaki nüfus artış hızına karşılık mevcut meyve ve sebze üretim alanlarında beklenen artış ya da yüksek düzeyli kaliteli hatların ıslahı kısa sürede gerçekleştirilememektedir. Gerek dünyada gerekse Türkiye'de bilinçsiz kullanımla birlikte topraklarda kirlilik artmakta, alınan verim azalmakta, tarımsal alanlar daralmakta, küresel problemler nedeniyle sular kirlenmekte ve sulamaya yönelik ihtiyaç giderek artmaktadır (Doğan 2011). Modern tekniklerin ıslah alanında kullanılması, hem bitkisel üretimde verim artışına hem de ıslah çalışmalarında yeni gelişmelerin hızlı bir şekilde yeni geliştirilen çeşitler ile piyasaya sunulmasına olanak sağlayacaktır.

Günümüzde bitki fizyolojisi, bitki biyokimyası ve moleküler biyoloji alanlarındaki gelişmeler ve bazı yeni tekniklerin kültürü yapılan bitkilere uygulanabilmesiyle ıslah alanında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Bitki biyoteknolojisi kavramı; bitki organ, doku ve hücrelerinin suni besin ortamlarında kültüre alınması ve genetik olarak değiştirilme tekniklerinin bütünü olarak tanımlanmakta ve klasik ıslah yöntemleriyle çözümü güç olan problemlerin çözümünde alternatif yaratan, ekonomik, kaliteli, verimli, bitkisel üretimin gerçekleşmesini amaçlamaktadır (Özsan 2014).

Klasik yolla yapılacak bir ıslah çalışmasında istenilen amaca ulaşılabilmesi çok uzun süre almaktadır. Ancak, bu sürenin haploidi tekniğiyle kısaltılması mümkündür (Segui-Simarro vd 2011). Bu durum, Ellialtıoğlu vd (2001), tarafından şöyle açıklanmaktadır; somatik hücrelerindeki kromozom sayısı, ait oldukları bitki türünün gamet hücrelerinde bulunan kromozom sayısı kadar olan bitkilere haploid bitkiler adı verilmektedir. Haploid bitkilerin kromozom sayılarının katlanması sayesinde %100 homozigot saf hatlar elde edilebilmektedir. Böylece uzun yıllara gereksinim duyan saflaştırma işlemi, birkaç ay gibi kısa bir sürede yapılabilmekte; kombinasyon ıslahı ve F<sub>1</sub> hibrit çeşit ıslahı programlarında zaman yönünden önemli düzeyde kazanç sağlanabilmektedir. ıslah süresinin kısalmasının yanı sıra klasik ıslahta görülmesi mümkün olmayan resesif genlerin kontrol ettiği özellikler ortaya çıkmaktadır.

Moleküler biyoloji çalışmaları 1990'dan beri hızlı bir gelişme göstermektedir. Yaşanan gelişme sayesinde ıslah hedeflerine yönelik uygulamalardan yararlanarak ıslah sürecinin hızlandırılması ve etkinliğinin artırılmasına olanak sağlanmıştır (Tester ve Langridge 2010).

Geniş ve kapsamlı kullanım olanağı bulunan moleküler uygulamalar genel olarak, genomik yaklaşımlarla kalitatif veya kantitatif nitelikteki agronomik özelliklerin genetik mekanizmasının açıklanmasında, gen bölgelerinin ve genlerin tespitinde, agronomik özelliklerle ilişkili markırların belirlenmesinde kullanılmaktadır. Geliştirilen bu moleküler markırlar ile gen kaynaklarının taranması, ıslah sürecinde ilgili özelliği genetik olarak taşıyan bireylerin seçimi ve ıslah çalışmalarının bu bilgiler ışığında sürdürülmesi mümkün olmaktadır (Collard ve Mackill 2008).

Moleküler çalışmalar, ıslah edilen çeşitlerin tescil ve üretim aşamalarında, çeşit saflığı ve hibrit bitki tanısında, ıslahçı haklarının korunmasında da kullanılmaktadır. Son yıllarda, yeni nesil dizileme cihazlarının geliştirilmesiyle, pek çok türde genom dizileme çalışmaları hız kazanmıştır. Söz konusu yeni teknolojiler, moleküler marker sayısının artmasına, detaylı gen haritalarının oluşturulmasına, genetik ve fiziksel haritaların ilişkilendirilmesine imkan tanımıştır (Sim vd 2012).

Kavun üretiminde en önemli hastalık problemi fusarium olarak gözükmektedir. Sürdürülebilir kavun üretimi için fusariuma karşı dayanıklı çeşitlerin kullanılması ve geliştirilmesi gerekmektedir (Ünlü vd 2014).

Daha gelişmiş ve daha başarılı bir ıslah programı elde etmek için genotiplerin çeşitlenmesi ve farklı ebeveynler seçip genetik değişikliklerin doğası ve hacmi hakkında kapsamlı bilgiler toplamak gerekmektedir. Elde edilen bu genetik



popülasyonlarda moleküler markırlar kullanılarak istenilen özelliğe sahip genotiplerin tespit edilmesi, ıslah alanında önemli gelişmelerin olmasını sağlamıştır.

Bu çalışmada, bazı hatların morfolojik ve moleküler karakterizasyonu, bu hatlardan haploid ve double haploid bitkilerin elde edilmesi, elde edilen double haploidlerin morfolojik ve moleküler karakterizasyon ile double haploid hatlarda markır yardımıyla *Fusarium* ssp. dayanıklılığının tespiti çalışılmıştır. Ayrıca, çalışmada hem hatların hemde elde edilen double haploid bitkilerin heterotik gruplandırılması yapılmıştır.

## 2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

### 2.1. Morfolojik Karakterizasyon İle İlgili Kaynak Taramaları

Reddy vd (2012) Hindistan'da kavun üzerine yaptıkları çalışmada, 35 kavun genotipini ilkbahar sezonunda tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü olacak şekilde yetiştirmiş ve 18 morfolojik özelliğe göre değerlendirmişlerdir. Kümeleme analizleri 35 farklı kavun genotipini 6 farklı kümeye ayırmıştır. Küme II, 22 genotiple en fazla genotip içeren küme olur iken, bunu Küme I, 8 genotiple izlemiştir. Bu grupları Küme IV, 2 genotiple, Küme III, V, ve VI'da birer genotiple izlemiştir. Kümeleme içerisindeki  $D^2$  0.00'dan (III, V ve VI) 85.514'e (IV) kadar uzanırken, I. ve II. kümede  $D^2$  94.56'dan küme I ve IV'de 753.29'a kadar uzanmıştır. Genotip olarak en fazla farklılık I ve VI'da 753.29, IV ve VI'da 590.55 ve II ve IV'de 529.79 olmuştur. Oluşan kümeler suda çözünür kuru madde, çekirdek verimi, uç çiçeğin gözükeneye kadar geçen süre, ortalama meyve ağırlığı açısından farklılık göstermiştir. Kümeleme analizi sonucunda oluşan bu üç kümenin ıslah programlarında kullanılabilir olduğunu ifade etmişlerdir.

Abou Kamer vd (2015) kavunda yaptıkları çalışmada, 5 kavun hattını kendi aralarında çaprazlayarak 10 adet  $F_1$  kavun elde etmiştir. Daha sonra elde edilen  $F_1$ 'ler kendilenmiştir. Kendilenmiş  $F_1$ 'lerde, hibrit heterosis, kalıtım derecesi, kendilenme depresyonu, gen çifti sayısı incelenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre, çalışılan tüm özellikler bakımından heterosis sağlanmıştır. Bir çok hibritin; yan dal sayısı, çiçeklenme zamanı, olgunlaşma zamanı, meyve kabuk rengi, suda çözünür kuru madde miktarı ve vitamin C bakımından yüksek kalıtım gösterdiği belirtilmiştir. Öte yandan bitki uzunluğu ve meyve eti kalınlığının dar kalıtım gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bir çok hibritin bitki uzunluğu, olgunlaşma zamanı, suda çözünür kuru madde ve C vitamini bakımından kendilenme depresyonu gösterdiği tespit etmişlerdir.

Kitroongruang vd (1992) Tayland'da hem kurak hem de yağışlı olmak üzere iki farklı mevsimde 5 farklı Amerikan kavunu çeşidi üzerine yaptıkları çalışmada, kavunların heterosis, genetik varyasyon, genel ve özel kombinasyon yeteneklerini araştırmışlardır. Çalışmada kavunların bitki boyu, toplam meyve sayısı, meyve ağırlığı, net yoğunluğu, suda çözünür kuru madde ve meyve şekilleri incelenmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, 5 farklı Amerikan kavununun ebeveynleri ile çaprazlanmasıyla elde edilen hibritler heterosis göstermiştir. İstenilen karakterler bakımından hibritler ile ebeveynler arasında bitki boyu dışında oldukça yüksek bir korelasyon olduğu ve elde edilen hibritlerin dişi çiçek sayısı ebeveynlere oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada erkek ebeveynlerin genel kombinasyon yeteneği ile özel kombinasyon yeteneği, dişi ebeveynlerin genel kombinasyon yeteneklerinden hibritler arasında araştırılan bütün özellikler bakımından sadece meyve şekli hariç büyük bir varyasyon gösterdiği belirtilmiştir.

Reddy vd (2013)'nin yaptığı çalışmada Hindistan'dan toplanan 35 germplazm hattı toplanıp erkencilik ve meyvecilik kalitesi açısından gruplandırılmış ve genotiplerin 6 grupta toplandığı tespit edilmiştir. Bu gruplandırma sonucunda, 1.grup 8 genotip, 2.grup 22 genotip, 4.grup 2 genotip, 3, 5 ve 6. gruplar ise tek bir genotip olarak ayrılmıştır. Aralarında morfolojik değişikliği tanımlamak için bu

genotipler 18 morfolojik özellik (filiz uzunluğu, her filizdeki dal sayısı, ilk erkek vadişi çiçek oluşum zamanı, ilk dişi çiçek nodu, ilk ve son hasar tarihi, meyve çapı ve uzunluğu, ortalama meyve ağırlığı, filizdeki meyve sayısı, meyve iç boşluğunun uzunluğu ve çapı, kabuk ve et kalınlığı, suda çözünebilir kuru madde miktarı, tohum miktarı ve verim) bakımından değerlendirilmiştir. Ön değerlendirmede oluşturulan gruplar içinde morfolojik değişikliğin az olduğu, fakat gruplar arasında farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu bildirilmiştir.

Jose vd (2005) kavunda heterosisin meyve şekli ve genetik korelasyonu üzerine etkilerini incelemişlerdir. Bu amaçla, 12 genotip ve 'Piel de Sapo' çeşidi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan tohumlar ya self polinasyondan çıkan ya da 'Piel de Sapo' genotipi ile olan polinasyondan çıkan bitki tohumlarıdır. Her genotipten 10 tohum ve 'Piel De Sapo' genotipinden 20 tohum ekilip yumurtalık şekli, meyve ağırlığı, meyve boyu ve meyve çapı gibi morfolojik özellikler değerlendirilmiştir. Yeni genotipler ile 'Piel de Sapo' genotipi arasında büyük bir fark olduğu ve en iyi hibridleşme gücünün meyvenin şekil özelliği olduğu tespit edilmiştir. Meyve şekli ile boyu arasında güçlü bir ilişki olduğu ve bu hibrid meyve şeklinin meyvenin dikine genişlemesine bağlı olduğu bulunmuştur. Ayrıca, meyve şekil özelliğinin heterozisi ile genetik boyut arasında büyük bir ilişki olduğu tespit edilmiş olup kavunun poligenik olduğu ve bu özelliğinin de kavunun genetik alanda büyük bir role sahip olmasını sağladığını bildirmişlerdir.

Waters (2015) kavunda meyve kalitesi ve morfolojisini belirlemek üzere yapmış oldukları çalışmada, kavunun çok büyük bir genetik popülasyona sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bu büyük popülasyon sayesinde, ıslah programları ile renk, hacim ve şeker oranı gibi özellikleri, gelişen genetik teknolojileri ile kontrol etmenin mümkün olduğunu belirlemişlerdir. Farklı özellikler üzerine DNA'yı genotiplerden izole edip spektrofotometre yardımıyla değerlendirmişlerdir. Bu çalışma sonucunda katı madde konsantrasyonunun, toplam suda çözünebilir şeker içeriğinin meyve ağırlığı ve genişliği ile ilişkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Kavunun morfolojik özellikleri ile oynamanın tat üzerine etkili olmadığı ve yumurtalığın meyve şekli ile olumlu bir ilişkisi olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, çoğu ekonomik özelliğin birçok gen tarafından kontrol edildiği, toplam meyve sayısının meyve genişliği dışında hiçbir özellik ile ilişkisi olmadığını belirtmişlerdir. Flexousus ve Cantalupensis meyve ile 6 morfolojik özellik açısından genetik mesafenin olmadığı anlaşılmıştır. Çalışma sonucunda kavunda yumurtalık şekli; boyu ve genişliği, meyve boyu ve genişliği, yumurtalık şekli ve meyve rengi gibi çoğu özellikler arasında bir bağlantı olduğunu bildirmişlerdir.

Munshi vd (2005) 6 ebeveyn hat ile 15 F<sub>1</sub> hıyar hibritini verim ve verimi etkileyen faktörlerin heterozisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, F<sub>1</sub> hibritleri elde ederken, toplam meyve sayısı, meyve ağırlığı, meyve uzunluğu ve genişliği, meyve eti kalınlığı, bitki verimi ve hasat zamanı özelliklerini dikkate almışlardır. Meyve uzunluğu hariç, istenilen tüm özellikler bakımından heterozis sağlanmıştır. Hibritlerden elde edilen verimin, meyve sayısı, meyve eti kalınlığı ve meyve ağırlığına bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir. P1, P4 ve P5 genotipleri ortalama bitki verimi bakımından yüksek bulunmuştur. Verim için en iyi üç hibrit P1xP5, P4xP5 ve P1xP6 olmuştur.

Ekiz vd (1999) fusariuma dayanıklı F<sub>1</sub> bireylerinin elde edilmesi amacıyla, 42 hıyar tohumu ile 417 kavun tohumundan oluşan populasyonu değerlendirmiştir. Genotiplere ekim tarihinden 7-10 gün sonra 0,591 konsantrasyonda AgNO<sub>3</sub> bileşiği uygulanmıştır. Uygulamanın haftada 3 kere tekrarlanmasının Gynocious gruplarında erkek çiçeklerin açılmasını teşvik ettiği belirtilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda Galia kavununun F<sub>1</sub> hibridinin (Coşkun 1071) ortalama meyve ağırlığı 1600 g, rengi açık yeşil, büyümesi güçlü, erkenci ve taşınıp depolanması kolay olarak tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Öztürk 1453 F<sub>1</sub> çeşidinin ise fusarium hastalığına dayanıklı, ortalama meyve ağırlığı 1500 g, rengi açık yeşil, erkenci ve taşınıp, depolanmasının kolay olduğu da belirlenmiştir. Ayrıca, Dirgit 1176 F<sub>1</sub> çeşidinin fusarium hastalığına karşı dayanıklı, ortalama meyve ağırlığı 1500g, erkenci, rengi sarı ile beyaz arasında ve meyve aromasının iyi olduğunu bildirmişlerdir.

Robinson (2000) kabakgillerde heterozisin özellikle erkencilik ve verim açısından oldukça önemli olduğunu vurgulamıştır. Kabakgillerde hastalıklara dayanıklılıkla ilişkili bir çok gen bulunmaktadır. Çalışmada hastalıklara dayanıklılık açısından F<sub>1</sub>'leri kullanmıştır. Kendilemekabakgillerde hibrit tohum eldesi için önemli bir faktör değildir. Kabak çeşitleri arasında bir takım hibritler ıslah edilip, daha kaliteli hibritler elde edilmiştir. Özellikle çekirdeksiz triploid hibrid bunlardan bir tanesidir.

Kabır vd (2009) farklı genotipik özelliğe sahip sivri su kabaklarını farklı özellikler açısından karşılaştırmışlardır. Bu amaçla, Bangladeş'te yetiştiriciliği yapılan 24 sivri kabak genotipini 9 özellik (çiçeklenme, düğüm sayısı, meyve boyu, genişliği ve ağırlığı, meyvedeki tohum oranı, toplam meyve sayısı, ağırlığı ve verim) yönünden aralarındaki değişiklik derecesi ve genetik boyutunu tanımlamışlardır. Çalışma sonucundan 24 genotipi, genotipler arasındaki akrabalık derecesi ve morfolojik özelliklerinin benzerliği temeline dayanarak 6 gruba ayırmışlardır. Bu çalışmalar sonucunda gruplar arasındaki hem genetik çeşitliliğin hem genetik boyutun aynı grup içindeki genotipler arasındakini geçtiği saptanmıştır. Gruplar arasındaki en yüksek grup içi genetik yakınlık mesafesi IV. grup içinde (35,80) iken, en küçük grup içi yakınlık derecesi III. grup içinde (18,37) tespit edilmiştir. Gruplar arasında en yüksek mesafenin II. ve IV. gruplarında (41,56) olduğu saptanırken, en düşük mesafenin ise III. ve II. gruplar (6,84) olduğunu tespit etmişlerdir.

Cardoso (2006) 6 "Caipira" tipi hıyar hattının diallel çarpazlanması ile melezlenmiş ve kontrol olarak kullanılan çeşitler ile birlikte, pazarlanabilir meyve miktarı, oranı, bitki başına düşen toplam meyve ağırlığı gibi özellikleri araştırmıştır. Araştırmadan elde edilen sonuç ise en yüksek heterozis gösteren hibritte, kontrol grubuna göre yaklaşık %50 oranında heterozis sağlamıştır.

López-Sese ve Staub (2002) hıyarda yaptıkları çalışmada, verim bileşenleri üzerinde durmuşlardır. Araştırmacılar, meyve sayısı, meyve uzunluğu, çapı, yan dal sayısı ve dişi çiçek sayısı gibi özellikleri incelemişlerdir. Genel kombinasyon yeteneği tüm uygulamalar için önemli bulunurken, özel kombinasyon yetenekleri ise sadece meyve sayısı bakımından önemli bulunmuştur.

Moushumi ve Sirohi (2006) hıyarda yaptıkları çalışmada, daha önceden belirlenen potansiyel 10 hat ve çeşitlerine yarı diallel melezleme yaparak F<sub>1</sub> hibrit elde etmeye çalışmışlardır. Araştırmada, bitki boyu, ilk erkek ve dişi çiçek açma zamanı, ilk dişi çiçeğin boğum sayısı, ilk hasat zamanı, meyve ağırlığı ve bitki başına düşen meyve verimi gibi kalite ve verim kriterleri incelenmiştir. Belirlenen gruplar kendi içerisinde değerlendirildiğinde, genetik mesafenin en fazla olduğu grup 35.80 ile IV grup, en az olduğu grup ise 18.37 ile III.grup olarak tespit edilmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre, tüm karakterlerde süperdominansinin önemli etkisi ortaya çıkmıştır. Hıyarda, ayrıca eklemeli olmayan genlerin dominantlığı ile kalıtımın düşüklüğü sebebiyle heterozis ıslahının avantajlı olabileceği vurgulanmıştır.

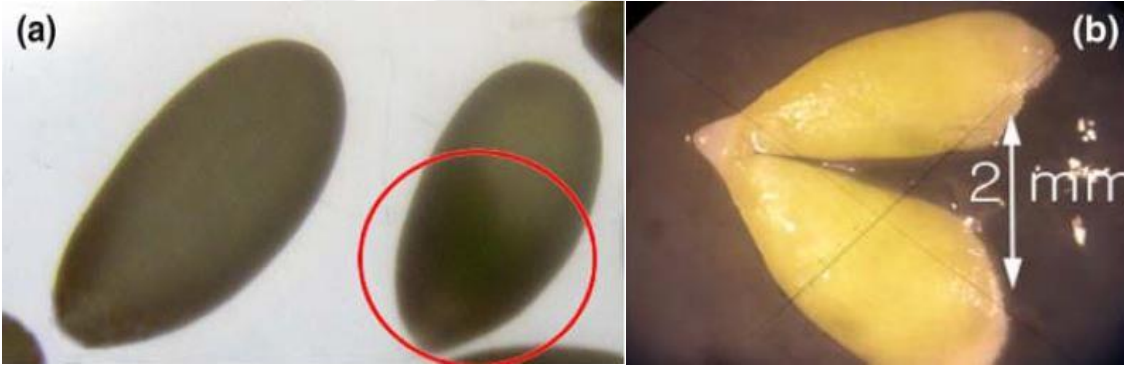
## 2.2. Dihaploidizasyon ile İlgili Kaynak Taramaları

Arıvd (2010) kavunda farklı embriyo kurtarma tekniklerini karşılaştırmışlardır. Yapılan çalışmada hastalık dayanımı yüksek olan F<sub>1</sub> hibritler, çalışma materyali olarak kullanılmıştır. Partenokarpiyi teşvik etmek için 300 (Gy) gama ışını uygulanmıştır. Işınlanan polenler bir gün sonra dişiçiğe uygulanmıştır. Yapılan çalışmada 314 çiçek tozlanmış ve toplam 246'sı meyve tutmuştur. Işınlanan polenlerden en yüksek polinasyon oranı %95 ile ikinci polinasyon olmuş, ortalama değer ise %72 olmuştur. 3-4 haftalık meyvelerden embriyo kurtarma tekniği olarak 3 farklı metot denenmiştir. M1, embriyoları tohumlardan tek tek çıkartarak kurtarmak; M2, tohumları bir petri kabına koyarak embriyoları kurtarmak; M3, embriyoları bir ışık kaynağı yardımı ile tohumlardan kurtarmak şeklinde uygulanmıştır. Hasat edilen 246 meyveden, 204 tanesi açılmış ve açılan meyvelerden 280 haploid, 44 diploid ve 8 miksploidi olmak üzere toplam 332 embriyo elde edilmiştir. Haploid olan embriyolar kalp şeklinde olmasından dolayı kolay bir şekilde ayırt edilebilmişlerdir. Elde edilen haploidlerde ise çimlenme oranı %96 olarak bulunmuştur. Metotlar karşılaştırıldığında ise M1 için geçen süre; 162 dk., M2 için geçen süre; 125 dk. ve son olarak M3 için geçen süre;49 dk. olmuştur. Metot 3 düşük iş gücü, zamandan ve maliyetten kazanç olarak en etkili yöntem olarak bulunmuştur.

Yetişir ve Sarı (2003) kavunda yaptıkları çalışmada, haploid bitkiden diploid bitki elde etmek için 3 farklı metot denemişlerdir. Kolhisin uygulanan bitkilerin Ploidy seviyesini belirlemek için hem morfolojik hem de sitolojik (flow cytometry) gözlemlerden yararlanılmıştır. Işınlanma için 300 gray Co<sup>60</sup> gama ışını kullanılmıştır. Embriyolar 21-25 günlük olgun olmayan meyvelerden kurtarılmışlardır. Daha sonra ise E20A ortamında kültüre alınmışlardır. Fideler *in vitro* koşullarında köklenmeden ve şaşırtılmadan önce %0.5'lik kolhisine batırılmıştır. Diğer iki uygulama ise bitkiler 50cm olduğunda uygulanmış ve bir önceki uygulama ile karşılaştırılmıştır. %1'lik mineral yağ içerisinde %0.5'lik kolhisin 3. ve 4. yan tomurcuklara 2-3 damla (250 µl) olacak şekilde damlatılmıştır. 3. Metotta ise 16 cm'lik test tüpün içerisine bandırılan sürgün ucu, yaklaşık 2 saat bu solüsyon içinde kalmış daha sonra ise musluk suyunda yıkanmıştır. En yüksek kromozom katlanma oranı sürgün ucu daldırmasından elde edilmiştir. Bu uygulamada tüm bitkiler normal büyümesine devam etmiş (normal yaprak ve çiçek), ve %90'nı dihaploid olmuştur. *In vitro* koşullarda ise elde edilen dihaploid oranı yalnızca %21.7 olmuş ve istenilen sonucu vermemiştir. Yan tomurcuklara 2-3 damla olacak şekilde yapılan kolhisin uygulaması ise herhangi birolumlu sonuç vermemiş ve hiç

dihaploid bitki elde edilememiştir. Işınlanan polenler ile bir gün sonra tozlama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Lim ve Earle (2008) kavunda yaptıkları çalışmada, *in vitro* ve *in vivo* kolhisin uygulamalarının ışınlanmış polen tekniği ile elde edilen bitkilerin meyve ve polen üzerine etkilerini araştırmıştır. Haploid yada doublehaploid teknolojisinin homozigot hatların elde edilmesini hızlandıran bir yöntem olarak öne çıktığını bildirmişlerdir. Cornell Üniversitesi'nde Dr.Molly Jahn'ın kavun ıslah programından alınan 3 hibrit genotipi (521,518 ve 510) başlangıç materyali olarak kullanılmıştır. 250 gray ( $Cs^{137}$ ) ile ışınlanan polenler bir gün oda sıcaklığında 35 mm'lik petri kaplarında depolandıktan sonra tozlama işlemi gerçekleştirilmiştir.. Tozlanmadan 3 hafta sonra elde edilen meyvelerden kalp şeklindeki embriyoları içeren tohumlar seçilerek *in vitro* koşullarda yetiştirilmeye başlanmıştır (Şekil 2.1). Sürgünler 1-1.5 cm olunca, sürgünler Magenta kutularına aktarılmıştır. Hızla büyüyen sürgünler yapraklarından arındırıldıktan sonra küçük kavonozlar içerisinde 25 ml'lik kolhisin solüsyonuna (500 ve 1000 mg/l) koyulmuştur. 3 saat 100 rpm çalkalayıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra büyümeye devam eden fideler 1000 mg/l kolhisine 12 saat ya da 5000 mg/l kolhisine 2 ila 4 saat bandırılmıştır. En etkili *in vitro* prosedürünün 3 cm'lik fideyi 500 mg/l kolhisine 3 saat süre ile uygulanması olduğunu tespit etmişlerdir. Bu uygulama %83'lük canlılık oranı sağlarken, %26 diploide dönüşme sağlamıştır. *In vivo* koşullarında uygulanan 5000mg/l 2-4 saatlik kolhisinle az miktar meyve elde edildiği, daha az yaşamsal faaliyet, daha çok morfolojik anormallikler gösterdiği tespit etmişlerdir(Şekil 2.1).



Şekil 2.1. a) Işık kaynağı altında haploid bitkilerin kalp şeklinden ayırt edilmesinden bir görünüm b) haploid embriyodan bir görünüm

Custers ve Bergervoet (1984) yaptıkları çalışmada *Cucumis melo* var. Noy Yizrael'in farklı dozlarda (0, 10, 100 ve 1000 Gy) ışınlanmış polenleri ile *Cucumis sativus* var. *hardwickii*'yi tozlamışlardır. Meyveler tozlama işleminden 3 hafta sonra hasat edilmiş embriyo ve endosperm boyutları incelenmiştir. 10 Gy ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmadığını buna ilaveten ışın dozları arttıkça da ölçülen değerlerde azalmalar meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Dumas de Vaultx (1979) yapmış olduğu çalışmada kavunu (*Cucumis melo* L.) ( $2n=24$ ), *Cucumis ficifolius* ( $2n=4x=48$ ) ile tozlayarak türler arası melezlemeler yapmıştır. Araştırmacı, polenlerin çim borusu gelişimini uyarmak amacı ile stigmalarını yüzeysel olarak kestiği dişi çiçekleri, kavun polenleri ile tozlamış ve meyveler elde

etmiştir. Meyvelerden elde edilen tohumlar tekrar ekildiğinde melez bitki çıkmadığı, buna karşılık daha küçük boyutlu bitkilerin geliştiği görülmüştür. Araştırmacı, bu bitkilerde yaptığı kromozom sayımları sonucu, bunların haploid yapıda olduklarını; haploidi oranlarının ise ilkbahar aylarında % 0.284, sonbaharda ise % 0.07 olduğunu bildirmiştir.

Sauton (1987) kavunda yapmış olduğu çalışmada partenogenesisi teşvik etmek için 30 Kraddan daha fazla ışın dozuna ihtiyaç olduğunu bildirmiştir. Sauton ışınlanmış tohumlarla tozlanan bitkilerden hasat edilen meyvelerde (3-5 hafta) yapmış olduğu hesaplamalarda 100 adet tohumdan yalnızca 3 tanesinin haploid embriyo olduğunu saptamış ve bu miktarın ışın dozuna bağlı olarak değiştiğini bildirmiştir. Ayrıca Sauton *in vitro* koşullarda çekirdeklerin 5g/l kolhisin solüsyonunda 2 saat süreyle tutulmasının en iyi sonucu verdiğini bildirmiştir.

Lotfi vd (2003) kavunda yaptıkları çalışmada, ıslahta birden fazla virüse dayanıklılık için haploid ve doublehaploid kullanmışlardır. Bu kapsamda ışınlanan polenlerle elde edilen tohumlar bir besi ortamında 10 gün boyunca kültüre alınmıştır. Daha sonra ise embriyolar kurtarılmıştır, bu işlemin en büyük avantajı tohumların partenogenez embriyo içerip içermediğinin kolayca anlaşılmasıdır. Böylelikle maliyet ve harcanan çaba azalmıştır. Elde edilen bitkiler daha sonra değerlendirme için seraya alınmıştır. 3 adet verimli hat tanımlanmıştır. Flow sitometri bu elde edilen 3 hattan 2 tanesinin double haploid olduğunu, üçüncüsünün ise mikroploid olduğunu bildirmiştir. Seradaki kolhisin uygulamaları başarısız olmuştur. Haploid bitkilerden elde edilen sürgün uçları *in vitro* kültür için kullanılmıştır. 167 adet mikropropagattan 10 diploid bitki ve 100 mikroploid bitki elde edilmiştir. *In vitro* koşullarında kolhisin uygulanmış bitkilerden elde edilen erkek polenler araştırılmıştır. Elde edilen polenlerin %60'ından fazlasının mikroploid yada haploid olduğu flow spektrometri ile tespit edilmiştir.

Munshi ve Verma (1997) kavunda yaptıkları çalışmada 15 adet F<sub>1</sub> hibridin bahar ve yaz sezonundaki performans, verim ve bu özelliklere katkı yapan heterosis oranını araştırmışlardır. Elde edilen bulgulardan çıkan sonuçlara göre, erkencilik ve verim arasında paralellikler göze çarpmıştır. En yüksek verim, erkenci bitkilerden sağlanmış ve meyve sayısı ile meyve ağırlığında artış olduğu belirlenmiştir.

Sulochanamma (2001) kavun (*Cucumis melo* L.) tiplerinde yapmış olduğu çalışmada, heterosis üzerine yoğunlaşmış ve en yüksek heterosis oranını yaklaşık %85 oran ile toplam verimde bulmuştur. Hibritler ebeveynleriyle karşılaştırıldığında ebeveynlerin verimleri, hibritlere nazaran daha düşük bulunmuştur.

Solmaz vd (2011) kavun ıslah programında dihaploid bitki elde etmek için *in vivo* ve *in vitro* koşullarda kolhisin kullanımının etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada, 'Kırkağaç' ve 'Yuva Hasanbey' kavun çeşitleri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, kolhisin ve gama ışınlarının uygulanmasının dihaploid elde etmeye olumlu etki yaptığını bildirmişlerdir. Araştırma sonucunda *in vivo* koşullarda 2 saat süre ile sürgün ucunun kolhisin uygulaması (%0.5) en iyi sonucu vermiştir. *In vitro* kolhisin uygulamasında katlama oranını %10.13, *in vivo* kolhisin uygulamasında ise %46.03 olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca, haploid ile dihaploid erkek çiçeklerin şekillerinde belirli morfolojik farklılıklar gözlemlenmiştir. Kolhisinin *in vivo* çalışmalarda

kullanılması ile çoğalma oranının *in vitro* çalışmalara oranla daha kısa sürede sağladığını bildirmişlerdir.

İbrahim (2012) kavunda yaptığı çalışmada, mısır kavununu iyileştirmek için Mısır Tarım Araştırma Merkezlerinde su stresi altında 10 tatlı kavunu açık tozlanmaya bırakmış, ayrıca 3 ticari kavun çeşidini aynı parselde ekerek, verimi artırmak için aralarından büyük olanları seçmenin makul bir yol olacağını bildirmiştir. Çalışılan tüm özelliklerde kalıtım ve genetik mesafe oldukça yüksek bulunmuştur.

Tomar ve Bhalala (2006) yaptıkları çalışmada 10 adet ebeveyn hat ile 45 muskmelon F<sub>1</sub> hibrit ile, muskmelonda heterosisi test etmek için araştırılmıştır. En iyi ebeveyn üzerindeki heterosis araştırılmış, bu kapsamda ilk çiçeğin oluştuğu nodyum sayısı, bitki başına düşen verim, bitki başına düşen meyve sayısı, meyve ağırlığı, nem yüzdesi, toplam şeker içeriği özellikleri dikkate alınmıştır. Çalışmanın yürütüldüğü her iki sezonda da AMM-01-18 x AMM-02-26, Hara Madhu x RM-50, AMM-00-25 x AMM-01-11 ve AMM-01-18 x DM-1 hibritleri en yüksek verim ve heterosisi sağlamıştır. Hatta her iki sezonda da diğer kalite özellikleri bu hibritlerde yüksek bulunmuştur. Bu nedenle, yeterli değerlendirme yapıldıktan sonra, bu hibritlerin küresel çapta geniş ekim için potansiyel olarak değerlendirilebilecekleri bildirilmiştir.

Taşkın vd (2013) karpuzda yaptıkları çalışmada ticari olarak üretilen 2 farklı karpuz genotipine ait en iyi haplodizasyon metodunu belirlemek için 50, 150, 200, 275 ve 300 Gy 5 farklı ışın uygulaması yapmışlardır. Işınlanan tohumlarla gerçekleştirilen tozlamadan 25 gün sonra alınan meyvelerde yapılan gözlem ve araştırmalara göre 43 meyveden 60 adet haploid embriyo elde etmeyi başarmışlardır. Kurtarılan embriyolar, 30 g/L süktroz, 0.08 mg/L B12 (Siyanokobalamin), 0.02 mg/LIAA (Indolacetic acid) ile kombine edilmiş CP ortamına aktarmışlardır. Yapılan çalışmanın sonuçlarına göre en uygun ışın dozunun 275 Gy olduğunu bildirmişlerdir.

Baktemur vd (2014)'nin kabakta yapmış oldukları çalışmada, 14 farklı kabak genotipine 3 farklı doz (150,200 ve 300 Gray) gama ışını uygulamışlardır. İlk yıl 100 tohumdan 150 Gray ışın dozunda 9.12, 200 Gray ışın dozunda ise 3.53 haploid embriyo elde etmişlerdir. 100 adet tohumdan 12.42 embriyo ile en başarılı embriyo ve ışın kombinasyonu genotip 3'ten elde edilmiştir. 2. yıl tekrarlanan çalışmadan elde edilen 217 meyveden 1378 diploid, 2625 haploid embriyo elde edilmiştir. En başarılı genotip ise 6 olup, en başarılı ışın ise 150 (gy) olarak tespit edilmiştir.

Kurtar veBalkaya(2010) altı kış kabağı genotipi (57SI06, 57SI21, 55BA02, 55BA03, 55CA06, G14) üzerinde yaptığı araştırmada polen tozlanmadan önce farklı dozlarda (50, 100, 200, 300 gray) ve farklı zamanlarda haploid elde etmek üzere gama ışını uygulamıştır. Meyveler gama ışını uygulanmış olan polenler ile döllenmeden üç ile altı hafta sonra hasat edildikten sonra tohumları alınıp *in vivo* ortama ekilmiştir. Bu deneyin sonucunda gama ışığı dozu, genotip etkileri araştırılmıştır. En başarılı sonuçların 50 ve 10 graylık gama ışığının uygulandığı polenlerden edildiği ve 100 ve 200 graylık dozun tohumuz meyve vererek hiç etki etmediğini bildirmişlerdir. Ayrıca, en yüksek embriyo sayısı 19.9'luk oranda G14 genotipine ait iken, en düşüğü tohum ve



embriyo 55CA06 genotipinde tespit etmiştir. Çalışma sonucunda, gama ışığı uygulanmış polenlerin kullanılmasının kış kabağında haploidi elde etme konusunda başarılı olduğunu bildirmiştir.

Gonzalo vd (2011) Double haploid kavun hat popülasyonu üzerine yapılan bir moleküler karakterizasyon çalışmasında, 17 genotip kullanılmıştır. Çalışmada, Inodorus tipine ait 11 hat (PS, T x L, L x Z, 6 x PS, RQ200 x PS, M75C164, M75C167, M75C257, M81B520, 8 ve M75CA155), 3 Kantolop tipi (M91, M92, M93), 1 tanesi Conomon tipi (AG), 1 tanesi Chinenis tipi (PI 161375) ve PI161375 ile PS genotiplerin hibritleri kullanılmıştır. Bu çalışmanın amacı, seçilmiş hibridlerde, ışınlanmış polenler ile üretilen embriyolarda kurtarma yapılması ve kurtarılan embriyolardan double haploid hat popülasyonlarının moleküler karakterizasyonudur. Çalışmada, SSRs ve RFLPs yöntemlerini kullanarak genotiplerin özellikleri değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda, partenogenesis sonucu ortaya çıkan embriyo oranı açısından genotipler istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Partenojenik ile embriyo oluşturmaya en yüksek tepki veren genotip M75C257 iken, en düşük tepki veren M75C164 genotipi olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, meyve oluşmu ve fertlizasyona en iyitepki veren genotipin PI611375 x PS iken, embriyoları kurtarma oranı açısından en yüksek olumlu tepki veren 8 genotipin (%100) olduğu bildirilmiştir

Geleta ve Labuschagne (2004) biberde yapmış oldukları çalışmada, açık tarla ve sera şartlarında tek, çift ve üçlü melezlemelerle karşılaştırmalı heterozis ve performansları değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışmada 8 tane tekli, 6 tane çift ve 6 tane de üçlü olmak üzere melez hibritlerin verim potansiyelleri ve agronomik performansları değerlendirilmiştir. Melezlenen hibritlerde; özellikle 3'lü melezler çiçeklenme günü, meyve çapı ve meyve ağırlığı iyi performans göstermiştir. Homojenlik açısından tekli melezleri yine, 3'lü melezler izlemiştir. Üç yönlü melezlemede meyve verimi yaklaşık olarak %36, meyve uzunluğu da %14 artmıştır. Özellikle çiftli melezler, üçlü melezlemelerle paralel olacak şekilde meyve veriminde %35.6, meyve sayısında %24 ve son olarak da meyve ağırlığında %16.9 heterozis sağlamıştır. Çalışmadan elde edilen en önemli sonuç ise, üçlü melezlemelerin biber ıslahı için güçlü bir alternatif oluşturabileceğidir.

Başal ve Turgut (2003) pamukta, verim ve lif özellikleri açısından heterozis üzerine yaptıkları çalışmalarda ileride kullanılacak çeşitleri belirlemişlerdir. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre, genel uyuşma yetenekleri yüksek olan genotipler ile üçlü melezleme yoluyla verim ve lif kalitesi aynı anda düşünülebileceği belirlenmiştir.

Baktemur vd (2013) kavunda 2 farklı genotipte 5 farklı yöntem ile haploid embriyo kurtarma çalışması denemiştir. Çalışmada toplanan erkek çiçeklere 300 Gray gama ışın uygulaması yapılmış, daha sonra ışınlanan erkek çiçeklerin, dişi çiçekler ile tozlaması gerçekleştirilmiştir. Tozlamadan 21-25 gün sonra oluşan kavunlar hasat edilmiştir. Bu kavunlardan alınan tohumların embriyoları 5 farklı yöntem ile embriyo kurtarma çalışmasına tabii tutulmuştur. 1. yöntemde, mikroskop altında bakılan embriyolar direkt olarak E20A ortamına aktarılmıştır. 2. yöntemde, meyvelerin kesilmesiyle alınan tohumlar direkt olarak CP ve E20A ortamına alınmıştır. 3. yöntemde steril kabin içinde çıkarılan tohumların ışık altında embriyo kontrolü yapılmış

ve embriyo barındıranlar E20A ortamına yerleştirilmiştir. 4. yöntemde, meyvelerden çıkarılan tohumlar direkt olarak CP ve E20A ortamına alınmıştır. Son olarak 5. yöntemde ise meyvelerden alınan tohumlar %15'lik NaOCl solüsyonunda 10 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işlemi biten tohumlar CP ve E20A ortamına alınmıştır. Tüm bu farklı yöntemler içerisinde, embriyo kurtarma işleminde en başarılı sonuç 1. ve 3. yöntemlerde gözlenmiştir. 1. ve 3. yöntemde sırasıyla 3.30 ve 3.10 embriyo elde edilmiştir. 4. yöntemde ise kontaminasyon sebebi ile herhangi bir sonuç elde edilememiştir.

Baktemur vd (2014)kabakta 14 farklı genotipte, 3 farklı dozda gama ışınının haploidizasyona etkileri üzerine çalışmışlardır. Toplam 219 adet meyve hasat edilmiştir. Meyvelerden elde edilen tohumlardan çıkarılan embriyo sayılarının 150 Gray gama ışını uygulamasında 1358, 200 Gray gama ışını uygulamasında 500 adet olduğu gözlenmiştir. 150 Gray gama ışını uygulamasından elde edilen embriyolardan 100 tanesinden 9.12 adet haploid bitki elde edilirken, 200 Gray gama ışını uygulamasından ise 3.53 adet haploid bitki elde edilmiştir. 3 numaralı genotipten alınan 100 tohumdan 12.42 adet haploid bitki elde edilmiştir. İkinci sezon yapılan çalışmalarda 8 farklı genotip kullanılmıştır. 217 meyveden 2625 haploid 1379 diploid embriyo çıkmıştır. En yüksek haploid bitki sayısı %13.35 oranla 6. genotipte, en az haploid bitki sayısı ise %6.9 oranı ile 5. genotipte gözlenmiştir. 150, 200, 300 gray gama ışını uygulaması yapılan 100'er tohumdan sırasıyla 18.68, 9.03, 1.51 adet haploid bitki elde edilmiştir.

Taşkın vd (2013)karpuzda 3 farklı genotipte, 5 farklı dozda gama ışınının haploidizasyona etkileri üzerine çalışmışlardır. 1. ve 2. genotipte Rijk zwan 3.genotipte ise Üstün F<sub>1</sub> Yüksel tohum çeşitleri kullanılmıştır. Çalışmada toplanan erkek çiçeklere 50,150,175,200 ve 300 gray gama ışını uygulamaları yapılmıştır. Tozlamadan 25 gün sonra karpuzlar hasat edilmiş ve meyvelerden elde edilen tohumlar steril kabin içinde CP ortamına alınmıştır. CP ortamındaki tohumlar 16 saat aydınlık 8 saat karanlıkta iklim odasına alınmıştır. Sonuç olarak; 43 meyveden 60 haploid bitki elde edilmiştir. 1.genotipte 100 tohumdan 3.57 adet haploid bitki ile en yüksek sonuç elde edilmiştir. 3.genotipte 100 tohumdan 2.81 adet haploid bitki elde edilmiştir. 2.genotipte ise 100 tohumdan 1.91 adet haploid bitki ile en düşük sonuç elde edilmiştir. 150,200 ve 275 gray gama ışını uygulaması yapılan 100'er tohumdan sırasıyla 3.57,1.57 ve 5.26 adet haploid bitki elde edilmiştir.

### 2.3. Moleküler Karakterizasyon İle İlgili Kaynak Taramaları

Staub vd (2000) ticari olarak yetiştirilen *C. melo* L. *subsp. melo* (Cantalupensis, Inodorus) ve *C. melo* L. *subsp. agrestis* (Conomon ve Flexuosus) olmak üzere toplam 4 adet alttürden 46 yerel çeşidin genetik ilişkilerini belirlemek için Random amplified polymorphic DNA (RAPD) metodu ile simple sequence repeat (SSR) marker yöntemini kullanmışlardır. Cantalupensise ait 4 farklı market sınıfı (Galia, Ogen, Charentais, and Shipper), Inodorusa ait bir market sınıfı (Cassaba and Honey Dew), Conomon'a ve Flexuosus'a ait birer market sınıfının genetik mesafelerini belirlemek için 3 farklı genetik mesafe belirleyici (simple matching coefficient, Jaccard's coefficient ve Nei's distance-D. kullanmışlardır. Farklılıklar 135 RAPD ve 54 SSR bandları içinde belirlenmiştir. Genetik mesafeler için en fazla fark Shipper'da (0.42± 0.06) belirlenirken, Ogen, Galia, Cassaba, Charentais, European Shipper ve U.S.Shipper

genotiplerin genetik mesafeleri sırasıyla  $0.11\pm 0.04$ ,  $0.33\pm 0.09$ ,  $0.21\pm 0.04$ ,  $0.26\pm 0.10$ ,  $0.17\pm 0.05$ ,  $0.22\pm 0.08$  olarak hesaplanmıştır. Conomon and Flexuosus yerel çeşitleri diğer tüm market sınıflarından önemli oranda farklı bulunmuştur. Ayrıca Galia genotipi ile diğer genotipler arasındaki genetik mesafe yüksek olduğu belirlenirken, Ogen genotipi ile diğer genotipler arasındaki genetik mesafelerin düşük olduğu görülmüştür. RAPD marker analizlerinin sonucunda 80 markırın mevcut çeşitlerin genetik farklılığın belirlenmesinde yeterli olacağını belirtmişlerdir.

Danin-Poleg vd (2001)cucumis türlerinin genetik farklılıklarının belirlenmesi için mikrosatellit primerleri geliştirmişlerdir. Mikrosatellit primerleri ile genetik farklılığın tespit edilmesini hedeflemişlerdir. Bu kapsamda 61 SSR markır geliştirilmiş, geliştirilen 61 SSR markırın yaklaşık 46'sı kavun gen bankasından elde edilmiştir. Bu kapsamda kullanılan SSR markırlarının, kavun ve hıyar genotipleri arasında belirgin bir ayrım gösterdiğini belirlemişlerdir.

Monforte vd (2003) kavunda yaptıkları çalışmada, ellerinde bulunan genotiplerin farklılıklarını belirlemek için 18 adet SSR markır kullanmışlardır. Markırlar yardımıyla elde edilen sonuçlara göre, kavun genotiplerinin iki alt türde (agrestis ve melo) değerlendirilebileceği belirlenmiştir.

Kohpayegani ve Behbahani (2008) kavunda yaptıkları çalışmada, SSR markırları yardımıyla kavun genotiplerinin farklılıklarının belirlenmesini amaçlamışlardır. Bu çalışma kapsamında ellerinde bulunan 35 genotip, 15 SSR markır ile taranmış, mikrosatellit markırlar en üst seviyede polimorfizm gösterdiği belirlenmiştir. Mikrosatellit markırların yaklaşık %85'i polimorfik bulunmuş ve toplam 63 allel tanımlanmıştır. Etkin allel sayısı, polimorfik lokuslarda 1.25 ila 8.19 arasında değişmiş ve allel sayısı 2.80 olarak tespit edilmiştir. İran ve yabancı kaynaklı kavun genotipleri arasındaki genetik farklılık 0.98 olarak belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, İran genotipleri ile diğer genotipler önemli oranda farklılık olduğu tespit edilmiştir.

Oumouloud vd (2010) kavunda fusarium 0 ve 2 ırklarına dayanıklılığın kalıtımını inceleyerek fom4 genini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar fom4 geni bulduran, fusariumun 0 ve 2 ırklarına hassas Tortuga ile Piel de Sapo çeşitleri ile fusariumun 0 ile 2 ırklarına dayanıklı fom1 geni bulduran Charentais çeşitlerini melezleme yapmışlardır. Elde edilen F<sub>2</sub> populasyonunda fusariumun 0 ve 2 ırklarına hassas bitkilerin gözlenmediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar oluşturdukları F<sub>2</sub> populasyonunun incelenmesinde 618-CAPS markırından faydalanmışlardır. Çalışma sonucunda Tortuga çeşidinin fusarium 0 ve 2 ırklarına dayanıklılığının bir dominant ve bir resesif genle kontrol edildiğini tespit etmişlerdir.

Sarı vd (2002) 2000, 2001 ve 2002 yıllarında yürüttükleri çalışmada *Fusarium oxysporum f. sp. melonis*'in 0 ve 1 numaralı ırklarına dayanıklı kavun çeşitlerinin geliştirilmesi için dihaplodizasyon yöntemini kullanmışlar, geliştirilen saf hatlarda genel ve özel kombinasyon yeteneği testleri yapmışlardır. Araştırma bulgularına göre elde edilen melez bitkilerin ebevenlerine göre birinci yıl %19, ikinci yıl %14 daha uzun olduğu, gövdeçapında ise birinci yıl %19'luk kalınlaşma, ikinci yıl %6 oranında azalma

tespit edilmiştir. Ayrıca çalışma sonucunda 52 genotip içerisinde 5 tanesi negatif heterozis gösterdiği belirtilmiştir.

Sebastiani ve Ficcadenti(2015) tarafından üç kavun çeşidi (Charantais-T, Vedrantais, Isabelle) ile üç double haploid (NAD, DH-L12, DH-L6) bitkiyi 3 farklı ortamda yetiştirmişlerdir. Decamer 20 aracılığıyla her genotipin DNA'sının izolasyonu sonrasında RAPD yöntemini kullanarak genotiplerin genetik stabiliteğini belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda bütün primerlerin monomorfik olduğunu yani morfolojik olarak benzeyen genotiplerin genetik olarak da benzediğini tespit etmişlerdir.

Szamosi vd (2010) Macar ve Türk kavunlarından oluşan 58 genotiplik bir koleksiyonda toplam 70 karakterde morfolojik karakterizasyon ve 17 karakterde de ölçüm yapmışlardır. Kantitatif verilerle yapılan temel bileşenler analizi (PCA) genotipler arasındaki varyasyonun % 64'ünü açıklarken, Macar ve Türk kavunlarında belirgin bir gruplanma söz konusu olmamıştır. Araştırmacılar morfolojik özellikleri bakımından birbirinden farklı olan bu genotiplerin ayırımında en önemli karakterlerin meyve özelliklerine ait olduğunu rapor etmişlerdir

Dhillon vd (2007) yapmış oldukları çalışmada Hindistan'ın 2 farklı ekolojik bölgesinden 36 yerel çeşit snapmelon toplamışlar ve RAPD primerleri kullanarak bitki ve meyvelerin morfolojik özellikleri, özelliklerle ilişkili verim, biyokimyasal kompozisyonları (toplam suda çözünür kuru madde, askorbik asit, titre edilebilir asitlik), hastalıklara ve zararlılara dayanımlarını belirlemişlerdir. Toplanan bitki ve meyvelerde, yüksek titre edilebilir asitlik, mildiyöye (downy mildew), kabak sarı mozaik virüsüne (ZYMV), papaya ringspot virüsüne (PRSV), afidlere (*Aphis gossypii*), nematodlara (*Meloidogyne incognitaya*) dayanım gibi temel farklılıklar belirlenmiştir. SSRs verileri İspanya, İsrail, Kore, Japonya, Maldivler, Irak, Pakistan snapmelonlarına göre, Hindistan snapmelonlarının eşsiz zenginlik içerdiğini göstermiştir. Sadece bir accession (IC 274014) CMV virüsüne yüksek oranda dayanıklı bulunmuştur. Ayrıca PRSV'ye dayanım için bir lokustaki iki allel (Prv1 ve Prv2) belirlenmiştir.

Diaz vd(2011) yapmış oldukları çalışmada, kavunda son 20 yılda bulunan moleküler marker linkage haritaları ayrı ayrı kullanırken oluşan zaman kaybı ve karşılaştırmada yaşanan zorlukları bertaraf etmek için kavun için bundan sonra referans olabilecek tek bir genom haritası oluşturmayı başarmışlardır. Referans haritasında belirlenen bir çok marker polimorfik olduğu için, bir çok genetik çalışmada (fiziksel ve genetik haritaların birleştirilmesi, colinearity analizleri, gen klonlama, epistatis diseksiyonu ve marker yardımcı ıslah) oldukça faydalı olacağı bildirilmiştir.

Yıldız vd (2011) Türkiye'de yetiştirilen farklı genotiplerdeki kavunlarda RAPD markerleri yardımı ile *Fusarium oxysporum f. sp. melonis*'in 0 ve 1 numaralı ırklarına dayanıklılığı araştırmışlardır. Ayrıca kavun genotiplerinin akrabalık derecesini ISSR ve SRAP belirteçlerini kullanarak incelemişlerdir.

Ovesena vd (2002) biyolojik çeşitliliğin tespit edilmesi ve genetik haritalama çalışmalarında yaygın olarak kullanılan yöntemlerden birisinin SSR moleküler markırlarıdır olduğunu bildirmektedirler.

Büyükünal Bal(2003) SSR yönteminin avantajları, yüksek oranda bilgi içermesi, kodominant olması ve PCR yöntemiyle kolayca tespit edilmesi iken, zaman alıcı olması, fazla iş gücü gerektirmesi ve yeni mikrosatellitlerin elde edilmesini gerektirmesi ise dezavantajları olarak gözükmektedir.

Lang vd(2007) genetik çeşitliliğin korunması ve yönetilmesinin germplasm koleksiyonu açısından önemli olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmada, 14 farklı hıyar genotipinde 8 kantitatif ve 4 kalitatif özelliğin genetik çeşitliliği, varyasyon katsayısını ve akrabalık derecesini belirlemek için RAPD miktarı kullanılmıştır. Çalışmaların sonucunda genetik çeşitlilik ve akrabalık derecesinin doğa şartları, toprak ve hava şartlarından etkilendiği görülmüştür. Ayrıca kantitatif özelliklerin genetik çeşitliliğin kalitatif özelliklerinden daha az olduğu, genlerin genetik çeşitliliği ve gen haritasının özelliklere göre değişiklik gösterdiği ve genotipler arasındaki ilişkilerin büyük ölçüde özdeşleştiğini bildirmişlerdir.

Claveria vd (2005) hıyarda yapmış oldukları çalışmada, ışınlanmış polen tekniği kullanarak 500 Gray ışın dozu kullanarak hıyarlarda partonegenesisi teşvik etmişlerdir. Haploid ve diploid yapıları ayırt etmek için ise SSR markırlar ve flow spektrometri yöntemleri kullanmışlardır.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışma, 2014 ve 2015 yıllarında Akdeniz Üniversitesi Teknokenti bünyesinde faaliyet gösteren Kuzey Agripark firmasına ait araştırma geliştirme seralarında yürütülmüştür (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Çalışmanın yürütüldüğü seraların genel görünümü

#### 3.1. Materyal

Çalışmada bitkisel materyal olarak Kuzey Agripark firmasının kavun gen havuzunda yer alan 16 Galia ve 1 Kırkağaç tipi olmak üzere toplam 17 genotipin F<sub>3</sub> düzeyindeki hatları kullanılmıştır. F<sub>3</sub> düzeyindeki tohumlardan fideler elde edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2.a) Kavun tohum ekimi b)Kavun tohumlarının çimlenmesi c) Kavuntohumlarının fide haline gelmesi d)Kavun fidelerinin gatırlara dikilmesi e) Kavunbitkilerinde morfolojik gözlemlerin yapılması

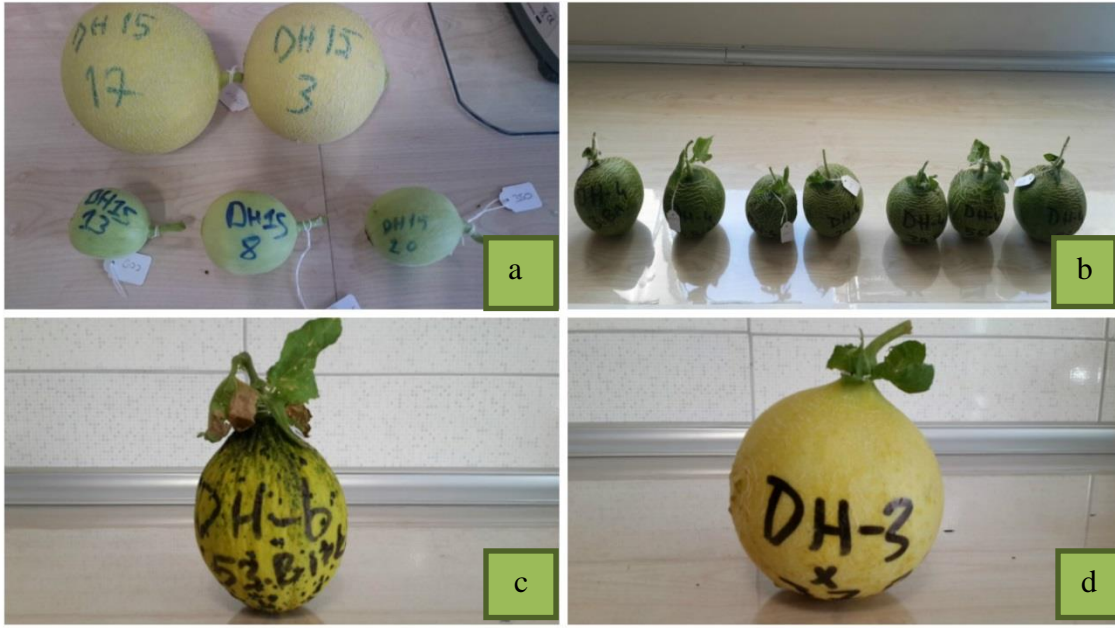


Bitkiler çiçeklenme aşamasına gelince tozlama işlemlerine başlanmıştır. Bu amaçla, çiçek açımından bir önceki gün erkek çiçekler toplanarak cam petrilere yerleştirilmiştir. Toplanan erkek çiçekler aynı gün, ışınlama Akdeniz Üniversitesi Nükleer Bilimler Uygulama ve Araştırma Merkezinde  $Co^{60}$  kaynağı kullanılarak 300 Gray dozunda ışınlanmıştır. Tozlama işlemi için ışınlama işleminden 1 gün sonra sabah erken saatlerde emasküle edilmiş dişi çiçeklerin stıgması üzerine ışınlanmış polenler yerleştirilerek yapılmıştır. Tozlama işlemi sonrasında yabancı tozlamayı engellemek için dişi çiçekler pens yardımıyla kapatılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3.a) Dişi çiçekte emaskülasyon işlemi b) Emaskülasyon sonrası dişi çiçeğin kapatılması c) Erkek çiçeklerin toplanması d) Erkek çiçek ile dişi çiçeğin tozlanması e) Tozlama sonrası dişi çiçeğin kapatılması

Tozlamadan 3-4 hafta sonra meyveler embriyo kurtarma çalışmasına alınmıştır (Şekil 3.4). Işınlanmış polen ile elde edilen meyveler hasat edilerek bitki biyoteknoloji laboratuvarına getirilmiştir. Hasat edilen meyveler hipoklorit çözeltisi ile yıkanıp kurutulmuştur. Kurutulan meyveler ve kullanılacak ekipmanlar %10'luk  $NaOCl$  'de 15 dakika bekletilerek sterilize edilmiştir (Şekil 3.5). Sterilizasyondan sonra meyveler yıkanmıştır. Meyveler iki defa %100'lük etanol uygulamasına tabi tutulmuş ve alkol yakılarak uzaklaştırılmıştır. Meyveler kesilerek içindeki tohumlar alınıp petrideki MS ortamı içeren petrilere yerleştirilmiştir. Petriler  $25 \pm 1$  °C sıcaklıkta,  $3000 \pm 500$  lux ışık yoğunluğu olan, 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyoduna sahip iklim odasına alınmıştır.



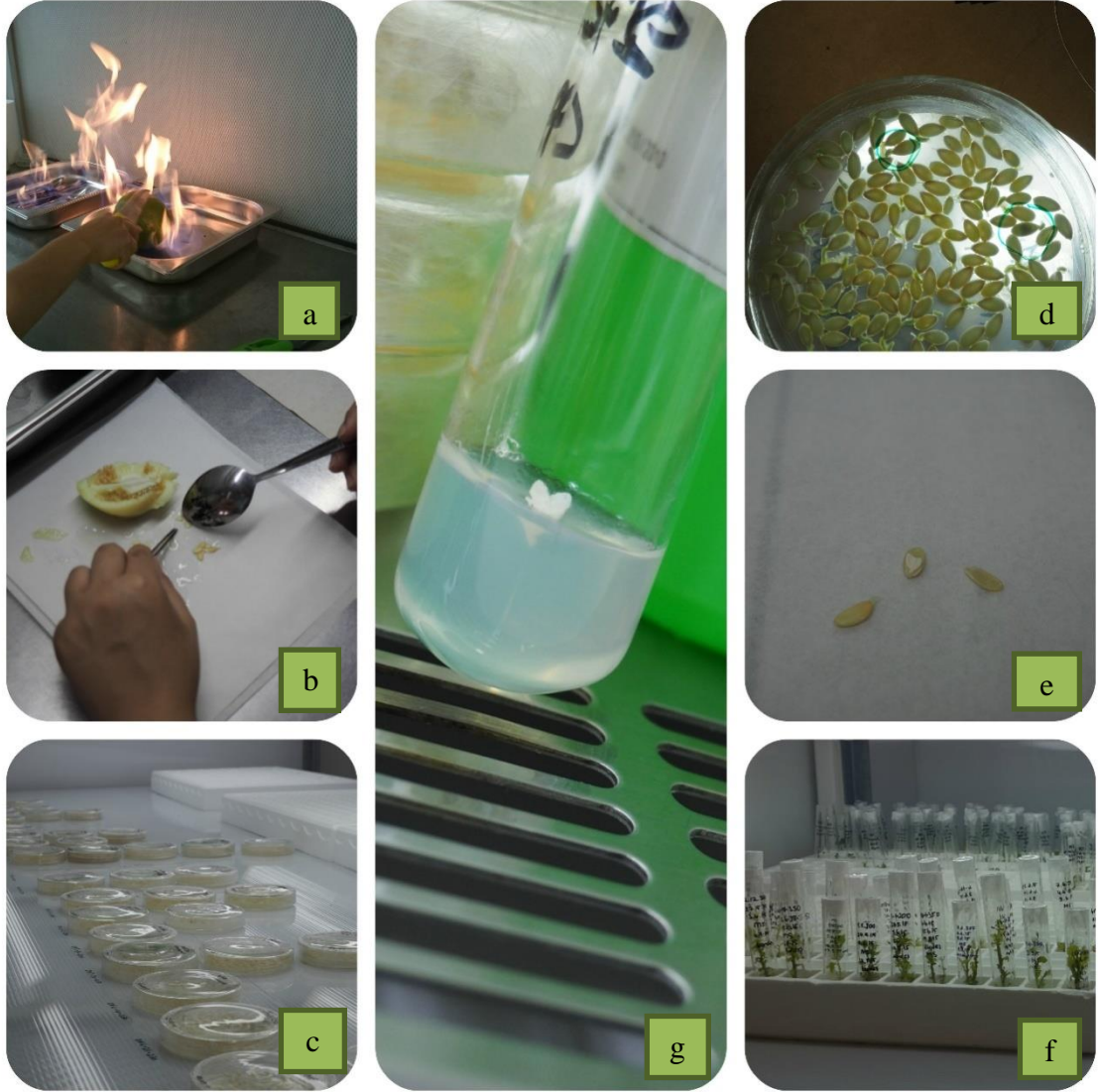
Şekil 3.4.a-b-c-d Tozlama sonrası hasat edilen farklı genotipte kavun meyveleri

İklim odasında petriler 4-7 gün arasında bekletilmiştir. İklim odasında bekletilen petrilerde ışık altında embriyo kontrolü yapılmıştır. Kalp şeklinde embriyo oluşmaların testaları kesilip embriyoları çıkarılmıştır. Embriyo oluşturmayan petriler tekrar iklim odasına alınmıştır. Kalp şeklinde oluşan embriyolar tüplerdeki MS ortamına aktarılmış ve iklim odasına alınmıştır. Tüplerde embriyonun çimlenmesi ve normal bitki gelişimi yaklaşık 1 ay yani bitki boyu 10-15 cm olana kadar gözlenmiştir. Tüplerde gelişen bitkilerden çelik alınarak %0.5'lik kolhisinde 2 saat süresince bekletilmiştir. Çelik bitkiler kök oluşturduğunda ve gelişimi tamamlandığında 1-2 hafta süresince mini seraya alınmıştır. Daha sonra fide aşamasına gelen double haploid bitkiler seraya aktarılmış ve performansları belirlenmiştir.

Sterilizasyonu yapılan meyvelerin tohumları çıkarıldıktan sonra ışık kaynağı kullanılarak embriyolar dikkatli bir şekilde kurtarılmıştır. Embriyolar, içerisinde MS ortamı bulunan cam tüplere konularak tüpler parafinle kapatılmıştır (Şekil 3.6).

Kurtarma işlemi sonrası cam tüpler  $25 \pm 1$  °C sıcaklıkta,  $3000 \pm 500$  lux ışık yoğunluğu olan, 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyoduna sahip iklim odasına alınmıştır (Şekil 3.7). İklim odasında tüpler 4-7 gün arasında bekletilmiştir. Tüplere alınan haploid embriyolar yaklaşık 3 hafta sonra tüp boyuna erişmiş ve kolhisin uygulaması aşamasına geçilmiştir. Kolhisin (Colchicine) uygulaması double-haploid bitki elde etmek için kromozom katlamasını teşvik amacıyla kullanılmıştır.





Şekil 3.5.a) Kavun bitkisinin sterilizasyonu b) Sterilizasyon sonrasında kavun bitkisinden tohumların çıkarılması c) Kavun tohumlarının petrielerde iklim odasına alınması d)Işık altında embriyo kontrolü yapılması e) Kalp şeklinde olan embriyonun belirlenmesi f)Embriyoların MS ortamına alınması g) Embriyonun MS ortamında gelişiminin yaklaşık 1 ay sonraki hali

Steril ortamda kökleri uzaklaştırılan bitkiler 2-3 parça halinde kolhisin uygulamasına tabi tutulduktan sonra bitki parçaları tekrar MS ortamına alınmıştır. Daha sonra bitkiler fide aşamasına gelinceye kadar laboratuvar koşullarında büyütülmüştür.Bitkilerin double haploid olup olmadığı stoma sayımları ile kontrol edilmiştir. Fide aşamasına gelen double haploid bitkiler seraya aktarılmış ve performansları belirlenmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.6. a) Bitkiye uygulanacak kolhisinin hazırlanması b) Haploid kavun bitkilerinin Kolhisin uygulama öncesi köklerinin kesilmesi c) Kökleri uzaklaştırılan bitkilerin kolhisin kavanozuna atılması d) Kesilen haploid kavun bitkilerinin 2 saat kolhisinde bekletilmesi e) Kolhisin uygulamasından sonra bitkilerin MS ortamına aktarılması f) MS ortamındaki haploid bitkilerin iklim odasına alınması





Şekil 3.7.a)MS ortamından çıkan kavun bitkilerinin mini seralara alınması b) Mini serada büyüyen bitkilerin saksılara alınarak şaşırtılması c, d) Saksılara alınan kavun bitkilerinin serada gelişimi

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Genotiplerin morfolojik olarak değerlendirilmesi

Kuzey Agripark firmasından temin edilen 17 adet ümitvar F<sub>3</sub> genotip, yine aynı firmanın Akdeniz Üniversitesi seralarında, morfolojik gözlemlerin yapılması amacıyla 5 Mayıs 2015 tarihinde ekilmiştir. Ekim işlemi 1. - 16. genotipler için her tekerrürde 20'şer bitki, 17. genotip için ise 50 bitki olacak şekilde yapılmıştır. Morfolojik gözlemler 20'şer meyve üzerinden yapılmıştır. Yapılan morfolojik ve fenolojik gözlemler aşağıda verilmiştir.

- 1- Erken Çiçek Oranı:** Tohum ekim tarihinden itibaren ilk çiçekler görüldüğü zaman bitkiler arasında çiçek sayısına göre gözlem yapılmış ve 1-10 skalası

kullanılmıştır. 1'den 10'a doğru gittikçe bitkide gözlemlenen çiçek sayısı artmıştır.

- 2- Erken Meyve Oranı:** Tohum ekim tarihinden itibaren ilk meyveler görüldüğü zaman bitkiler arasında meyve sayısına göre gözlem yapılmış ve 1-10 skalası kullanılmıştır. 1'den 10'a doğru gittikçe bitkide gözlemlenen meyve sayısı artmıştır.
- 3- Bitki Gücü:** Tohum ekim tarihinden itibaren bitki boyu, gövde kalınlığı, bitki sağlamlığı gibi kriterler göz önünde bulundurularak 1- 10 skalasına göre değerler verilmiştir.
- 4- Bitki Tipi:** Tohum ekim tarihinden itibaren bitki dallanması A,B ve C değerlerine göre sınıflandırılmıştır. Sınıflandırılma işleminde;  
**A:** Dallanma çok fazla  
**B:** Dallanma orta düzeyde  
**C:** Dallanma çok az
- 5- Olgunlaşmamış Renk:** Meyve olgunlaşma öncesi meyve kabuk renginde sarı renk bulunup bulunmaması durumuna göre; yok, az, orta, çok olmak üzere 4 farklı değerlendirme yapılmıştır.
- 6- Powdery mildew (Külleme):** Bitkilerde külleme hastalığı var yada yok olmak üzere 2 farklı gözlem yapılmıştır.
- 7- Meyve Şekli:** Meyve şekli oval ve yuvarlak olmak üzere 2 farklı sınıflandırma yapılmıştır.
- 8- Net Tipi:** Kavun üzerindeki net durumuna göre;  
**1:** Galia  
**2:** Galia light yellow  
**3:** Galia bilsiz dilim  
**4:** Kırkağaç
- 9- Vejetatif Aksam Rengi:**  
**A:** Çeşide özgü en iyi renk  
**B:** Orta derece  
**C:** Çeşide özgü en kötü renk;  
sınıflandırmasına tabi tutulmuşlardır.
- 10- Mühür:** Meyvenin çiçek kısmında oluşan şekil için;  
**1:** Küçük  
**2:** Orta  
**3:** Büyük  
olmak üzere 3 farklı sınıflandırma yapılmıştır.
- 11- Sapın Kopması:** Meyve ile sapın birbirinden ayrılması durumuna göre;  
**1:** Kolay kopan

**2:** Zor kopan  
olmak üzere 2 farklı sınıflandırma yapılmıştır.

**12- Meyve Et Rengi:** Kavun meyvesi et rengine göre;

**1:** Sarımsı (Krem)

**2:** Sarı

olmak üzere 2 farklı sınıflandırma yapılmıştır.

**13- Meyve İrilik:**

**1:** Küçük

**2:** Orta

**3:** Büyük

olmak üzere 3 farklı sınıflandırma yapılmıştır.

### **3.3. Genotiplerin Moleküler Olarak Değerlendirilmesi**

#### **3.3.1. Bitkisel materyal**

Tez çalışması kapsamında, kavunda ıslah materyali olarak kullanılan belirli hatlardan haploid bitki elde edilmesi, bu hatların ve bu hatlardan elde edilen double haploidlerin morfolojik ve moleküler karakterizasyonu ile Fusarium ssp. dayanıklılığının tespit edilmesi amacıyla Kuzey Agripark Firmasının seralarında fenotipik gözlemleri yapılmış olan 17 genotipe ait bitkilerden bitkisel materyal temin edilmiştir.

#### **3.3.2. Metot**

##### **3.3.2.1. Moleküler analizler**

Moleküler analiz yapılırken izlenen aşağıdaki şekildedir;

**1-** DNA izolasyonu

**2-** PCR

**3-** Jel elektroforezi

**4-** Skoring

**5-** Sonuçların değerlendirilmesi

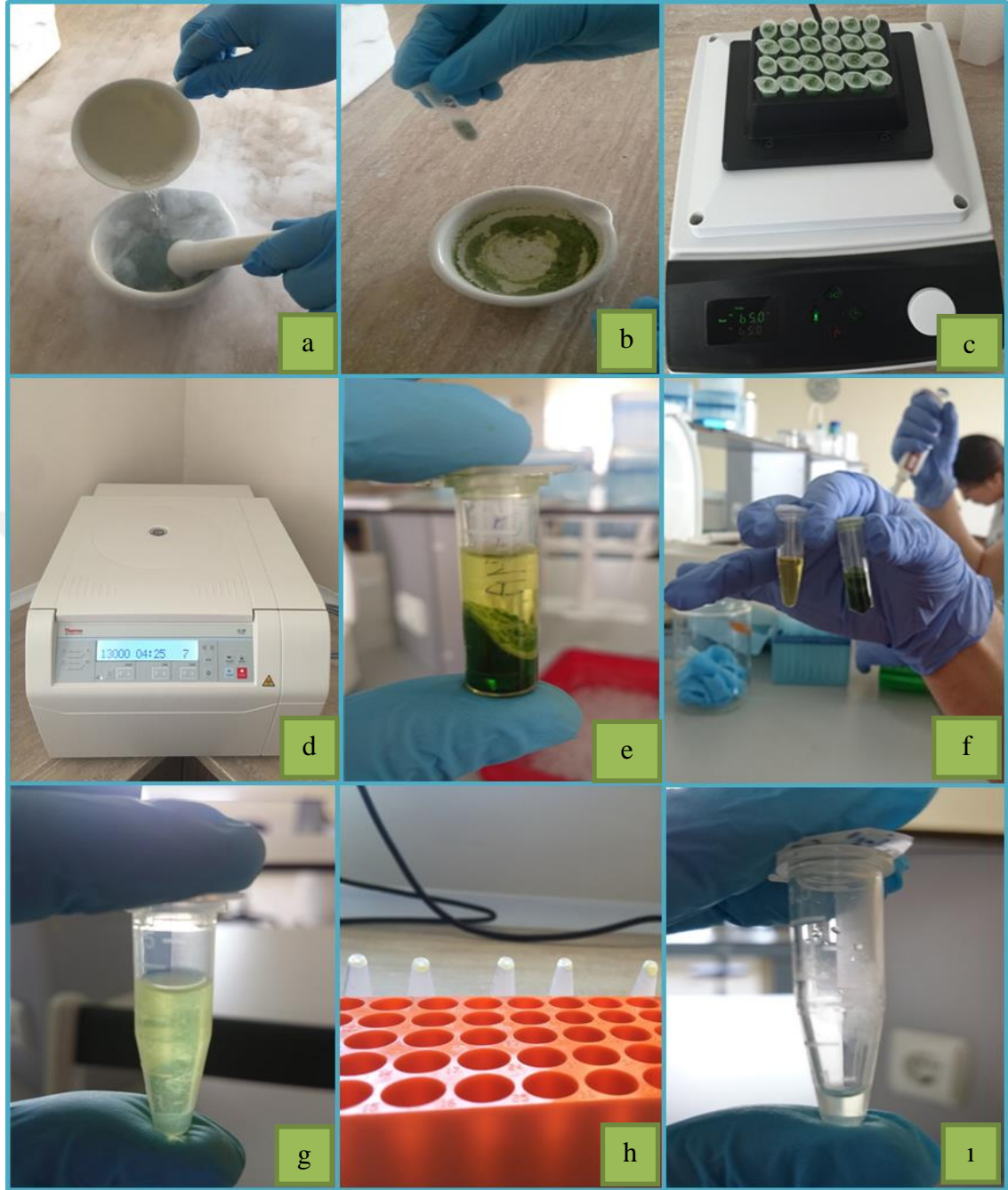
##### **3.3.2.2. DNA izolasyonu**

Seralardan alınan bitki yaprakları öncelikle porselen havan içerisinde sıvı azot yardımıyla öğütülmüş ve öğütülen örneklerden 0,1 g 2 ml'lik ependorf tüplere aktarılmıştır. DNA izolasyonu CTAB DNA izolasyon protokolüne göre yapılmıştır.

#### **DNA izolasyonu aşamaları**

- 1- Öğütülen örnekler üzerine 700 µl °TAB solüsyonu eklenmiştir (CTAB içine % 2 v/w β merkaptöetanol eklenmiştir).
- 2- 65 °C' de 30 dk arada karıştırılarak kuru blok içerisinde bekletilmiştir.
- 3- Örnekler üzerine 700 µl kloroform-izoamil (24:1 oranında hazırlanmış) eklenmiştir.
- 4- 13.000 rpm' de 10 dk santrifüj edilmiştir.

- 5- Santrifüj sonrası süpernatant temiz bir tüpe aktarılır. Tüp içine 2 µl RNase eklenerek 37 °C'de 10 dk bekletilmiştir.
- 6- 5M NaCl'den 42 µl eklenmiştir (3M NaCl olursa 70 µl eklenir)
- 7- 420 µl soğuk isopropanol eklenmiştir. Bu aşamada DNA'nın varlığı kontrol edilmiştir.
- 8- 13.000 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiştir.
- 9- Santrifüj sonrası süpernatant kısmı dökülür ve pelet kuruduktan sonra 1 ml % 70' lik soğuk etanol eklenerek 5 dk santrifüj yapılmıştır.
- 10- Süpernatant dökülerek tüpler ters çevrilir ve pelet kurumaya bırakılmıştır.
- 11- Pelet tamamen kuruduktan sonra üzerine 50 µl TE buffer (pH:7) eklenmiş ve pelet çözülmüştür. Hazırlanan DNA'lar -20 °C' de muhafaza edilmiştir. DNA izolasyon aşamaları Şekil 3.8de gösterilmiştir.



Şekil 3.8. DNA izolasyon aşamaları a) Yaprak örneklerinin öğütülmesi, b) Öğütülen örneklerin 2 ml'lik santrifüj tüpüne koyulması, c) CTAB+ $\beta$ -merkaptotanol eklenmiş örneklerin kuru blokta bekletilmesi d) Örneklerin santrifüjlenmesi e) Santrifüj sonrası süpernatant f) Süpernatantın alınması, g) Soğuk isopropanol eklenerek DNA varlığının kontrol edilmesi h) Peletinin kurutulması i) Peletin TE buffer içinde çözülmesi



### 3.3.2.3. DNA Kalitesi ve Kantitesinin Belirlenmesi

İzolasyonu gerçekleştirilen DNA'ların kalitesi ve miktarlarını belirlemek için spektrofotometre (Thermo Scientific Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer) kullanılmıştır. Elde edilen spektrofotometre sonuçları değerlendirilip ilgili hesaplamalar yapılmıştır ve DNA konsantrasyonları 50 ng'a düşürülmüştür.

DNA kalite ve kantitesinin ölçüldüğü spektrofotometre Şekil 3.9'da gösterilmiştir



Şekil 3.9. Multiskan™ GO Microplate Spektrofotometre

### 3.3.2.4. Double Haploid Bitkilerde Fusarium Hastalığının Moleküler Tanılaması

Kavunda önemli bir fungal hastalık olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melonis* hastalığının bilinen 4 ırkı mevcuttur (0, 1, 2 ve 1-2). Bunlardan Irk 2' ye dayanıklılığın fom-1 geni, ırk 0 ve 1' e dayanıklılığın ise fom-2 geni tarafından kontrol edildiği bilinmektedir. Tez çalışması kapsamında kavunda 16 galia ve 1 kırkağaç tipi olmak üzere toplamda 17 genotipe ait 319 donör bitkiden elde edilen 76 tane double haploid bitkinin fusarium 0,1 ve 2 ırkları için moleküler testlemesi yapılmıştır.

### Double Haploid Bitkilerin Fusarium 0, 1 Irklarına karşı Markırla Test Edilmesi

Fusarium 0 ve 1 ırkına dayanıklılığı kontrol eden fom-2 geni için SSR 154 primeri kullanılmıştır. Primerlere ait bilgiler Çizelge 3.1de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan Primer Bilgileri (SSR)

Primer Adı	Primer Dizisi (5'--> 3')	Markır Tipi
SSR 154	F:CCCTTCTGTCATTTGGCTTG	SCAR
	R:CGTCCATTATTAACATTCTGATGC	



Fom-2 geninin varlığını kontrol etmek için SCAR markır sistemi kullanılmıştır. Bir SCAR primeri olan SSR 154 için oluşturulan PCR döngüsü ve PCR bileşenleri aşağıdaki gibidir;

PCR döngüsü:

94 °C'de 3 dk	}	30 döngü
94 °C'de 30 sn		
50 °C'de 30 sn		
72 °C'de 1 dk		
72 °C'de 10 dk		

PCR bileşenleri:

10 µl Green Taq DNA Polimeraz mix  
 10 µl dd H<sub>2</sub>O  
 1 µl forward primer  
 1 µl reverse primer  
 2 µl DNA

PCR ürünü % 2' lik agaroz jele yüklenmiş, elektroforezde 110 voltta 2 saat yürütüldükten sonra UV görüntüleme sistemi ile görüntülenmiş ve bantlar yorumlanmıştır. 299 bp' de bant veren genotipler dayanıklı (D), 305 bp' de bant veren genotipler hassas (H), her iki bp' de de bant veren genotipler ise heterezigot (Het) olarak değerlendirilmiştir.

**Double Haploid Bitkilerin Fusarium 2 Irkına Karşı Markırla Test Edilmesi**

Fusarium 2 ırkına dayanıklılığı kontrol eden fom-1 geni için NBS1-CAPS primeri kullanılmıştır. Primere ait bilgiler Çizelge 3.2 de verilmiştir.

Çizelge 3.2.Kullanılan Primer Bilgileri (CAPS)

Primer Adı	Primer Dizisi (5'--> 3')	Markır Tipi
NBS1-CAPS	F:TATTGCTAAAGCTGTTTTCAAAAGCG	CAPS
	R:AACA AAAACTTTTCGATTCCTAAGTT	

Fom-1 geninin varlığını kontrol etmek için CAPS markırı kullanılmıştır. Bir CAPS primeri olan NBS1-CAPS için oluşturulan PCR döngüsü ve PCR bileşenleri aşağıdaki gibidir;

PCR döngüsü:

94 °C'de 5 dk	}	35 döngü
94 °C'de 1 dk		
55 °C'de 50 sn		
72 °C'de 1 dk		
72 °C'de 5dk		

PCR bileşenleri;

10 µl Green Taq DNA Polimeraz mix  
10 µl dd H<sub>2</sub>O  
1 µl forward primer  
1 µl reverse primer  
2 µl DNA

PCR işlemi tamamlandıktan sonra mevcut PCR ürününün üzerine;

17 µl dd H<sub>2</sub>O  
2 µl Green Enzim Buffer  
1 µl fast digest NCoI enzim

eklenmiş ve 37 °C' de 5 dk bekletilmiştir. PCR ürünü, hazırlanan % 2' lik agaroz jele yüklenmiş, elektroforezde 110 voltta 2 saat yürütüldükten sonra UV görüntüleme sistemi ile görüntülenmiş ve bantlar yorumlanmıştır. 250 bp' de bant veren genotipler dayanıklı (D), 205 bp' de bant veren genotipler hassas (H) olarak değerlendirilmiştir.

**3.3.3. Karakterizasyon Çalışmaları**

Çalışmada 319 adet F1 ve F3 donör bitki ve bu bitkilerden elde edilen 76 double haploid bitkinin genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla kodominant bir markır sistemi olan SSR tekniği tercih edilmiştir. Bu amaçla kavunda çalıştığı bilinen 47 adet SSR primeri belirlenmiştir. Primerler, kavunun mevcut 12 kromozomu üzerine dağılacak şekilde seçilmiştir. Bu primerlerin öncelikli olarak 17 genotipten bir tane referans alınarak taraması yapılmış ve amplifikasyonu iyi polimorfik primerler çalışmanın devamında kullanılmıştır. Kullanılan primerlerin listesi Çizelge 3.3'te verilmiştir. Bu primerlerden CMCT 134b, TJ24, CMTA 134a, CMGAN 80, CMAGN 73, CMGA 172, CMTCN 18 , polimorfik özellik göstermiş ve çalışma bu 7 primer ile devam etmiştir.

Çizelge 3.3. Kullanılan Primerlerin Listesi

No	Kromozom	Primer Adı	Primer Dizisi
1	1	CMAT141	F: AAGCACACCACCACCCGTAA
			R: GTGAATGGTATGTTATCCTTG
2		CMACC146	F: CAACCACCGACTACTAAGTC
			R: CGACCAAACCCATCCGATAA
3	CMTC13	F: TGGATGGATAAGGTGGTAAG	
		R: TTCCCCTAGTCGCTCTCT	
4	CMAG59	F: TTGGGTGGCAATGAGGAA	
		R: ATATGATCTTCCATTTC	
5	2	CMTA170a	F: TAAATCCCAAAGACATGGCG
			R: AGACGAAGGACGGTTAGCTTT
6		CMGA128	F: ATGGAGAAGGGATATTCAAAG
			R: ACTCCATTGTTGCTAACCTTT
7	CMBR90	F: GTACCTCCGCCGTTGATCT	
		R: TGAGATAATAAGAAATCCAACCCA	
8	CMTm48	F: TTGAAACCTTCAAACAAGAAATTG	
		R: ACGCGTTGTTGTTAGTGTGG	
9	3	CMGA15	F: CGGCAAGACGATTGGCAGC
			R: ATCACCGTAGCGAAGCACC
10		CMTmC67	F: ACATGTGGGTGCAATGAGG
	R: CACCATTGTGGAAAATGAAACA		
11	CMCAN90	F: CTAACGCTGACCCAACCTCTC	
		R: GTGGTTGTGAGTTATGAGGAG	
12	4	CMTAA166	F: GGAACAGACACCTCTTCTGAG
			R: TCCGTCTACAAGCGTGACTGT
13		CMAT35	F: GTGGGTCATCATTATTGTTA
			R: GCTTTTAGCCTATTAAGTTGC
14	CMTm120	F: GCCAAAGGTTCAAATGACA	
		R: TGATTTGCGCACAAACAAC	
15	CMTAAN100	F: CGAATCTCCGGAACAGACAC	
		R: CCGTCTACAAGCGTGACTGTC	
16	5	CMGA104	F: TTAAGTGGGTTTTGCCGATTT
			R: AATTCCGTATTCAACTCTCC
17		CMTC160a+b	F: GTCTCTCTCCCTTATCTTCCA
			R: GATGGTGCCTTAGTTGTTCCG
18	CMBR100	F: GGACCAAACCAAACCCATTA	
		R: ATGGGGATGAAGGGAGAAAG	
19	CMATN89	F: CACTACCTTAAAACAGAATTG	
		R: GGACAATTTAGGGAGGATC	

Devamı arkada

Çizelge 3.3'ün devamı

No	Kromozom	Primer Adı	Primer Dizisi
20	6	CMCCA145	F: GAGGGAAGGCAGAAACCAAAG
			R: GCTACTTTTGTGGTGGTGG
21		CMCT505	F: GACAGTAATCACCTCATCAAC
			R: GGGAATGTAAATTGGATATG
22	CMGAN92	F: GAGAGAGAGAGAGAGATG	
		R: GGTTGGGTACTCCGAGTTA	
23		CMBR95	F: TTGACCTTTTACGGTGGTCC
			R: CGGACAAATCCCTCTCTGAA
24	7	CMTC47	F: GCATAAAAGAATTTGCAGAC
			R: AGAATTGAGAAGAGATAGAG
25		CMTCN1	F: CCCTTCATTTTCATCATCC
			R: GAAGACGGCAAATTGAGCT
26		CMCTN7	F: AATGACACTGCCACATTCT
	R: AGGTTTTTCAATGGAGGGGA		
27	CMATN22	F: CGGCAATCATCTTATCTTTC	
		R: AAGATTGAAGTGGGAAAATG	
28	8	CMAGN68	F: GGAAGGAAATTAGCATGCAC
			R: GCCACTCTGTCTTTCTTCC
29		TJ24	F: AAACACGGGCTTGAAGAAAA
	R: CCCAGAAGGTGAGAGAGACCT		
30		CMBR40	F: CGACAATCACGGGAGAGTTT
			R: TTGTTGCATCAAACAAACAATC
31	9	CMGA172	F: CAATCGCAGATACTTCCACG
			R: TGCTTGTTCCCAACGGTGTCAT
32		CMGA165	F: CTTGTTTCGAGACTATGGTG
			R: TTCAACTACAGCAAGGTCAGC
33	CMCT134b	F: GCTCCTCCTTAACTCTATAC	
		R: GCATTATTACCCATGTACGAG	
34		CMTCN8	F: CCTCCGCCACATATTACAAT
			R: TTCATCTTGACACGTAAGAG
35	10	CMTC168	F: ATCATTGGATGTGGGATTCTC
			R: ACAGATGGATGAAACCTTAGG
36		CMTCN6	F: GCATTGCTCGATCAGTTTAC
			R: ACTCCGTCAAGATCCCAAAA
37	CMAGN73	F: ATCCAACCTCGACCAAGAAAC	
		R: CAGCTCTACAACAACATCTC	
38		CMAGN79	F: CTTCACTAAAACATAAAGAG
			R: TTCCAACCTTATTCATCCCAC

Devamı arkada

Çizelge 3.3'ün devamı

No	Kromozom	Primer Adı	Primer Dizisi
39	11	CSAT425A	F: TAGGGCAGGTATTATTTCAG
			R: AGCGACTGATTTAGTATAGGC
40		CMGAN24	F: TAACTATGATGAAGAGTT
			R: TGCCAAACTATAATCACACTA
41		CMGAN80	F: ATATTGATTGCTGGGAAAGG
	R: CTTTTTTGGCTTTATTGGGTC		
42	CMAGN33	F: CTGTCTGCTATTCTCCACTTGG	
		R: TGTATGCCACGTAGCGAAAC	
43	12	CMTC123	F: CGGATTGTACTTATTGCCAAG
			R: CATGTGCATGTGTGCATGTAC
44		CMTCN18	F: ACCAATCCATCACTCTCACT
			R: GAAAGAATGGGGGAAAAGAG
45		CMCTN38	F: TAAAACACTCTCGTGACTCC
	R: GATCTGAGGTTGAAGCAAAG		
46	CMTCN50	F: TCTACTTCCATGAATCCATC	
		R: TAGAATGGTTAGGAAACCCT	
47	Belirsiz	CMTA134a	F: ACGTGCTTCAGTAAACATG
			R: CCGACATTGAAAACCAACTTC

Primer bağlanma sıcaklıkları SSR tekniği için standart olarak belirlenmiş olan 57 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Sonuç alınamayan primerlerde bağlanma sıcaklığı +/- 5 °C olacak şekilde reaksiyon tekrar edilmiştir. PCR reaksiyonları Thermal Cycler cihazı kullanılarak yapılmıştır. Seçilen bir primerle 3 farklı PCR yapılmış ve elde edilen PCR ürünleri %2.5 normal agaroz, %3 nusieve agaroz ve %3 nusieve + normal agaroz jel kombinasyonlarına ayrı ayrı yüklenmiş ve jeldeki bant ayrımlarına göre hangi jel kombinasyonunun kullanılacağına karar verilmiştir. Çalışmanın devamında bant ayrımlarında fark görülmediği için %2.5 agaroz jel ile devam edilmiştir. PCR ürünleri 1X TBE Buffer içeren elektroforez tanklarında 80 voltta 3 saat koşularak UV görüntüleme sistemi ile görüntülenmiş ve bant varlığı (1) veya bant yokluğu (0) şeklinde skorlaması yapılmıştır. PCR ve agaroz jel hazırlama aşamaları Şekil 3.10'da verilmiştir.



Şekil 3.10. PCR ve Agaroz Jel Hazırlanması. a) PCR ön hazırlık işlemi, b) Hazırlanan PCR ürününün Thermal Cycler Cihazına yerleştirilerek reaksiyon kurulması, c) Agaroz Jelin Mikrodalga Fırında Kaynatılması, d) Jel İçerisine Ethidium Bromide Eklenmesi, e) Hazırlanan Agaroz Jelin Platelere Dökülmesi, f) PCR Ürünlerinin agaroz jele yüklenmesi, g) Jel görüntüleme sisteminde bantların fotoğrafının çekilmesi

### 3.4. Verilerin İstatistiksel Analizi

Morfolojik çalışmalar sonucu elde edilen verilerin istatistiksel analizleri, Temel Bileşenler Analizi (TBA) ve Kümeleme (Cluster) Analiz Yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizlerde SAS v 9.3 ve Minitab 17.0 bilgisayar paket programları kullanılmıştır.

SSR analizlerinde 7 adet polimorfik primerin agaroz jel elektroforezi sonucu elde edilen bantlar, varlık 1 (bir) veya yokluk 0 (sıfır) durumlarına göre skorlanarak binom veri matrisi oluşturulmuştur. SAS v9.3 ve Minitab 17.0 bilgisayar paket programları kullanılarak Çok Değişkenli Kümeleme Analizi ve Temel Bileşenler Analizi verilerin

analizi için kullanılmıştır. PCO, TBA ile benzer bir ordinat metod olup farklılığı eksenlerin grafiğini oluşturmak için kullanılan değerler yerine PCO uzaklık matrisinin kullanılmasıdır (Manly 2004). SAS kullanılarak, üzerinde çalışılan genotipler içinde ya da arasındaki ilişkiyi açığa çıkarmak için Nei ve Li (1979)'ye göre UPGMA matrisi kullanılmıştır.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Bazı Kavun Genotiplerinin Morfolojik Özelliklerin Değerlendirilmesi

On yedi farklı kavun genotipinde, materyal ve metot bölümünde belirtilen 13 morfolojik karakter için gözlem yapılmış ve bu morfolojik karakterizasyonu yapılan kavun genotiplerinin tanımlayıcı istatistikleri Çizelge 4.1’de, bu özellikler arasındaki korelasyon katsayıları anlamlılık dereceleri ile birlikte Çizelge 4.2’de ve özelliklerin genotiplere göre ortalama ve standart sapmaları Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Morfolojik karakterizasyonu yapılan genotiplerin tanımlayıcı istatistikleri

Morfolojik Özellikler	Ortalama Standart sapma	Min-Maks.	CV(%)
Meyve Şekli	1.52±0.50	1-2	33.00
Net Tipi	2.12±0.69	1-4	32.80
Vejetatif Aksam Rengi	1.45±0.67	1-3	46.33
Mühür	1.73±0.82	1-3	47.48
Sapın Kopması	1.63±0.48	1-2	29.58
Meyve Et Rengi	1.59±0.49	1-2	30.96
Erken Çiçek Oranı	7.15±1.12	3-9	15.60
Erken Meyve Oranı	5.63±1.55	1-9	27.51
Bitki Gücü	7.61±1.02	4-9	13.40
Bitki Tipi	2.15±0.54	1-3	24.91
Meyve İriliği	1.49±0.59	1-3	40.15
Olgunlaşmış Renk	1.81±0.79	1-4	44.09
Hastalık (Külleme)	1.47±0.50	1-2	34.12

Korelasyon matrisinin verildiği Çizelge 4.2’den de görüldüğü gibi, meyve şekli ile vejetatif aksam rengi (0.484) ve olgunlaşmış renk (0.605) arasında, vejetatif aksam rengi ile sapın kopması (0.566) ve olgunlaşmış renk (0.603) arasında, erken çiçek oranı ile erken meyve oranı (0.681), bitki gücü (0.851), bitki tipi (0.763) ve hastalık (0.672) arasında, erken meyve oranı ile bitki gücü (0.618), bitki tipi (0.746), meyve iriliği (0.552) ve hastalık (külleme) (0.539) arasında, bitki gücü ile bitki tipi (0.857) ve hastalık (külleme) (0.634) arasında, bitki tipi ile meyve iriliği (0.655) ve hastalık (külleme) (0.771) arasında ve meyve iriliği ile olgunlaşmış renk (0.550) arasında orta düzeyde ve istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar bulunmuştur.



Çizelge 4.2. Morfolojik özellikler arasındaki korelasyon katsayıları ve anlamlılıkları.

	Meyve Şekli	Net Tipi	Vejetatif Aksam Rengi	Mühür	Sapın Kopması	Meyve Et Rengi	Erken Çiçek Oranı	Erken Meyve Oranı	Bitki Gücü	Bitki Tipi	Meyve İriliği	Olgunlaşmış Renk
Net Tipi	0.064											
Vejetatif Aksam Rengi	0.808	-0.192										
Mühür	0.484	0.460	0.218									
Sapın Kopması	0.049	-0.422	0.402	-0.092								
Meyve Et Rengi	0.076	0.092	<b>0.566</b>	0.018	0.726							
Erken Çiçek Oranı	0.072	-0.250	0.164	0.164	-0.130	0.381						
Erken Meyve Oranı	0.177	0.334	0.528	0.301	0.619	0.131	<b>0.681</b>					
Bitki Gücü	0.133	-0.172	0.005	0.231	-0.185	-0.055	0.003	<b>0.618</b>				
Bitki Tipi	0.610	0.509	0.985	0.373	0.477	0.834	0.000	0.008	<b>0.857</b>			
Meyve İriliği	-0.019	0.723	0.033	-0.033	-0.225	0.305	0.000	<b>0.746</b>	0.000	<b>0.655</b>		
Olgunlaşmış Renk	0.942	-0.069	0.899	0.900	0.385	0.234	0.000	0.022	0.085	0.004	<b>0.550</b>	
Hastalık (Külleme)	-0.008	0.793	0.131	0.142	-0.050	0.324	0.000	0.296	0.035	0.255	0.022	0.206
	0.976	-0.306	0.260	0.261	0.850	-0.095	0.327	0.248	0.895	0.324	0.022	0.428
	-0.112	0.232	0.313	0.312	0.178	0.717	0.200	0.006	<b>0.634</b>	<b>0.771</b>	0.312	
	0.669	-0.239	0.390	0.122	-0.098	0.040	0.003	0.026	0.006	0.000	0.223	
	0.175	0.355	0.121	0.641	0.709	-0.243	0.012	0.296	0.035	0.255	0.550	
	0.502	-0.099	<b>0.603</b>	0.016	-0.325	0.348	0.962	0.248	0.895	0.324	0.022	
	0.383	0.706	0.100	0.296	-0.147	0.040	<b>0.672</b>	<b>0.539</b>	<b>0.634</b>	<b>0.771</b>	0.312	
	0.129	-0.061	0.704	0.248	0.573	0.878	0.003	0.026	0.006	0.000	0.223	

\*Koyu renk ile belirtilenler rakamlar arasında istatistiksel olarak korelasyon tespit edilmiştir

Çizelge 4.3. Çalışılan özelliklerin genotiplere göre ortalama değerleri

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12	G13	G14	G15	G16	G17
<b>Meyve Şekli</b>	1.83	1.33	1.75	1.40	1.50	1.78	1.20	1.15	2.00	2.00	1.00	1.00	2.00	2.00	2.00	1.00	1.00
<b>S.S.*</b>	(0.39)	(0.52)	(0.46)	(0.55)	(0.52)	(0.44)	(0.42)	(0.38)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)
<b>Net Tipi</b>	2.00	2.00	2.00	2.00	1.00	2.00	2.00	1.00	3.00	3.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	4.00
<b>S.S.</b>	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)
<b>VejetatifAksamRengi</b>	1.67	1.00	2.13	1.00	1.83	1.44	1.20	1.31	1.23	1.33	1.17	1.13	1.50	2.09	1.57	1.44	1.36
<b>S.S.</b>	(0.89)	(0.00)	(0.99)	(0.00)	(0.72)	(0.53)	(0.42)	(0.48)	(0.44)	(0.49)	(0.39)	(0.35)	(0.52)	(0.94)	(0.85)	(0.73)	(0.51)
<b>Mühür</b>	1.33	2.00	2.00	1.80	1.92	1.56	2.20	1.85	1.54	1.58	1.75	1.40	2.08	2.09	1.64	1.63	1.46
<b>S.S.</b>	(0.78)	(1.10)	(0.93)	(1.10)	(0.90)	(0.88)	(0.63)	(0.90)	(0.52)	(0.79)	(0.96)	(0.83)	(0.90)	(0.83)	(0.63)	(0.81)	(0.52)
<b>Sapın Kopması</b>	1.50	1.67	1.38	2.00	1.67	1.89	1.70	1.69	1.85	1.58	1.83	1.87	1.67	1.27	1.21	1.81	1.27
<b>S.S.</b>	(0.52)	(0.52)	(0.52)	(0.00)	(0.49)	(0.33)	(0.48)	(0.48)	(0.38)	(0.52)	(0.39)	(0.35)	(0.49)	(0.47)	(0.43)	(0.40)	(0.47)
<b>Meyve Et Rengi</b>	1.42	1.67	1.63	1.20	1.58	1.11	1.40	1.77	1.69	1.83	1.75	1.67	1.75	1.82	1.50	1.63	1.27
<b>S.S.</b>	(0.52)	(0.52)	(0.52)	(0.45)	(0.52)	(0.33)	(0.52)	(0.44)	(0.48)	(0.39)	(0.45)	(0.49)	(0.45)	(0.41)	(0.52)	(0.50)	(0.47)
<b>ErkenÇiçekOranı</b>	7.08	6.67	7.25	8.00	6.50	5.00	7.10	7.38	6.85	6.92	7.17	7.47	8.00	7.54	7.86	7.44	6.82
<b>S.S.</b>	(1.00)	(1.03)	(0.89)	(0.71)	(1.00)	(1.23)	(1.20)	(0.87)	(0.99)	(1.17)	(1.27)	(0.92)	(0.74)	(0.82)	(0.77)	(0.81)	(0.75)
<b>ErkenMeyveOranı</b>	7.08	5.50	6.63	7.00	3.25	4.33	5.40	6.23	4.69	4.58	5.25	6.13	6.00	6.00	6.71	5.94	5.36
<b>S.S.</b>	(1.08)	(2.74)	(1.30)	(0.71)	(2.09)	(0.87)	(1.51)	(1.09)	(1.60)	(1.24)	(1.29)	(0.74)	(0.95)	(0.89)	(0.99)	(0.57)	(1.03)
<b>Biki Gücü</b>	8.33	6.67	7.75	8.60	7.42	5.44	7.60	7.46	6.69	7.25	8.25	8.13	8.00	8.18	7.93	8.25	6.64
<b>S.S.</b>	(0.65)	(0.52)	(1.17)	(0.55)	(0.90)	(1.13)	(0.84)	(0.88)	(1.03)	(0.96)	(0.45)	(0.35)	(0.60)	(0.41)	(0.47)	(0.45)	(0.51)
<b>BikiTipi</b>	2.50	2.00	2.50	2.60	1.83	1.56	2.10	2.00	1.85	2.00	2.33	2.33	2.42	2.64	2.29	2.06	1.73
<b>S.S.</b>	(0.67)	(0.00)	(0.54)	(0.55)	(0.72)	(0.53)	(0.32)	(0.00)	(0.56)	(0.00)	(0.49)	(0.49)	(0.52)	(0.51)	(0.47)	(0.25)	(0.47)
<b>Meyve İritiği</b>	1.92	1.50	2.00	1.80	1.42	1.33	1.40	1.23	1.54	1.33	1.33	1.40	1.67	1.54	1.43	1.50	1.27
<b>S.S.</b>	(0.67)	(0.55)	(0.93)	(0.45)	(0.67)	(0.50)	(0.52)	(0.44)	(0.52)	(0.49)	(0.49)	(0.51)	(0.65)	(0.52)	(0.76)	(0.63)	(0.47)
<b>Olgunlaşmış Renk</b>	2.33	1.33	2.13	1.80	1.75	2.00	1.90	1.85	2.00	1.58	1.33	1.60	2.00	2.09	1.86	1.56	1.73
<b>S.S.</b>	(0.65)	(0.52)	(0.99)	(0.45)	(0.96)	(0.50)	(0.74)	(0.80)	(0.82)	(0.79)	(0.78)	(0.83)	(0.85)	(0.94)	(0.66)	(0.89)	(0.65)
<b>Hasatlık(Killleme)</b>	1.33	1.00	1.63	2.00	1.08	1.00	1.80	1.08	1.15	1.08	1.67	2.00	2.00	2.00	2.00	1.00	1.18
<b>S.S.</b>	(0.49)	(0.00)	(0.52)	(0.00)	(0.29)	(0.00)	(0.42)	(0.28)	(0.38)	(0.29)	(0.49)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.00)	(0.41)

\* S.S.: Standart sapma

Temel Bileşen Analizinden (TBA) elde edilen ilk 5 Eigen değeri ve %'de açıklanabilir varyanslar Çizelge 4.4'de verilmiştir. Bu çizelgeden de açık bir biçimde görüldüğü gibi, ilk üç temel bileşen toplam varyasyonun %68'ini açıklarken ilk beş bileşen varyasyonun %84'ünü açıklamaktadır. Genel kural olarak, bu çizelgenin sağlıklı bir anlam ifade etmesi için ilk üç bileşenin Eigen değeri toplamının minimum % 50 olması gerekmektedir. İlk üç bileşendeki Eigen değeri toplamının %50'den düşük olması genetik çeşitliliğin yüksek olduğunu göstermektedir. Yapılan bu çalışmada ilk üç Eigen değerinin toplamının % 68 olarak bulunması çalışılan genotipler arasında genetik çeşitliliğin yüksek olmadığını göstermektedir.

Çizelge 4.4. Temel Bileşen Analizinden (TBA) elde edilen ilk 5 Eigen değeri ve %'de açıklanabilir varyans

	Eigen Değeri	Varyans (%)	Kümülatif Varyans (%)
1	4.63	0.36	0.36
2	2.49	0.19	0.55
3	1.64	0.13	0.68
4	1.28	0.10	0.78
5	0.79	0.06	0.84

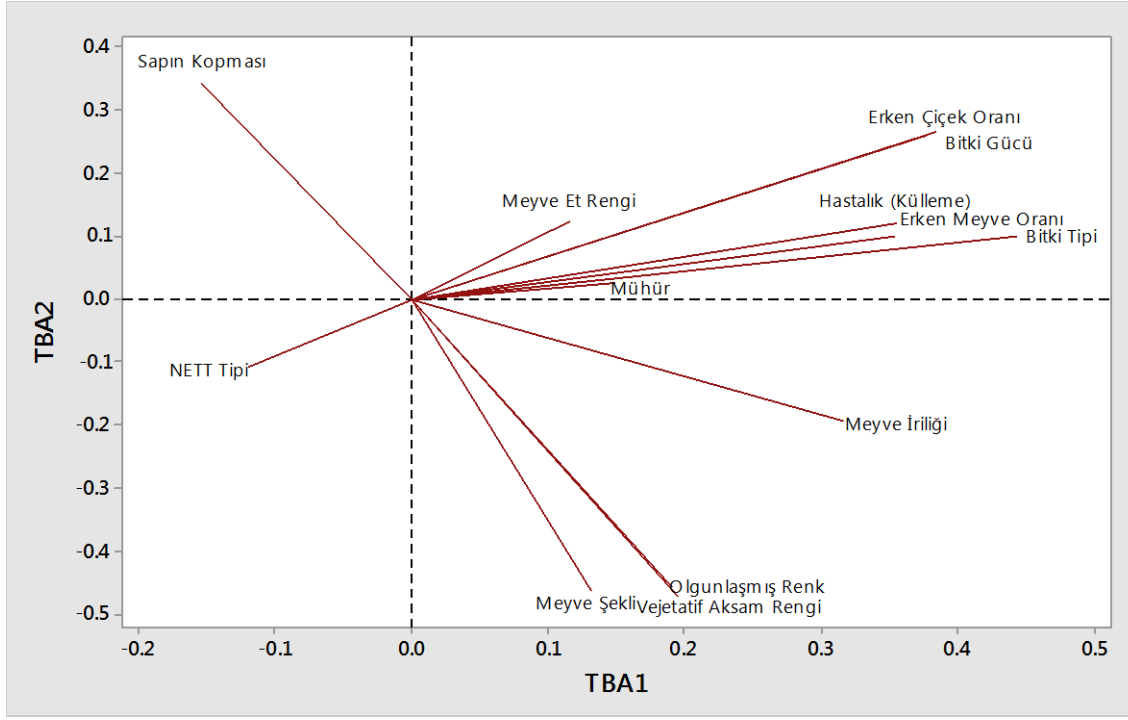
Araştırmada incelenen morfolojik özelliklere ait Temel Bileşen Analizi değerleri ilk beş temel bileşen için Çizelge 4.5'de verilmiştir. Bu çizelge incelendiği zaman, TBA1'e dahil olan özellikler erken çiçek oranı, erken meyve oranı, bitki gücü, bitkinin tipi, meyve irilik ve hastalık (Külleme) iken TBA2'ye dahil olan özelliklerin meyve şekli, vejetatif aksam rengi ve olgunlaşmış renk olduğu görülmektedir. Geriye kalan özelliklerden mühür ve meyve et rengi TBA3'e dahil olmuştur. TBA1 değerleri incelendiği zaman; 0.442 ile bitkinin tipi özelliği en yüksek değeri aldığı, -0.154 ile sapın kopması'nın en düşük değeri aldığı, yani bitkinin tipi özelliği için TBA1 değeri en fazla çeşitliliği açıklarken sapın kopması özelliği en az çeşitliliği açıklamaktadır.

Çizelge 4.5. Morfolojik özelliklere ait Temel Bileşen Analizi değerleri

Özellik	TBA1	TBA2	TBA3	TBA4	TBA5
Meyve Şekli	0.131	<b>-0.462</b>	0.084	0.037	0.326
Net Tipi	-0.120	-0.108	-0.423	0.565	-0.044
Vejetatif Aksam Rengi	0.190	<b>-0.456</b>	0.264	0.044	-0.045
Mühür	0.148	0.026	<b>0.528</b>	-0.196	-0.501
Sapın Kopması	-0.154	0.344	-0.067	-0.535	0.378
Meyve Et Rengi	0.116	0.123	<b>0.522</b>	0.389	0.515
Erken Çiçek Oranı	<b>0.376</b>	0.261	-0.012	0.238	0.016
ErkenMeyve Oranı	<b>0.354</b>	0.099	-0.347	0.007	-0.050
BitkiGücü	<b>0.384</b>	0.266	-0.000	0.025	0.143
BitkininTipi	<b>0.442</b>	0.101	-0.037	-0.025	0.073
Meyve İriliği	<b>0.316</b>	-0.193	-0.197	-0.295	0.267
Olgunlaşmış Renk	0.195	<b>-0.472</b>	-0.150	-0.240	0.008
Hastalık (Külleme)	<b>0.354</b>	0.122	-0.072	0.017	-0.362

Aynı şekilde, TBA2 için en yüksek değer (mutlak değer olarak) 0.472 ile olgunlaşmış renk özelliğine ait iken en düşük değer 0.026 ile mühür özelliğine aittir. TBA3 için ise en yüksek değeri 0.528 ile mühür özelliği almaktadır. İlk üç temel bileşenin tamamının genetik çeşitliliğe etkisine bakıldığında 0.528 ile mühür özelliğinin en etkin rolü oynadığı görülmektedir. Temel Bileşen Analizi, değişken indirgeme

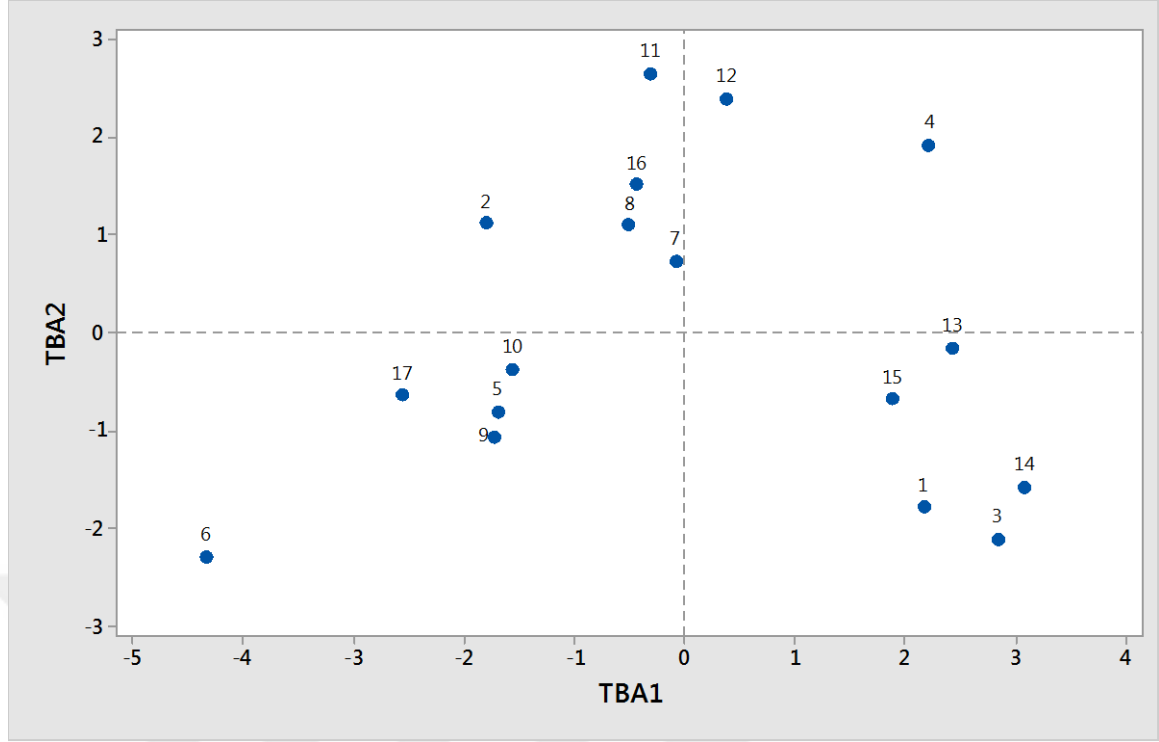
yöntemidir. Yani çok sayıda değişkeni az sayıda bileşenle ifade etmede kullanılmaktadır. Temel Bileşen değerleri kullanılarak oluşturulan grafikler genotiplerin genetik yakınlık ve uzaklıkları hakkında ıslahçıları bilgilendirerek yönlendirebilmektedir. Bu çalışmada 13 değişken 3 bileşene indirilerek genetik ilişki açıklanmaya çalışılmaktadır. Bu üç bileşenden ilk ikisi 9 değişkeni ifade ettiğinden, TBA1 ve TBA2 kullanılarak oluşturulan grafikler genotiplerin dağılımını ve birbirleri ile olan ilişkileri ortaya koymaktadırlar.



Şekil 4.1. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği özelliklerin dağılımı

Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği özelliklerin dağılımı Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Bu şekil Çizelge 4.5'in sonuçlarını doğrular niteliktedir. Şekil 4.1 incelendiği zaman, TBA1'e dahil olan erken çiçek oranı, erken meyve oranı, bitkigücü, bitkinintipi, meyveirilik ve hastalık (Külleme) özelliklerinin birbirine yakın olup bir grup oluşturdukları ve TBA2'ye dahil olan meyve şekli, vejetatif aksam rengi ve olgunlaşmış renk özelliklerinin de ayrı bir grup oluşturdukları, TBA3'e dahil olan mühür ve meyve et rengi özelliklerinin birbirlerine yakın oldukları, buna karşın nettipi ve sapın kopması adlı özelliklerin bu iki gruptan ayrı olarak yalnız kaldığı görülmektedir.

Şekil 4.2, Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği genotiplerin dağılımı göstermektedir. Bu şekil incelendiğinde, 6 nolu genotipin diğer genotiplerden oldukça uzak olduğu görülmektedir. Buna karşın (1, 3, 13, 14, 15), (7, 8, 11, 12, 16) ve (2, 5, 9, 10, 17) olacak şekilde birbirine yakın 3 ayrı genotip grubunun ortaya çıktığı görülmektedir.

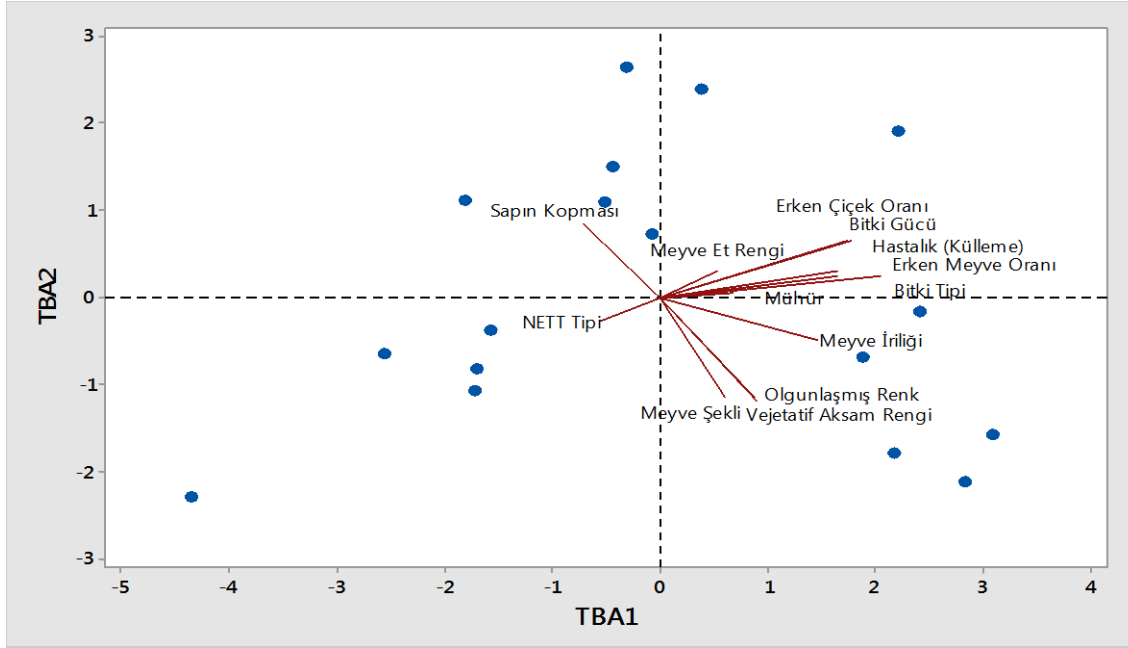


Şekil 4.2. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği genotiplerin dağılımı

Yukarıda verilen Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'nin üst üste gelmesiyle oluşturulan ikili-grafik (biplot) Şekil 4.3'te sunulmuştur. Şekil 4.3'te değişkenlerin gruplandığı görülmektedir: bütün değişkenlerin yatay eksen yönünde oldukları dikkati çekmektedir. Nettipi ve sapın kopması değişkenlerinin yönünün diğer 11 değişkenin tersi yönde olduğu da görülmektedir. Aynı yöne bakan değişkenler arasında ilişki olduğu halde ters yöne bakan Nettipive sapın kopması değişkenleri ile diğer 12 değişken arasında bir ilişkinin olduğunu söylemek mümkün değildir. Ayrıca, sapın kopması, meyve et rengi, mühür ve NetTipi değişkenlerine ait vektörlerin diğerlerine göre kısa olması, bu değişkenlerin diğerleri ile korelasyonunun zayıf olacağına işaret eder. Nitekim bu özelliklerden sadece sapın kopması ile vejetatif aksam rengi değişkeni arasında orta düzeyde bir korelasyon (0.566) bulunmaktadır. Bu şekilde birbirleri ile arasında yüksek korelasyon bulunan iki grubun olduğu net bir biçimde görülmektedir: (Erken çiçek oran, erken meyve oranı, bitki gücü, bitkinin tipi, meyve iriliği ve hastalık (külleme) ve (meyve şekli, vejetatif aksam rengi ve olgunlaşmış renk). Bir gruptaki değişkenlerin diğer gruptaki değişkenlerle ve sapın kopması, meyve et rengi, mühür ve Nettipi değişkenleri ile ilişkisi bulunmamaktadır. Bu şekilde ortaya çıkan sonuçları Çizelge 4.2'de verilen korelasyon katsayıları doğrular niteliktedir.

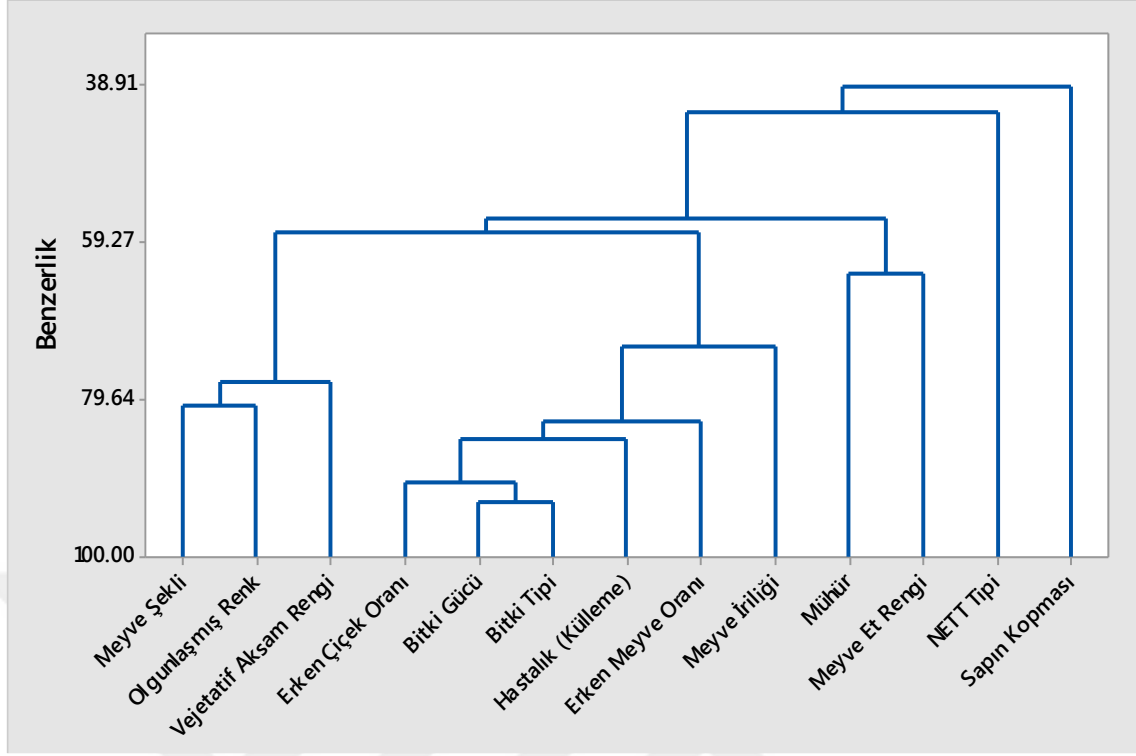
Birinci çeyrek dilimde yer alan genotipler, erken çiçek oran, erken meyve oranı, bitki gücü, bitkinin tipi, meyve et rengi ve hastalık (Külleme) özellikleri bakımından daha üstün iken dördüncü çeyrek dilimlerde yer alan genotipler meyve şekli, mühür, meyve iriliği, olgun rengi ve vejetatif aksam rengi özellikleri bakımından daha üstündürler. Buna karşılık ikinci çeyrek dilimde yer alan genotipler sadece sapın kopması özelliği bakımından üstün ve üçüncü çeyrekteki genotipler ise NET tipi

özelliği bakımından üstündürler. Çizelge 4.3'ten de hangi özelliklerin hangi genotiplerde daha yüksek ortalamalara sahip oldukları görülebilir.



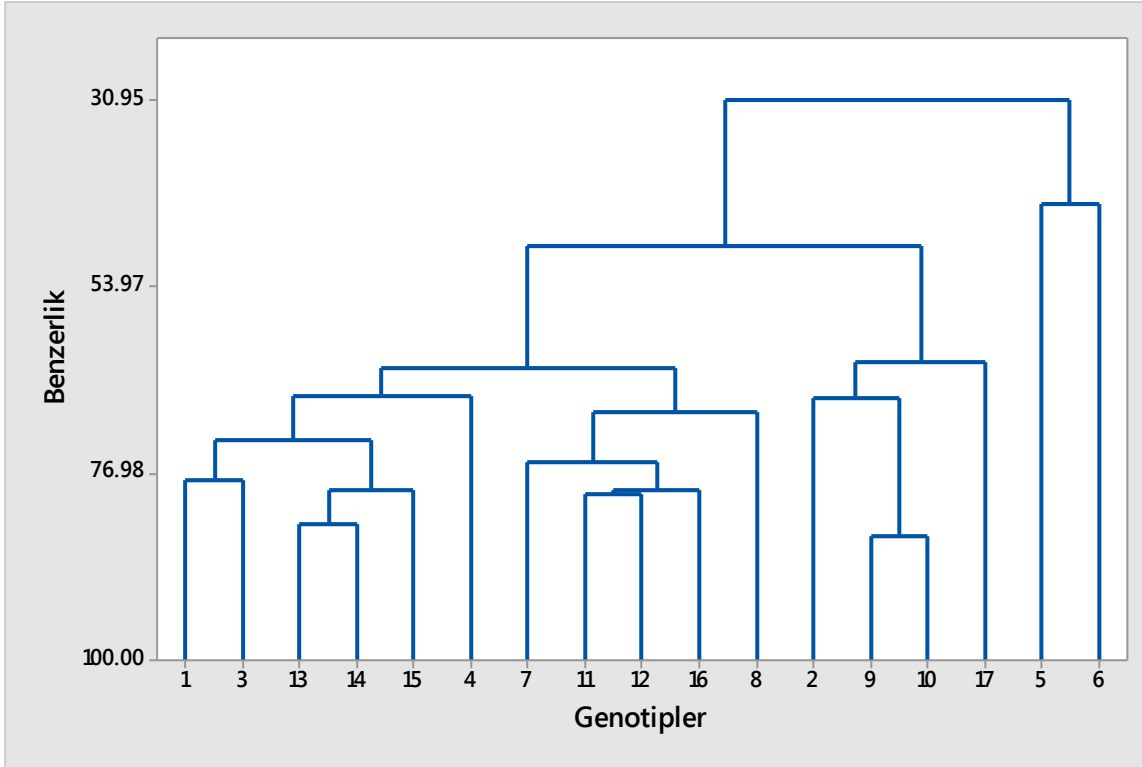
Şekil 4.3. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği 17 genotip ve 13 özelliğin birlikte yer aldığı ikili-grafik

Çalışmada kullanılan özellikler kümeleme analizine tabii tutulmuşlar ve elde edilen dendogram Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Bu şekilden Nettipi ve sapın kopması özelliklerinin diğerlerinden tamamen farklı olduğu saptanmıştır. Meyve şekli, olgun rengi ve olgunlaşmış renk özellikleri kendi aralarında kümelenmişlerken meyve et rengi, meyve irilik, erken çiçek oran, erken meyve oranı, bitki gücü, bitkinintipi ve hastalık (Külleme) özelliklerinin de ayrı bir küme oluşturdukları görülmektedir. mühür ve sapın kopması özellikleri de bir küme oluşturmuştur.



Şekil 4.4. Kullanılan özelliklerin kümeleme analizi ile sınıflandırılması

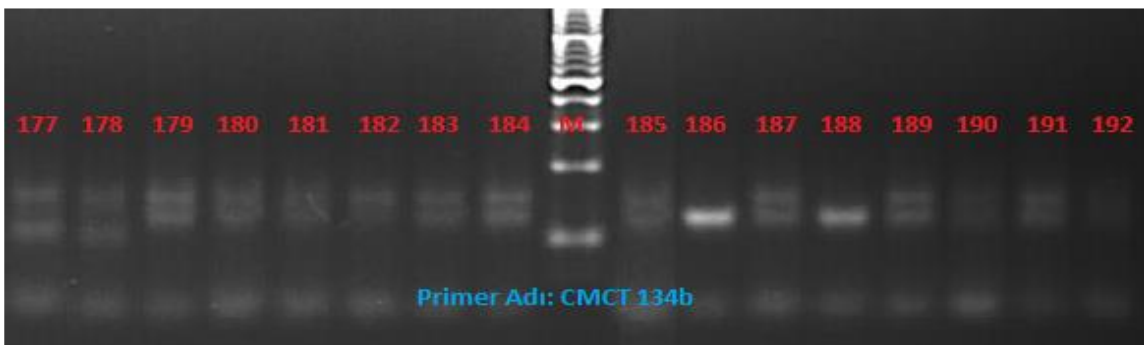
Ayrıca bu çalışmada kullanılan 17 genotip için de kümeleme analizi yapılmış ve elde edilen dendrogram Şekil 4.5’de sunulmuştur. Bu şekilden, 5 ve 6 nolu genotiplerin diğerlerinden tamamen farklı ve uzakta oldukları görülmektedir. 1, 3, 4, 13, 14 ve 15 nolu genotipler ile 7, 8, 11, 12 ve 16 nolu genotiplerin ayrı birer grup olarak dendrogramda kümelendikleri ancak genetik olarak birbirlerine yakın oldukları söylenebilir. 2, 9, 10 ve 17 nolu genotiplerin ayrı bir küme oluşturdukları da saptanmıştır.



Şekil 4.5. Genotiplerin kümeleme analizi ile sınıflandırılması

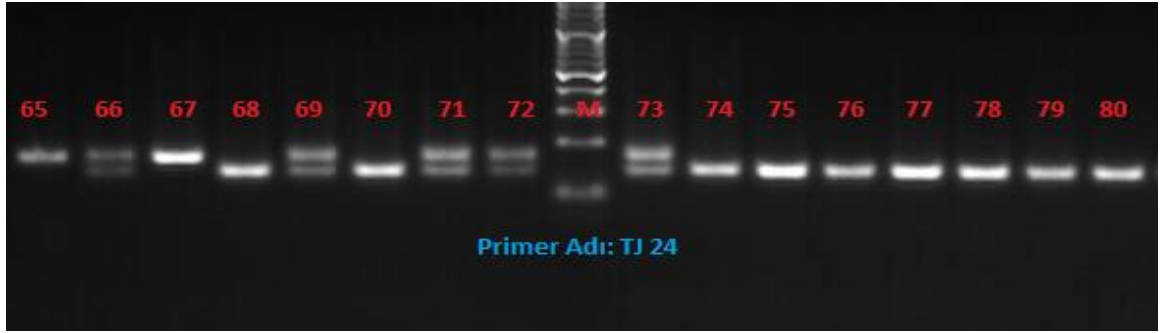
#### 4.2. Bazı Kavun Genotiplerinin Moleküler Özelliklerin Değerlendirilmesi

Çalışma kapsamında temin edilen 47 primer kavun hatları üzerinde denenmiş ve olumlu sonuç veren CMCT 134b (Şekil 4. 6), TJ24 (Şekil 4. 7), CMTA 134a (Şekil 4. 8), CMGAN 80 (Şekil 4. 9), CMAGN 73 (Şekil 4. 10), CMGA 172 (Şekil 4. 11), CMTCN 18 (Şekil 4. 12), polimorfik özellik göstermiş ve çalışma bu 7 primer ile devam etmiştir.

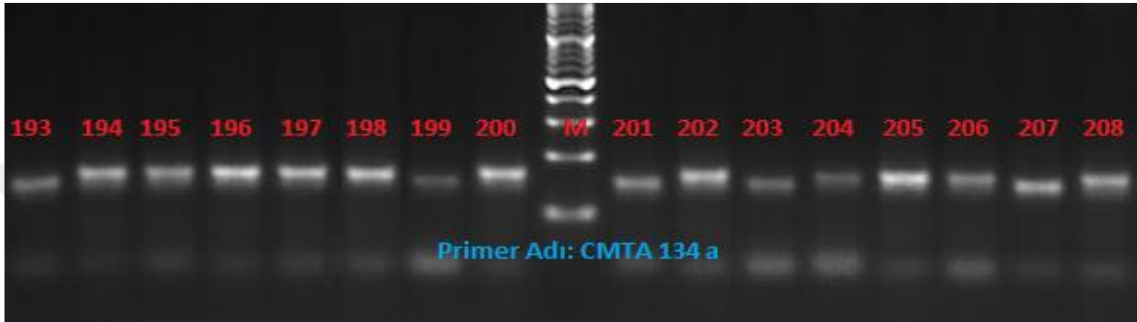


Şekil 4.6. CMCT 134b primerinin genotiplerdeki polimorfik görüntüsü

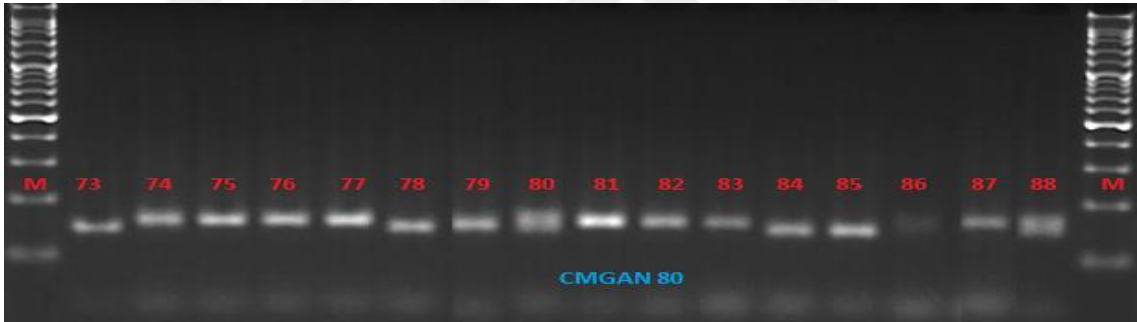




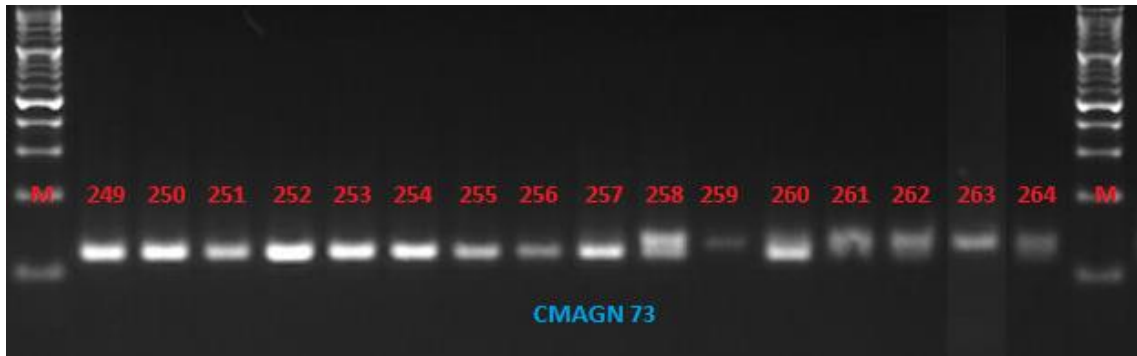
Şekil 4.7. TJ 24 primerinin genotiplerdeki polimorfik görüntüsü



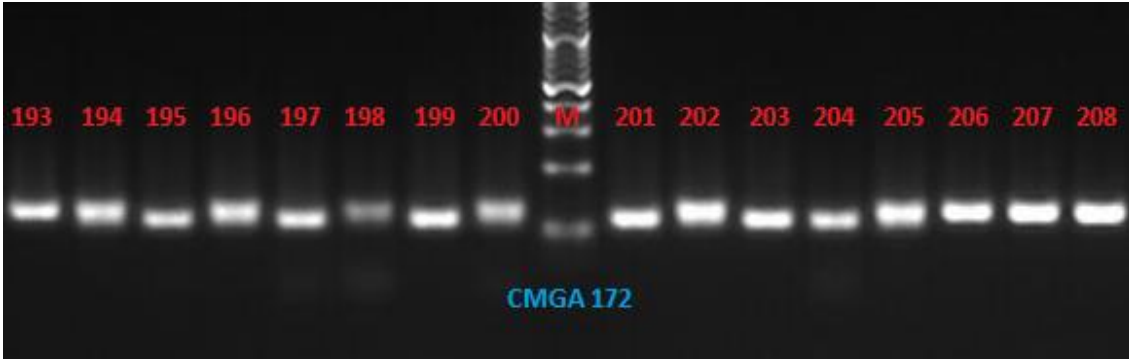
Şekil 4.8. CMIA 134a primerinin genotiplerdeki polimorfik görüntüsü



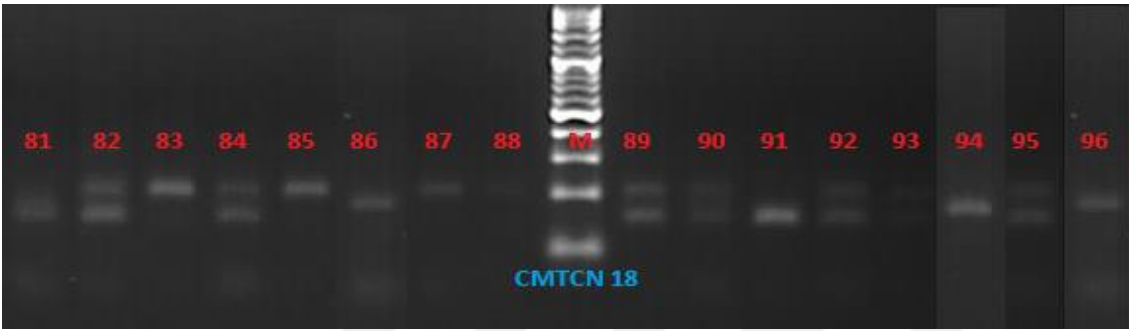
Şekil 4.9. CMGAN 80 primerinin genotiplerdeki polimorfik görüntüsü



Şekil 4.10. CMAGN 73 primerinin genotiplerdeki polimorfik görüntüsü

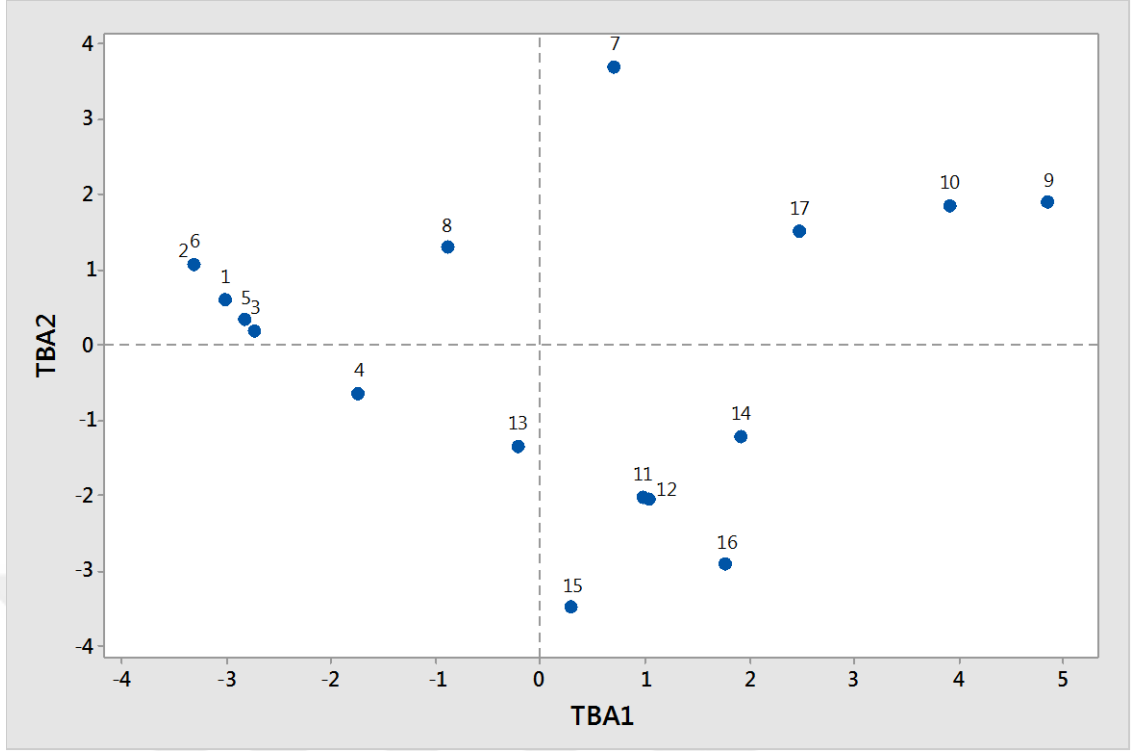


Şekil 4.11. CMGA 172 primerinin genotiplerdeki polimorfik görüntüsü

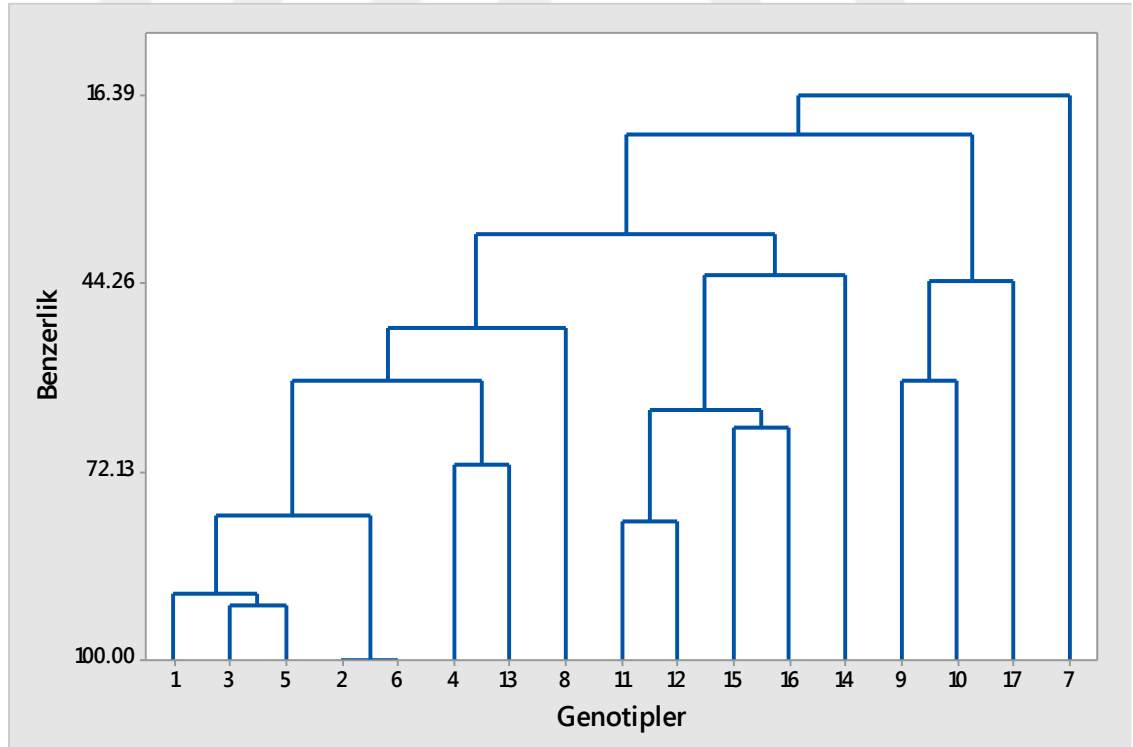


Şekil 4.12. CMTCN 18 primerinin genotiplerdeki polimorfik görüntüsü

On yedi genotipin moleküler verilerinin Temel Bileşenler ve Kümeleme Analizi sonucunda elde edilen grafikler sırasıyla Şekil 4.13 ve Şekil 4.14’de sunulmuştur. Bu grafiklerden de görüldüğü gibi, 7 nolu genotip diğer genotiplerden tamamen ayrılmıştır. 1, 2, 3, 5 ve 6 nolu genotipler bir araya gelip bir grup oluştururken bunlara daha sonra 4, 13 ve 8 nolu genotiplerin dahil olduğu görülmektedir. 11, 12, 15 ve 16 nolu genotiplerin bir küme oluşturduğu, daha sonra bunlara 14 nolu genotipin katıldığı aynı şekillerden görülmektedir. 9, 10 ve 17 nolu genotipler ise ayrı bir küme oluşturmuşlardır.



Şekil 4.13. Moleküler verilerin Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği genotiplerin dağılımı



Şekil 4.14. Moleküler verilerin kümeleme analizi sonucu 17 genotipin sınıflandırılması

### 4.3. Elde Edilen Embriyo ve Double Haploid Bitki Sayısı

Genotiplerden elde edilen meyve sayısı, embriyo sayısı, anormal embriyo, kolhisin uygulanan bitki ve double haploid bitki sayıları ile meyve başına embriyo, anormal embriyo, double haploid bitki oranları ve double haploid bitki yüzdesi Çizelge 4.6'da verilmiştir. İncelenen kavun genotipleri arasında en fazla meyve 17 nolu genotipte (74 adet) hasat edilmiştir. En az meyve ise 14 nolu genotipte (22 adet) hasat edilmiştir. Genotipler arasında en fazla embriyo sayısı 17 nolu genotipte (139 adet) tespit edilir iken, en az embriyo sayısı 6 nolu genotipte (3 adet) tespit edilmiştir. Meyve başına embriyo oranı incelendiğinde ise en yüksek meyve başına embriyo oranı %1.88 ile 17 nolu genotipte tespit edilir iken, en düşük meyve başına embriyo oranı ise %0.80 ile 6 ve 3 nolu genotiplerde tespit edilmiştir.

Genotipler arasında en fazla anormal embriyo sayısı 17 nolu genotipte (133 adet) tespit edilir iken, 15 nolu genotipte hiç anormal embriyo oluşmamıştır. 17 nolu genotipin meyve başına anormal embriyo oranı %1.80 olarak tespit edilmiştir. Genotipler arasında en fazla kolhisin uygulanan bitki sayısı 12 nolu genotipte (33 adet) tespit edilmiştir. 3, 4, 8 ve 14 nolu genotiplerde embriyolardan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. Ancak, genotipler arasında en fazla serada yetiştirilen double haploid bitki sayısı 13 nolu genotipte (20 adet) tespit edilmiştir. Genotipler arasında en fazla meyve başına oluşan double haploid bitki oranı ve meyve başına haploid bitki yüzdesi 13 nolu genotipte sırasıyla %0.50 ve %50 olarak tespit edilmiştir. İncelenen kavun genotipleri arasında embriyo ve double haploid bitkiye dönüşüm oranları arasında çok geniş bir popülasyon olduğu tespit edilmiştir.

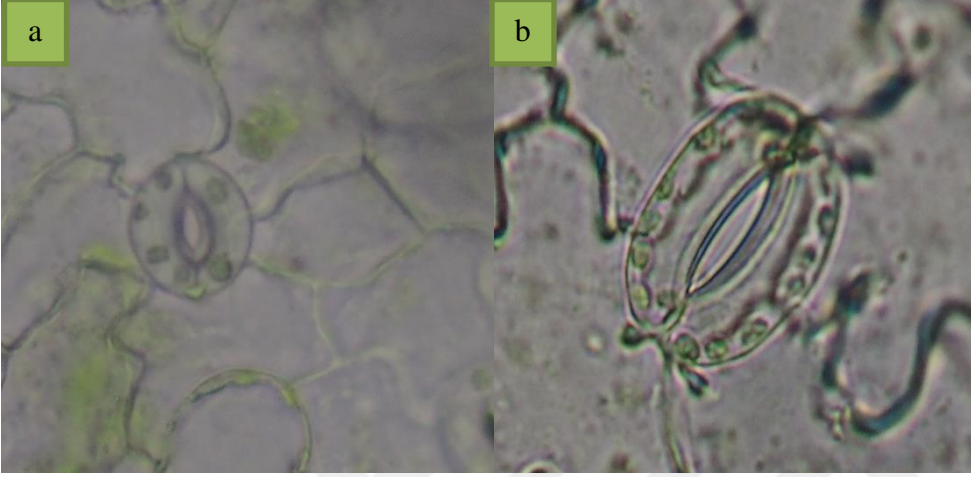
Çizelge 4.6.Farklı kavun genotiplerinde meyve sayısı, embriyo sayısı, anormal embriyo, kolhisin uygulanan bitki ve double haploid bitki sayıları ile meyve başına embriyo, anormal embriyo, double haploid bitki oranları ve double haploid bitki yüzdesi üzerine etkileri

GENOTİP	HEMS <sup>1</sup>	ES <sup>2</sup>	MBEO <sup>3</sup>	AES <sup>4</sup>	MBAES <sup>5</sup>	KUBS <sup>6</sup>	SYDHBS <sup>7</sup>	MBDHBO <sup>8</sup>	ODHBY (%) <sup>9</sup>
1	40	13	0.33	3	0.08	10	3	0.08	7.50
2	45	18	0.40	3	0.07	15	7	0.16	15.56
3	50	4	0.08	4	0.08	0	0	0.00	0.00
4	58	17	0.29	17	0.29	0	0	0.00	0.00
5	41	32	0.78	19	0.46	13	8	0.20	19.51
6	37	3	0.08	2	0.05	1	1	0.03	2.70
7	34	55	1.62	48	1.41	7	2	0.06	5.88
8	40	11	0.28	11	0.28	0	0	0.00	0.00
9	49	23	0.47	19	0.39	4	4	0.08	8.16
10	41	18	0.44	15	0.37	3	3	0.07	7.32
11	34	33	0.97	15	0.44	15	4	0.12	11.76
12	33	56	1.70	23	0.70	33	7	0.21	21.21
13	40	32	0.80	2	0.05	30	20	0.50	50.00
14	22	8	0.36	8	0.36	0	0	0.00	0.00
15	37	27	0.73	0	0.00	27	5	0.14	13.51
16	45	43	0.96	13	0.29	30	8	0.18	17.78
17	74	139	1.88	133	1.80	6	6	0.08	8.11

<sup>1</sup>Hasat edilen meyve sayısı, <sup>2</sup>Embriyo sayısı, <sup>3</sup>Meyve başına embriyo oranı, <sup>4</sup>Anormal embriyo sayısı, <sup>5</sup>Meyve başına anormal embriyo oranı, <sup>6</sup>Kolhisin uygulanan bitki sayısı, <sup>7</sup>Serada yetiştirilen double haploid bitki sayısı, <sup>8</sup>Meyve başına double haploid bitki oranı, <sup>9</sup>Oluşan double haploid bitki yüzdesi.

#### 4.3.1. Haploid ve double haploid bitkilerin ploidi seviyesinin belirlenmesi

Katlama işlemi yapılan bitkilere *in vitro* koşullarda kolhisin uygulayarak kromozom katlaması yapıldı. Yapılan katlama işleminden sonra double haploid ve haploid bitkilerin stomalarındaki kloroplastların sayımı gerçekleştirilmiştir. Haploid (Şekil 4.15a) ve double haploid bitkilerin (Şekil 4.15b) stomalarında farklılık gözlemlenmiştir.



Şekil 4.15.a) Haploid kavun bitkisi stoması, b) Double haploid kavun bitkisi stoması

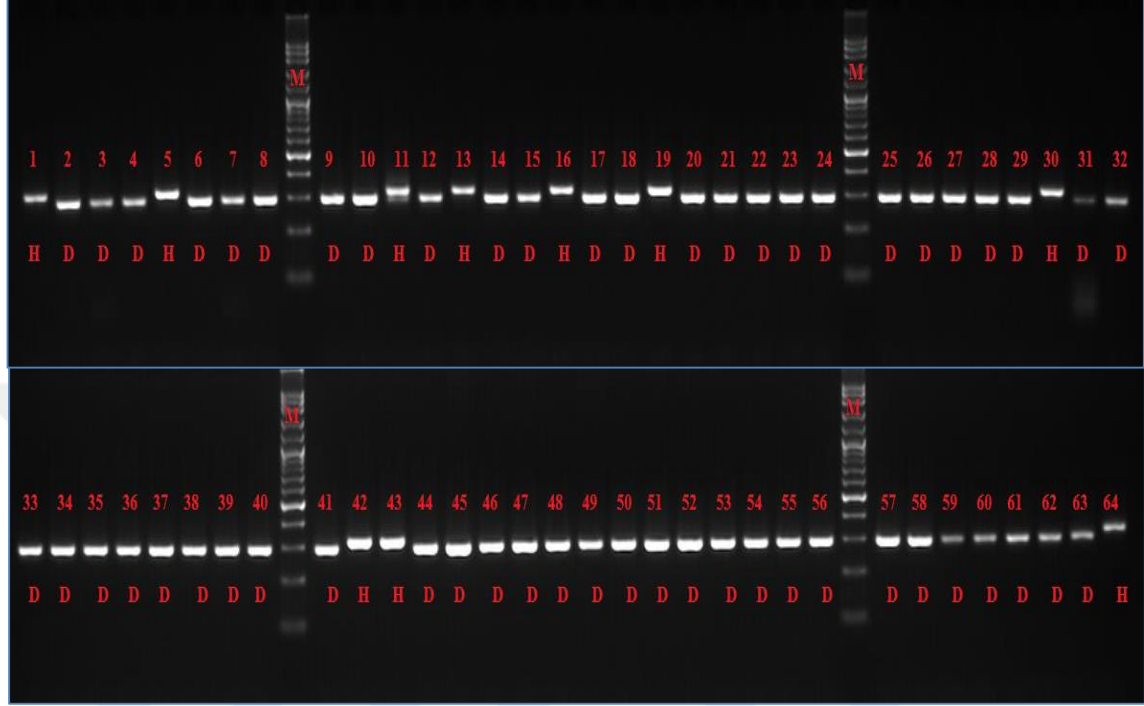
Haploid ve double haploid bitkiler arasında stoma sayıları ile ilgili farklılık yanısıra yaprak (Şekil 4.16a) ve çiçek yapılarında (Şekil 4.16b) da morfolojik farklılıklar.



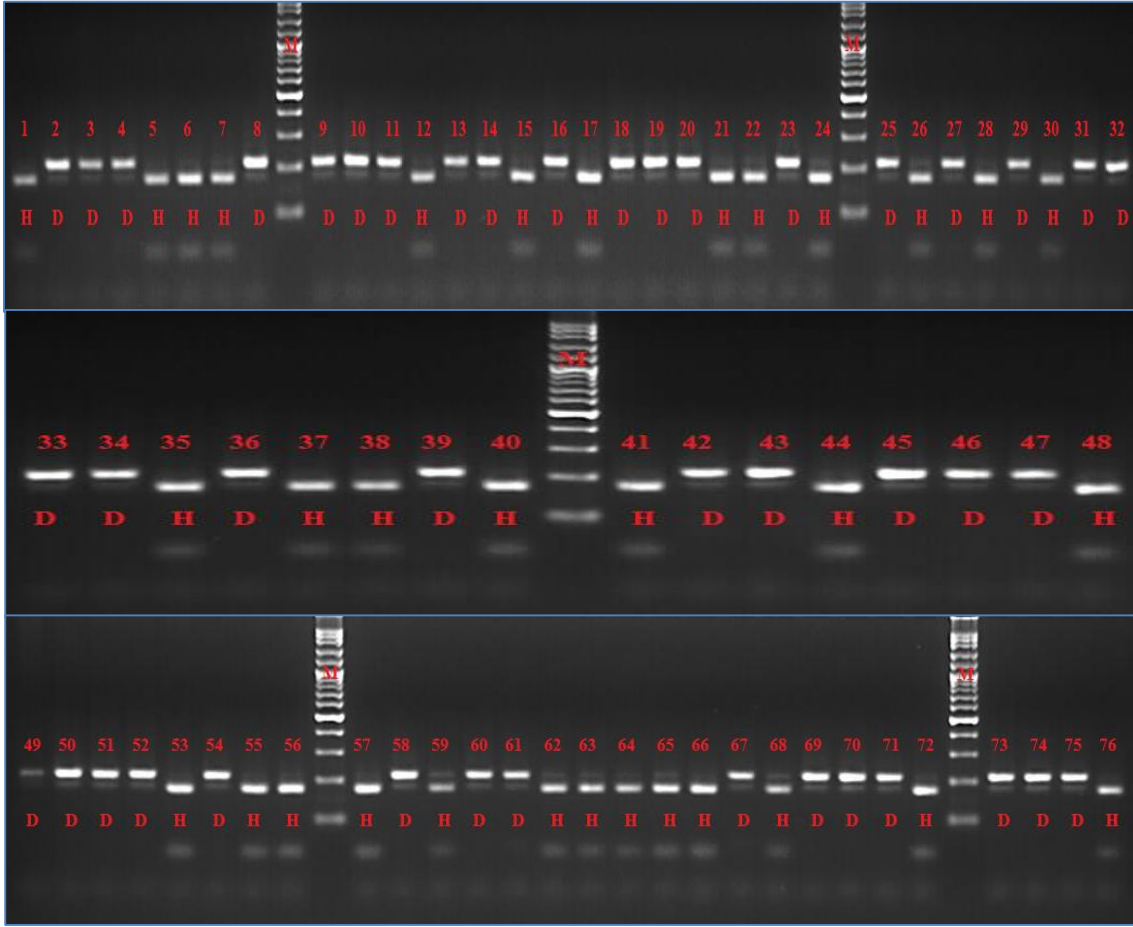
Şekil 4.16.a) Haploid ve double haploid bitkilerin yaprakları, b) Haploid ve double haploid bitkilerinin çiçekleri

#### 4.4. Double Haploid Bitkilerin Fusarium'a dayanım durumlarının moleküler olarak tespit edilmesi

Çalışmada elde edilen 76 double haploid bitki Fusarium 0, 1 (Şekil 4.17) ve 2 ırklarına (Şekil 4.18) dayanımları kullanılan markırlar ile moleküler olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.17. Double haploid bitkilerin Fusarium 0,1 ırklarına karşı genotiplerin dayanımın moleküler olarak tespiti



Şekil 4.18. Double haploid bitkilerin Fusarium 2 ırklarına karşı genotiplerin dayanımının moleküler olarak tespiti

Çalışmada elde edilen 76 double haploid üzerine yapılan araştırma sonucunda genotiplerden; 1, 5, 11, 16, 19, 30, 42, 43, 64, 65, 67, 68, 71, 73 ve 75 nolu genotiplerin fusariumun 0 ve 1 ırklarına hassas ve diğer genotiplerin dayanıklı olduklarını belirlenmiştir. İncelenen genotiplerin Fusarium 2 ırkına dayanıklılık sonuçlarına göre; 1, 5, 6, 7, 12, 15, 17, 21, 22, 24, 26, 28, 30, 35, 37, 38, 40, 41, 44, 48, 53, 55, 56, 57, 59, 62, 63, 64, 65, 66, 68, 72, ve 76 nolu genotipler dayanıklı olduğu, diğer genotiplerin hassas olduğu belirlenmiştir. Bunun sonucunda 34 genotipin (2, 3, 4, 8, 9, 10, 14, 18, 20, 23, 25, 27, 29, 31, 32, 33, 34, 36, 39, 45, 46, 47, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 58, 60, 61, 69, 70, ve 74 nolu genotipler) Fusarium 0,1 ve 2 ırkına dayanıklı olduğu tespit edilmiştir.



#### 4.5. Double Haploid Bitkilerin Morfolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Tez çalışmasının bu kısmında, double haploid kavun genotipinde, 6 morfolojik karakter için gözlem yapılmış ve elde edilen verilerin istatistiksel analizleri, Temel Bileşenler Analizi (TBA) ve Kümeleme (Cluster) Analiz Yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar çizelge ve şekillerle sunulmuştur. Morfolojik karakterizasyonu yapılan kavun genotiplerine ait 6 özelliğin tanımlayıcı istatistikleri Çizelge 4.7’de ve bu özellikler arasındaki korelasyon katsayıları anlamlılık dereceleri ile birlikte Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Morfolojik karakterizasyonu yapılan genotiplerin tanımlayıcı istatistikleri

Morfolojik Özellikler	Ortalama Standart sapma	Min-Maks.	CV(%)
MeyveTipi	1.07±0.25	1-2	23.42
Erken Çiçek Oranı	6.01±1.11	4-8	18.52
Erken Meyve Oranı	5.21±0.98	3-8	18.89
BitkiGücü	6.46±1.47	3-9	22.81
BitkiTipi	1.68±0.52	1-3	30.98
Hastalık (Külleme)	1.07±0.25	1-2	23.42

Korelasyon katsayılarını içeren Çizelge 4.8’den de görüldüğü gibi, meyve tipi ve hastalık (külleme) ile diğer özellikler arasında düşük düzeyde ilişkiler varken, erken çiçek oranı, erken meyve oranı, bitki gücü ve bitkinin tipi özelliklerinin birbirleriyle olan ilişkileri daha yüksek ve istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.8. Morfolojik özellikler arasındaki korelasyon katsayıları ve anlamlılıkları

	Meyve Tipi	Erken Çiçek Oranı	Erken Meyve Oranı	BitkiGücü	BitkininTipi
Erken Çiçek Oranı	-0.003 0.978				
Erken Meyve Oranı	-0.003 0.980	<b>0.679</b> 0.000			
BitkiGücü	-0.120 0.303	<b>0.476</b> 0.000	<b>0.374</b> 0.001		
BitkininTipi	-0.043 0.712	<b>0.420</b> 0.000	<b>0.287</b> 0.012	<b>0.608</b> 0.000	
Hastalık (Külleme)	0.144 0.216	0.333 0.003	0.214 0.063	0.134 0.248	-0.043 0.712

Temel Bileşen Analizinden (TBA) elde edilen ilk 5 Eigen değeri ve %’de açıklanabilir varyanslar Çizelge 4.9’da verilmiştir. Bu çizelgeden de görüldüğü üzere, ilk üç temel bileşen toplam varyasyonun %78’ini açıklarken ilk beş bileşen varyasyonun %95’ini açıklamaktadır. Yapılan analizlerin bu kısmında ilk üç Eigen değerinin toplam açıklanan varyansının %78 olarak bulunması çalışılan genotipler arasında genetik çeşitliliğin yüksek olmadığına işaret etmektedir.

Çizelge 4.9. Temel Bileşen Analizinden (TBA) elde edilen ilk 5 Eigen değeri ve %'de açıklanabilir varyans.

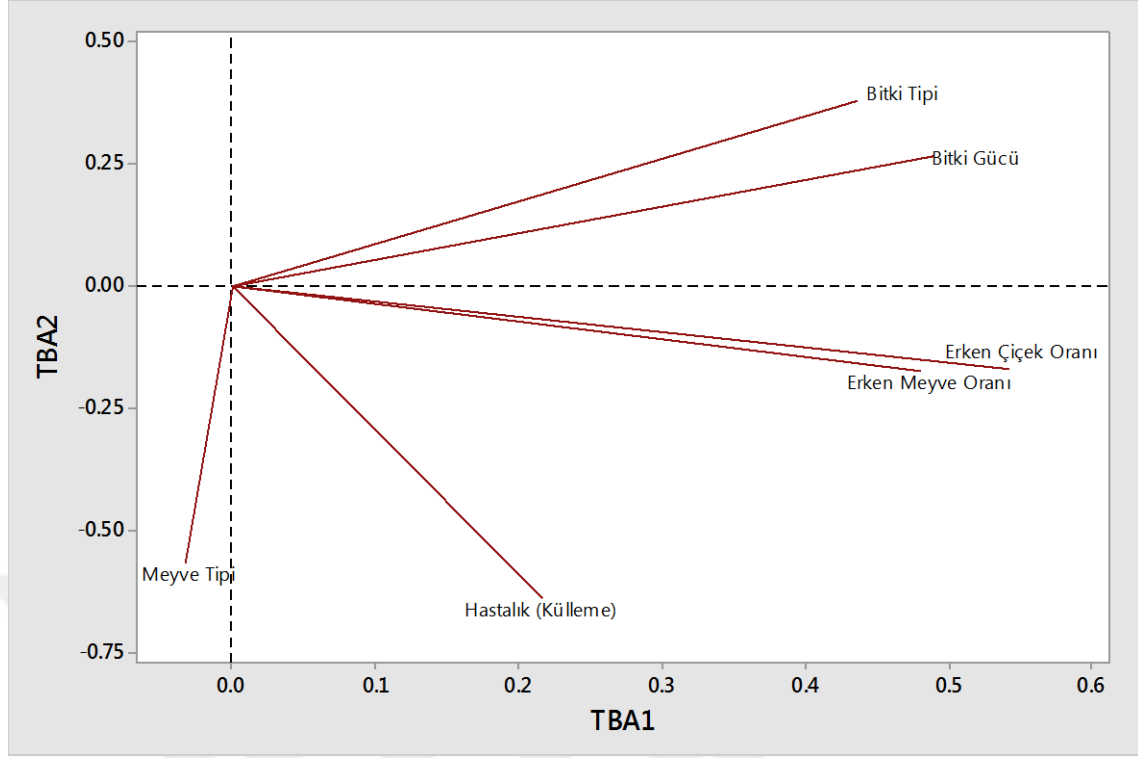
	Eigen Değeri	Varyans (%)	Kümülatif Varyans (%)
1	2.50	0.42	0.42
2	1.25	0.21	0.63
3	0.90	0.15	0.78
4	0.71	0.12	0.89
5	0.37	0.06	0.95

Araştırmada incelenen morfolojik özelliklere ait Temel Bileşen Analizi değerleri ilk beş temel bileşen için Çizelge 4.10'da verilmiştir. Bu çizelge incelendiği zaman, TBA1'e dahil olan özelliklerin aralarında yüksek korelasyon bulunan (Çizelge 4.8) erken çiçek oran, erken meyve oranı, bitki gücü ve bitkinintipi özellikleri olduğu görülmektedir. Buna karşılık TBA2 ve TBA3'e dahil olan özelliklerin sırasıyla hastalık (Külleme) ve MeyveTip olduğu bulunmuştur. TBA1'e dahil olan özelliklerin 0.436 ile 0.541 arasında Eigen değerleri aldıkları Çizelge 4.10'dan görülmektedir. TBA2 ve TBA3'e dahil olan hastalık (Külleme) ve meyvetip özelliklerine ait Eigen değerleri ise sırasıyla -0.637 ve -0.803 olarak bulunmuştur. Bu üç temel bileşenin genetik çeşitliliğe etkisi incelendiğinde, en etkin rolü oynayan özelliklerin meyvetip ve hastalık (Külleme) olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.10. Morfolojik özelliklere ait Temel Bileşen Analizi değerleri

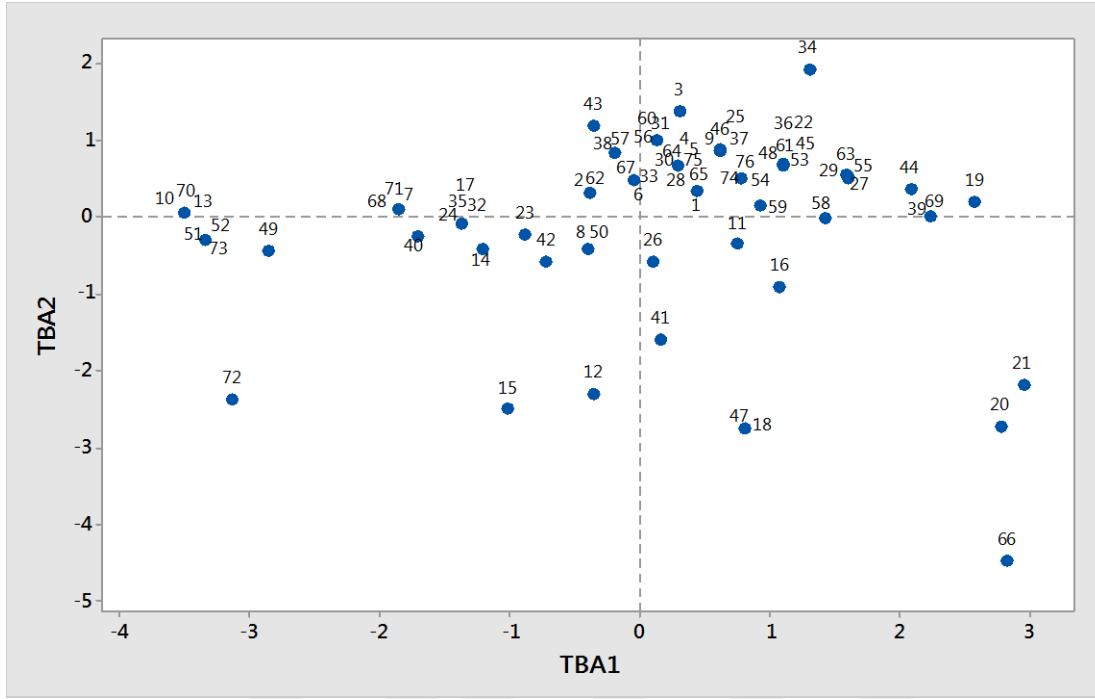
Özellik	TBA1	TBA2	TBA3	TBA4	TBA5
MeyveTip	-0.033	-0.566	<b>-0.803</b>	0.127	0.125
Erken Çiçek Oran	<b>0.541</b>	-0.171	0.134	0.235	-0.280
ErkenMeyve Oranı	<b>0.480</b>	-0.174	0.196	0.595	0.193
BitkiGücü	<b>0.489</b>	0.268	-0.151	-0.380	0.712
BitkininTipi	<b>0.436</b>	0.378	-0.427	-0.205	-0.586
Hastalık (Külleme)	0.216	<b>-0.637</b>	0.308	-0.621	-0.137

Çalışmanın bu bölümünde, 6 değişken 3 bileşene indirilerek genetik ilişki açıklanmaya çalışılmıştır. Bu üç bileşenden ilk ikisi 5 değişkeni ifade ettiğinden, TBA1 ve TBA2 kullanılarak oluşturulan grafikler genotiplerin dağılımını ve birbirleri ile olan ilişkilerini net bir biçimde ortaya koymada yeterlidirler. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği özelliklerin dağılımı Şekil 4.19'da gösterilmiştir. Bu şekli Çizelge 4.10'un sonuçları ile birlikte incelemek doğru olacaktır. Şekil 4.19 incelendiği zaman, TBA1'e dahil olan erken çiçek oranı, erken meyve oranı, bitki gücü ve bitkinin tipi özelliklerinin birbirine yakın olup bir grup oluşturdukları ve TBA2 ve TBA3'e dahil olan PMHastalık ve MeyveTip özelliklerinin de ayrı ayrı yerlerde yalnız kaldıkları görülmektedir.

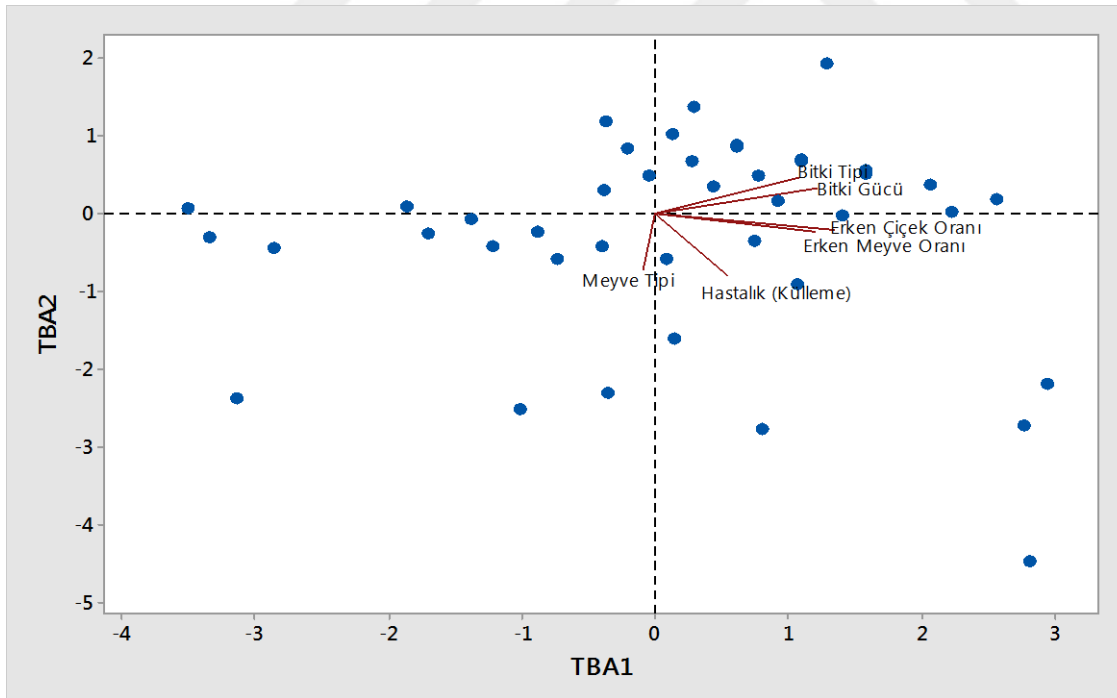


Şekil 4.19. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği özelliklerin dağılımı

Şekil 4.20, Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği genotiplerin dağılımını göstermektedir. Bu şekil incelendiğinde, çok sayıda genotip grubunun ortaya çıktığı görülmektedir. 66, 20, 21, 18 ve 47 nolu genotiplerin diğer genotiplerden oldukça uzakta oldukları bulunmuştur. Genelde çoğu genotipin birinci çeyrek dilime toplandığı açık bir biçimde görülmektedir. Yukarıda verilen Şekil 4.19 ve aşağıdaki Şekil 4.20'nin üst üste gelmesiyle oluşturulan ikili-grafik (biplot) Şekil 4.21'de sunulmuştur.

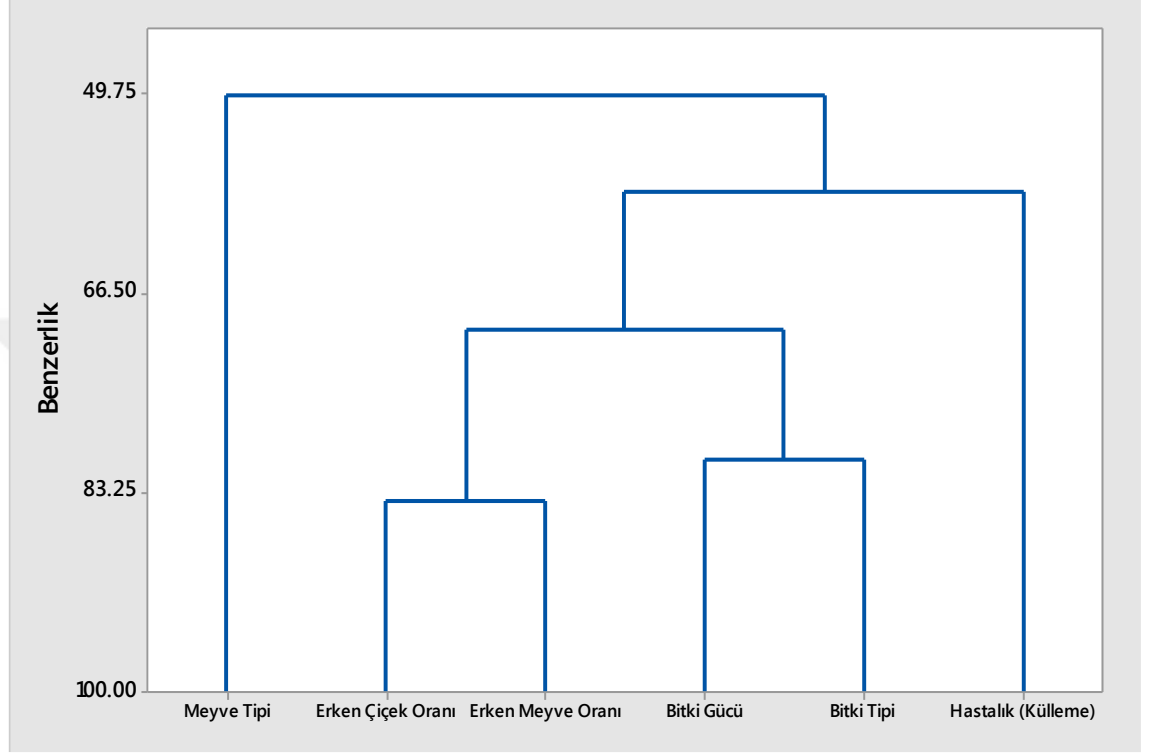


Şekil 4.20. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği genotiplerin dağılımı



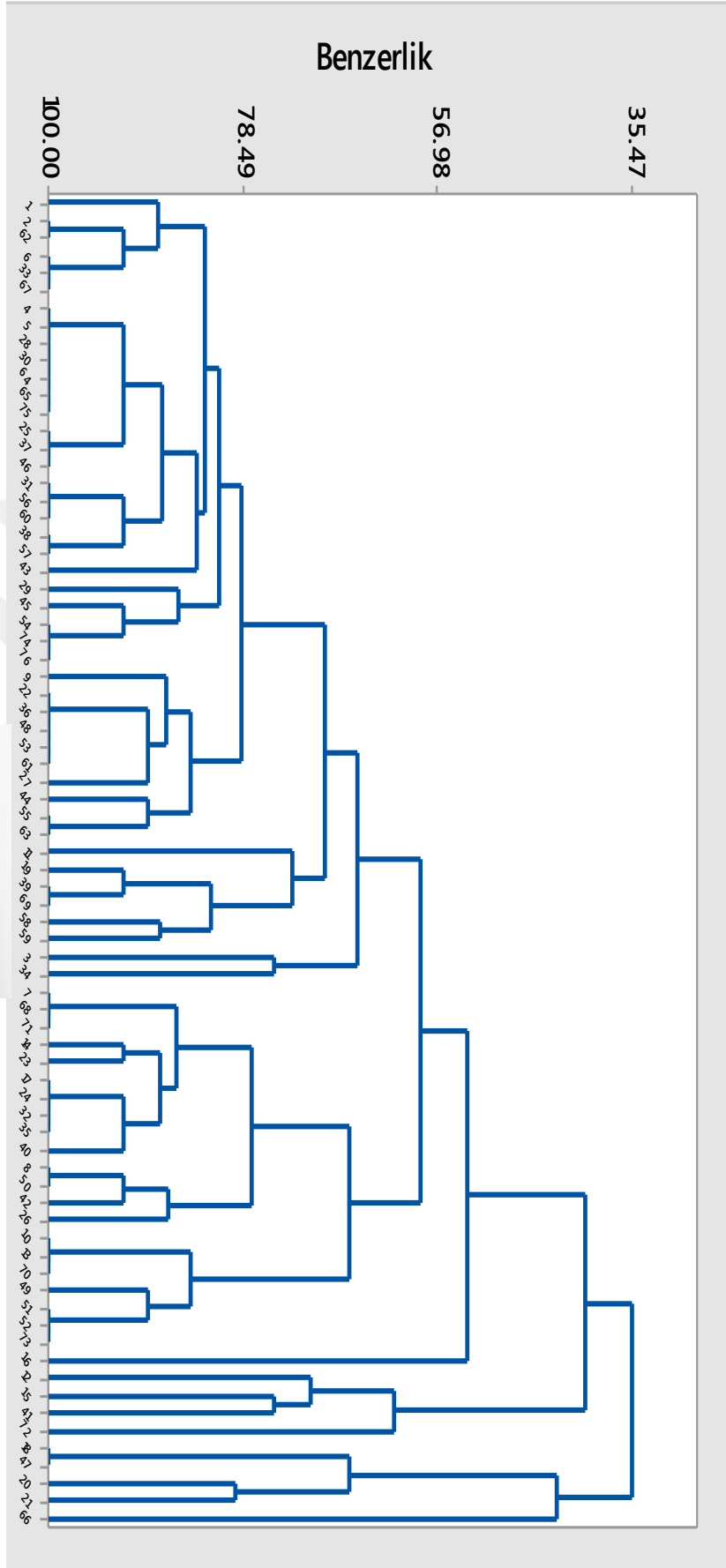
Şekil 4.21. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği double haploid genotip ve 6 özelliğin birlikte yer aldığı ikili-grafik

Çalışmada kullanılan özellikler kümeleme analizine tabii tutulmuşlar ve elde edilen dendogram Şekil 4.22’de gösterilmiştir. Bu şekilden meyvetip özelliğinin diğerlerinden tamamen farklı olduğu saptanmıştır. Erken çiçek oran ile erken meyve oranı ve bitki gücü ile bitkinin tipi birer grup oluşturmuş ve bu gruplar birbirlerine oldukça yakın gruplar olmuştur. Daha sonra hastalık (Külleme) özelliği bu gruplara bağlanmıştır.



Şekil 4.22. Kullanılan 6 özelliğin kümeleme analizi ile sınıflandırılması

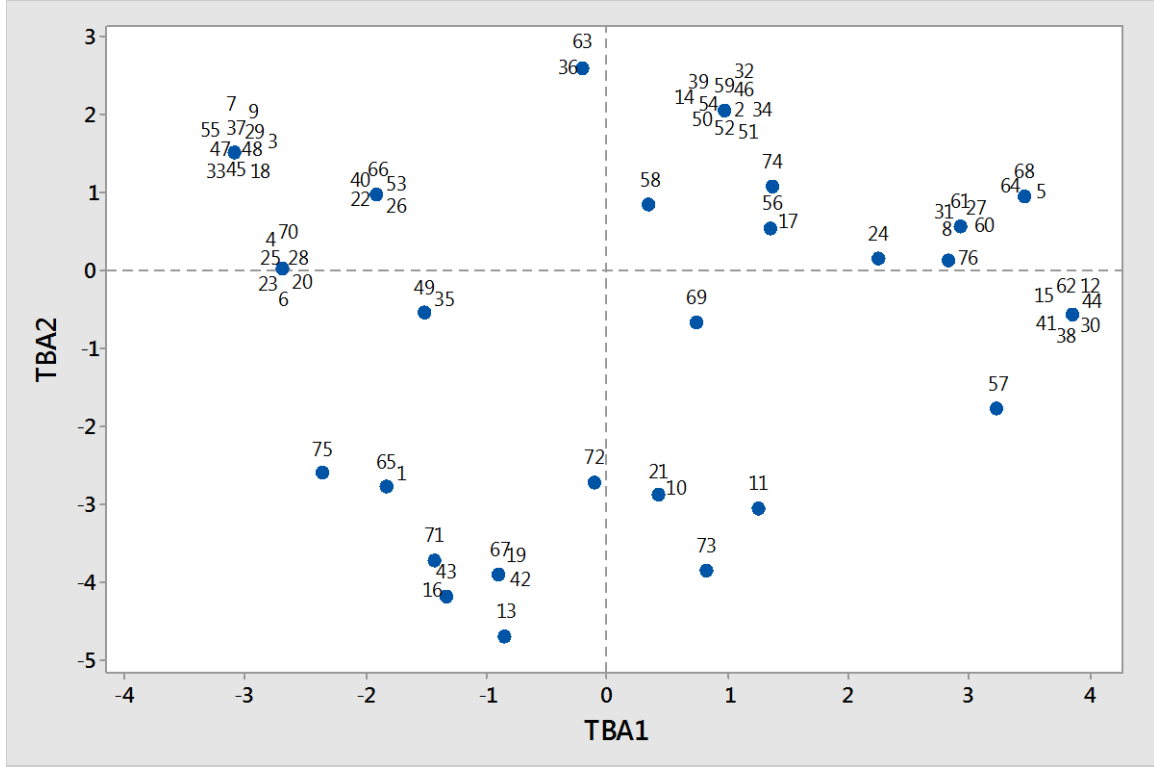
Çalışmanın bu bölümünde kullanılan double haploid bitki genotipleri (76 genotip) için de kümeleme analizi yapılmış ve elde edilen dendogram Şekil 4.23’de sunulmuştur.



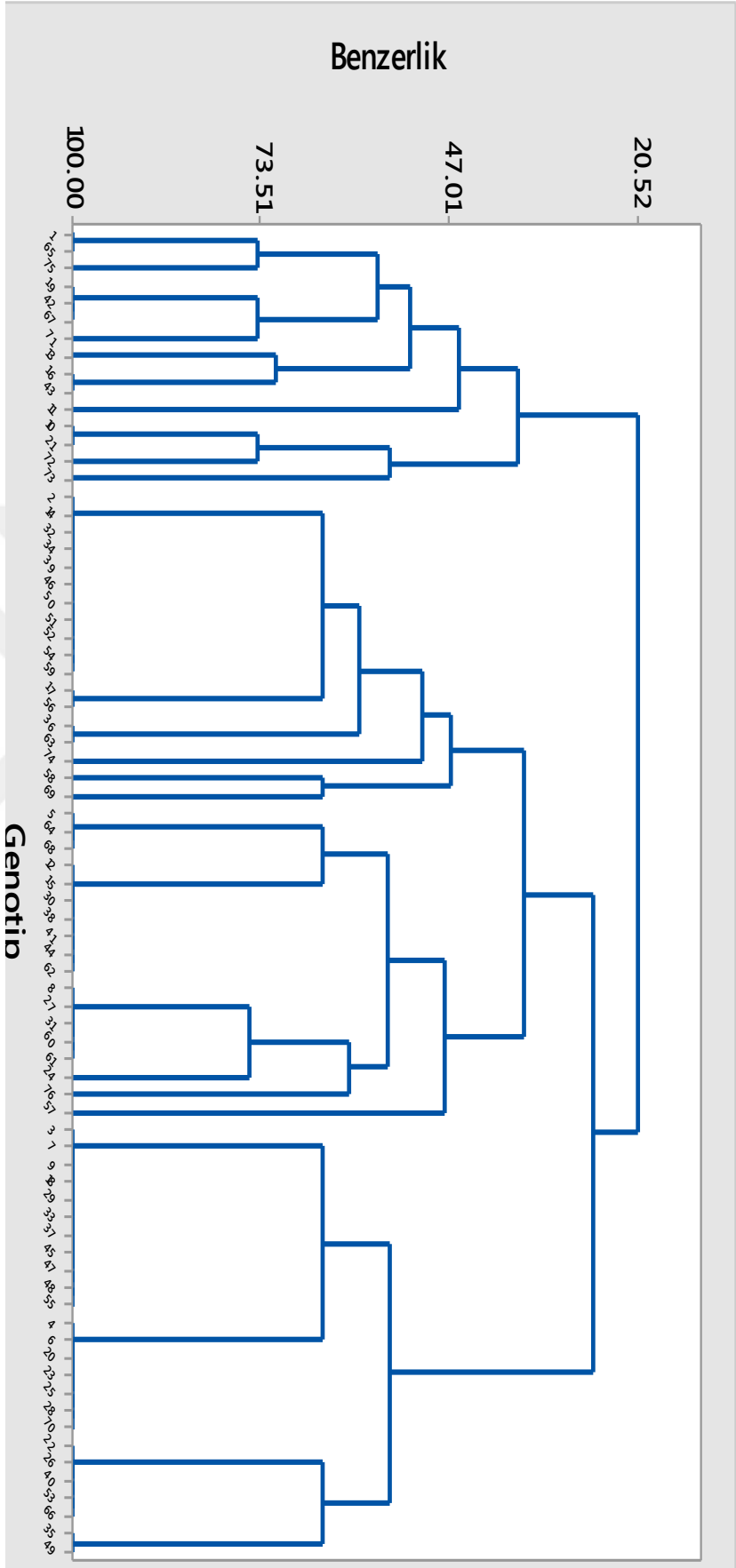
Şekil 4.23. Double haploid bitkilerin genotiplerin kümeleme analizi ile sınıflandırılması

#### 4.6. Double Haploid Bitkilerin Moleküler Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Çalışmanın bu kısmında, double haploid genotipin moleküler verilerinin Temel Bileşenler ve Kümeleme Analizi sonucunda elde edilen grafikleri sırasıyla Şekil 4.24 ve Şekil 4.25’de sunulmuştur. Bu grafiklerden de görüldüğü gibi, genotipler çok sayıda grup ve alt gruplar oluşturmuşlardır. Ancak Şekil 4.25’ün detaylı olarak incelenmesinden görüleceği üzere 4 adet ana grup mevcuttur.



Şekil 4.24. Moleküler verilerin Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2'nin temsil ettiği double haploid bitkilerin genotipik dağılımı



Şekil 4.25. Double haploid bitkilerin moleküler verilerin kümeleme analizi sonucu genotipik olarak sınıflandırılması



Bu ve benzer çalışmalardan, morfolojik karakterizasyonun net bir sonuç verebilmesinin, ortam şartlarının stabil olması ve çok daha fazla özelliğın incelenmesi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Morfolojik verilerin çevre koşullarından etkilenmesinden dolayı moleküler veriler daha güvenilir sonuçlar vermektedir. Bu nedenle genotiplerin morfolojik karakterizasyonu ve sınıflandırılmasının yapıldığı çalışmaların mutlak suretle moleküler veriler tarafından da desteklenmesi gerekmektedir.



## 5. TARTIŞMALAR

Çalışmada incelenen 13 değişken, 3 bileşene indirgenmiş ve ilk ikisi 9 değişkeni ifade etmişi saptanmıştır. TBA1 ve TBA2 kullanılarak oluşturulan grafikler genotiplerin dağılımını ve birbirleri ile olan ilişkileri ortaya koymaktadırlar. Benzer olarak bufalo çiminde yapılan çalışmada, TBA'nın kümeleme yapmada çok fayda sağladığını bildirmiştir (Gülşen vd 2005). Benzer şekilde Gülşen vd (2005) bufalo çiminde yaptıkları çalışmada TB analizinin kümelere yapmada faydalı olduğunu bildirmişlerdir.

Taşkın vd (2013), beş farklı dozda gama ışını, 2 farklı kavun genotipi ve bir çeşidin haploidi özellikleri üzerine etkilerini araştırmışlar, Genotip I'in haploid embriyo oranı %3.57 ile en başarılı bulmuşlardır. Çalışmada kullanılan ışınlama dozları (50,150,200,275, 300 Gy) içerisinde ise en başarılı olarak ışınlama dozu %5.26 haploid embriyo oluşum oranı ile 275 Gy dozu olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak, düşük dozda embriyo kalitesinin daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Baktemur vd (2014) farklı dozlarda ışınlama(150,200,300 Gy) ve farklı kabak genotipleri (14 genotip) üzerine yapmış oldukları çalışmada genotipin embriyo oluşumunu etkilediğini ve 150 Gy dozunun diğer dozlara göre daha başarılı olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, artan ışın dozunun tohum sayısı ve diploid embriyo sayısında azalma meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Belirtilen çalışmalara paralel olarak çalışmamızda 300 Gray dozunda Co<sup>60</sup> kaynaklı gama ışını kullanılmıştır. Baktemur vd (2013) beş farklı embriyo kurtarma yöntemi denedikleri çalışmada embriyonun tohum içerisindeki varlığını floresan lamba yardımıyla belirlendikten sonra embriyoyu stereo binokuler mikroskop altında çıkartılma yönteminde bir meyveden 3.10 adet embriyo elde ettiklerini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada meyve başına embriyo oranı en yüksek 1.88 bulunmuştur.

Çalışmada donör bitkiler için ilk üç temel bileşenin toplam varyasyonun %68'ini açıklar iken, ilk beş bileşen %84'ünü açıklamıştır ama double haploid bitkiler için ilk üç temel bileşenin toplam varyasyonun %78'ini açıklar iken, ilk beş bileşen % 95'ünü açıklamıştır. Kullanılan genotiplerin popülasyon çeşitliliğinin belirlenmesinde amacıyla temel bileşenler analizi önemli rol oynamaktadır. Bizim çalışmamızdaki aksine, Manohar veMurthy(2012) Hindistan'da bulunan 44 kavun genotipini incelemişler ve ilk beş bileşenin varasyonlarının toplamını %64 olarak tespit etmişlerdir. Aradaki bu farkın kavunda genotipik çeşitliliğinin yüksek olmasından ve toplanan genotip sayılarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu genotipler arasındaki farklılıktan kaynaklanan belirgin değişiklikler hemde kolhisene ve ışınlanma uygun dozları şeklinde kullanılmıştır.

Reddy vd (2013) 35 farklı kavun genotip hatlarının 18 farklı morfolojik karakter açısından incelemişlerdir. Çalışmada, kümeleme analizi yapılmış ve 6 belirgin küme oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Bu kümeler genotip sayısına göre II (22), küme I (8), küme IV (2) ve III, V, VI şeklinde sıralanmıştır. Yapılan bu araştırma esas alınarak çalışmamızda 17 farklı kavun genotipi 13 farklı morfolojik karakter incelenmiş, 4 belirgin küme oluşturduğunu tespit edilmiştir. Bu kümeler genotip sayılarına göre I (6), II (5), III (4), IV (2) şeklinde sıralanmıştır.

Kabır vd (2009) farklı 24 kabak genotipinde 9 farklı morforlojik özelliği incelenen genotiplerin 6 belirgin grup oluşturduğunu tespit edilmiştir. Bu çalışmada da benzer olarak 17 farklı genotipte 13 farklı morforlojik özellik incelenmiştir ve incelenen genotipler 4 belirgin grup oluşturduğunu tespit edilmiştir.

İncelenen 17 genotipte TBA toplam varyasyon %84 olarak tespit edilirken, 76 double haploid bitkide TBA toplam varyasyon %95 olarak tespit edilmiştir. Szamosi vd (2010) tarafından yapılan çalışmada Macar ve Türk kavunlarının morfolojik özellikleri bakımından birbirinden farklı olduğu genotipleri ayırmada en önemli karakterlerin meyve özelliklerine ait olduğu rapor edilmiştir. Bu geniş popülasyonda kantitatif verilerle yapılan genotipler arasında TBA varyasyonunun %64 olduğu belirtilmiştir.

Çalışmalarımızda genotipler arasında en fazla ve en az (sırasıyla 139, 3) embriyo sayısı tespit edilmiştir. Bu çalışmada genotipler arasında edilen double haploid bitki sayısı 0-20 arasında tespit edilir iken, Gonzalo vd (2011) farklı tip kavunla üzerine yapmış oldukları çalışmada double haploid bitkiye dönüşen bitki sayısını 0 ile 109 olarak tespit etmişlerdir. Hasat edilmiş 720 meyveden 532 embriyo elde etmiştir. Benzer olarak kavunda farklı ışınlama ve embriyo kurtama teknikleri üzerine Arı vd (2010) tarafından yapılan çalışmada hasat edilen 246 meyveden 280 haploid bitki ve 332 embriyo elde etmişlerdir. Lim ve Earle (2008) kavunda yaptıkları çalışmada kolhisin uygulamalarının ışınlanmış polen tekniği ile elde edilen bitkilerin meyve ve polen üzerine etkilerini araştırmış ve %26 double haploid dönüşme oranı belirtmişlerdir.

Çalışmamızda ise double haploid bitkiye dönüşme oranı genotiplere göre değişmekle birlikte %50'ye kadar çıkmıştır. Gürsoy (2009) kavunda yaptığı çalışmada haploid embriyoların bitkiye dönüşüm oranını en fazla %82.22 olarak tespit etmiştir. Bununla beraber ışınlanmış polenle tozlanma sonrasında meyvelerin 22. günde hasat edilmesi ve mümkünse hemen tohumlarının çıkarılması gerektiğini belirlemiş, ayrıca, meyvelerin iki haftaya kadar embriyo kalitesini kaybetmeden bekletilebileceğini ve 22 günde embriyoların % 87.5'nin, 26. günde %57.1'nin ve 30. Günde %80'nin bitkiye dönüştüğünü tespit etmiştir.

Çalışmada incelenen 76 double haploid bitkinin 15 genotipi fusarium 0 ve 1 ırkına hassas, 43 genotipinde fusarium 2 ırkına hassas olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca 33 genotipi Fusarium 0,1 ve 2 ırkına dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmaya benzer olarak Oumouloud vd (2010) kavunda fusarium 0 ve 2 ırklarına dayanıklılığın kalıtımını inceleyerek fom4 genini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar fom4 geni bulduran, fusariumun 0 ve 2 ırklarına hassas Tortuga ile Piel de Sapo çeşitleri ile fusariumun 0 ile 2 ırklarına dayanıklı fom1 geni bulduran Charentais çeşitlerini melezlemişler, çıkan F<sub>2</sub> popülasyonunda fusariumun 0 ve 2 ırklarına hassas bitkilerin gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda Tortuga çeşidinin fusarium 0 ve 2 ırklarına dayanıklılığının bir dominant ve bir resesif genle kontrol edildiğini tespit etmişlerdir.

Kavun ıslah çalışmalarında kullanılan yöntemler birbirine benzemesine rağmen, morfolojik ve moleküler karakterizasyonda farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Bu farklılıklar yöntem ve uygulama başarısından çok kavunun sahip olduğu zengin genetik varyasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir.

## 6. SONUÇ

Kavun gerek çok geniş ekolojilerde yetişme olanağı gerekse genetik çeşitlilik açısından ekonomik değeri yüksek ürünlerden biridir. Türkiye’de kavun sera ve plastik tünellerde kantaloop grubu içerisinde üretim yapılırken, açık tarla yetiştiriciliği inodorus grubuna giren kokusuz, muhafazaya dayanıklı kışlık lokal genotipler ile yapılmaktadır. Günümüzde en çok yetiştirilen kışlık kavunlar Kırkağaç ve Galia kavunlarıdır.

Morfolojik özelliklerin temel bileşenler analizi genetik materyallerinin seçiminde önemli rol oynamaktadır. Çalışmada elde edilen sonuçlar incelendiğinde, en yüksek varyasyon katsayısına sahip olan morfolojik özelliğinin %47.48 ile mühür olduğu tespit edilmişken, en düşük varyasyon katsayısına ise %13.40 ile bitki gücünün olduğu saptanmıştır.

Morfolojik olarak incelenen 17 genotip arasında: 1 küme; 7, 8 ve 11 nolu genotiplerden, 2 küme; 12 ve 16 nolu genotiplerden, 3. küme; 1, 3, 13, 14 ve 15 nolu genotiplerden, 4. küme; 2, 5, 9, 10 ve 17 nolu genotiplerden oluşmuştur. Ayrıca, incelenen genotipler arasında 4 ve 6 nolu genotipler kendi başlarına birer grup olarak tespit edilmiştir.

Donör bitkiler ve haploid bitkilerin kümülatif varyasyonları karşılaştırılmıştır. Donör bitkilerin kümülatif varyasyonunun %84 double haploid bitkilerin kümülatif varyasyonunun %95 olduğunu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, double haploid bitkilerinin kümülatif varyasyonunun donör bitkilerinininkine göre daha yüksek olduğunu göstermiştir.

Donör genotipler moleküler olarak gruplandırılmış ve gruplandırma sonucunda 4 grup belirlenmiştir. İncelenen donör genotiplerinden 9, 10, 14, ve 17 nolu genotipler 1. Grubu oluşturduğu, 4, 8, 11, 12, 13, 15 ve 16 nolu genotiplerin 2. Grubu oluşturduğu, 1, 2, 3, 5, ve 6 nolu genotiplerin 3. grubu oluşturduğu ve son olarak da 7 nolu genotip diğer gruplarla ilişkisi olmayan ayrı bir grup (4.) olduğu tespit edilmiştir.

İncelenen kavun genotipleri arasında hasat edilen meyve sayısı (22-74 adet arasında), embriyo sayısı (3 - 139 adet arasında), meyve başına embriyo oranı (0.08 - 1.88 arasında), anormal embriyo sayısı (0 - 133 arasında), meyve başına anormal embriyo sayısı (0 - 1.80), kolhisin uygulanan bitki sayısı (0 - 33), serada yetiştirilen double haploid bitki sayısı (0 - 20), meyve başına oluşan double haploid bitki oranı (0 - 0.50 arasında) ve oluşan double haploid bitki yüzdesi (%0.00 - 50) açısından incelenen genotiplerde önemli farklılıklar tespit edilmiştir.

Morfolojik olarak incelenen double haploid genotipler içerisinde incelenen morfolojik özelliklerden en yüksek varyasyon katsayısı %30.98 ile bitki tipinde tespit edilmişken, en düşük varyasyon katsayısı %18.52 ile erken çiçek oranının olduğunu görülmüştür. İncelenen 76 genotip temel bileşenler analizine göre 3 gruba ayrılmıştır. 1.grup: 18, 20, 21, 47 ve 66 nolu genotiplerden, 2.grup 12, 15, ve 72 nolu genotiplerden oluşmuştur. 3.grup ise kalan diğer genotiplerden oluşmaktadır.

Genotip aralarındaki yakınlık derecesine bağlı olarak incelenen double haploid bitkiler, moleküler inceleme sonucunda 5 gruba ayrılmıştır. İncelenen genotipler arasında 1 grup: 3, 4, 6, 7, 8, 9, 20, 22, 23, 25, 26, 28, 29, 33, 35, 37, 40, 45, 48, 49, 53, 55, 66, 70 nolu genotiplerden, 2. grup: 1, 13, 16, 19, 43, 65, 67, 71, 75 nolu genotiplerden, 3. grup: 10, 11, 21, 72, 73 nolu genotiplerden 4.grup: 5, 8, 12, 15, 24, 30, 31, 38, 41, 44, 57, 60, 61, 62, 64, 68, 76 nolu genotiplerden ve 5. grup: 2, 14, 17, 32, 34, 36, 39, 46, 50, 51, 52, 54, 56, 58, 59, 63, 69, 74 nolu genotipleri kapsayacak şekilde kümelendiği tespit edilmiştir.

Çalışmada elde edilen double haploid genotipler üzerine yapılan araştırma sonucunda genotiplerden; 1, 5, 11, 16, 19, 30, 42, 43, 64, 65, 67, 68, 71, 73 ve 75 nolu genotiplerin fusariumun 0 ve 1 ırklarına hassas ve diğer genotiplerin dayanıklı olduklarını belirlenmiştir. İncelenen genotiplerin Fusarium 2 ırkına dayanıklılık sonuçlarına göre; 1, 5, 6, 7, 12, 15, 17, 21, 22, 24, 26, 28, 30, 35, 37, 38, 40, 41, 44, 48, 53, 55, 56, 57, 59, 62, 63, 64, 65, 66, 68, 72, ve 76 nolu genotipler dayanıklı olduğu, diğer genotiplerin hassas olduğu belirlenmiştir. Bunun sonucunda 33 genotipin(2, 3, 4, 8, 9, 10, 14, 18, 20, 23, 25, 27, 29, 31, 32, 33, 34, 36, 39, 45, 46, 47, 49, 50, 51, 52, 54, 58, 60, 61, 69, 70, ve 74nolu genotipler) Fusarium 0,1 ve 2 ırkına dayanıklı olduğu tespit edilmiştir.

Dünya’da genetik ve biyoteknoloji alanında yeni gelişmeler bitki ıslahına yansımıştır. Bu kapsamda son yıllarda özellikle markıra dayanıklı seleksiyon kullanılarak istenilen özelliklerin kısa ve etkin bir şekilde belirlenmesi sağlanmaktadır. Bu işlemin yaygınlaşması hem ıslah süresini kısaltmasına hemde genetik farklılıkların net olarak belirlenmesine yol açmıştır. Yapılan bu çalışmada markır yardımıyla Türkiye’nin farklı bölgelerinden toplanmış olan toplam 17 adet dönör kavun genotipi ve 76 adet double haploid arasındaki genetik akrabalık derecelerinin karşılaştırılması fenotipik ve moleküler (SSR yöntemleri) özelliklerine bakılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla moleküler yöntemde, kullanılan 47 adet SSR primeri içerisinde net okunabilir bantlar veren 7 primerden elde edilen vebant varlığı (1) veya yokluğu (0) şeklinde belirlenen 47 adet polimorfik SSR belirteci kullanılmıştır.

Yapılan moleküler çalışmalar ile genotiplerin birbirlerine olan benzerlikleri belirlenmiştir. Bundan sonraki çalışmalarda kavunlarda moleküler heterosisin daha iyi aydınlatılması bakımından birbirinden uzak hatlarla melezlemelerin yapılması ve melezlerle ebeveynlerin değerlendirilmesi önem taşımaktadır. Benzer durumun yapılacak diğer ıslah programlarının geliştirilmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Bu çalışma devam ettirilmesi durumunda elde edilen haploid bitkilerin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda katlama işlemleri yapılarak, dihaploid hatlar geliştirilecek ve kavun ıslah programında kullanılma şansı olacaktır. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda, geliştirilen hatların diğer zararlılara karşı da tepkilerinin belirlenmesi ile bu hatlarla melezleme ıslahı programlarının yapılması, 2-3 yıl içerisinde Galia ve Kırkağaç grubundan ticari F<sub>1</sub> hibritlerin geliştirilmesi ve Türk üreticisine sunulması imkanı elde edilecektir.İslah programlarında genotiplerin moleküler ve morfolojik olarak gruplandırılması kavun ıslah programına önemli katkı sağlamıştır. Benzer şekilde yapılacak diğer ıslah çalışmalarında da genotiplerin gruplandırılmasının ıslah çalışmalarına önemli ölçüde katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

**7. KAYNAKLAR**

- ABOU KAMER, M. E, YOUSRY, M.M, and EL-GAMAL, A.M. 2015.Heterosis and heritability studies for fruit characters and yield in melon (*Cucumis melo*, L). *Middle East Journal of Applied Sciences*, 5(01): 262-273.
- AĞAOĞLU, Y.S, ÇELİK, H., ÇELİK, M., FIDAN, Y., GÜLŞEN, Y., GÜNAY, A., HALLORAN, N., KÖKSAL A.İ. and VE YANMAZ, R. 1997. Genel bahçe bitkileri. *A.ü.z.f. Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları* No: 4, Ankara,369s.
- ARİ, E., İKTEN, H., GOCMEN, M., COSKUN, R., and EREN, A. 2010. Comparative evaluation of different embryo rescue techniques on parthenogenetic melon (*Cucumis melo*, L.) fruits induced with irradiated pollen. *African Journal of Biotechnology*, 9(33): 5347.
- BAKTEMUR, G., TAŞKIN, H., and BÜYÜKALACA, S. 2013. Comparison of different methods for separation of haploid embryo induced through irradiated pollen and their economic analysis in melon (*Cucumis melo* var. *inodorus*). *The Scientific World Journal*
- BAKTEMUR, G., YÜCEL, N. K., TAŞKIN, H., ÇÖMLEKÇİOĞLU, S., and BÜYÜKALACA, S. 2014. Effects of different genotypes and gamma ray doses on haploidization using irradiated pollen technique in squash. *Turkish Journal of Biology*, 38(3): 318-327.
- BAŞAL, H. and TURGUT, İ. 2003. Yarı diallel pamuk (*G.hirsutum* L.) populasyonunda verim komponentleri ve lif kalite özelliklerinin heterozis ve uyuşma yetenekleri. *Türk. J. Agric. For.*, 27: 207-212.
- BÜYÜKÜNAL BAL, E.B., 2003. Arpa mikrosatellitlerinin ekmeklik buğdaydaki genetik çalışmalar için kullanım olanaklarının araştırılması, *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 6 (2): 34-40.
- CARDOSO, A.A.I. 2006. Diallel Among Lines of a 'Caipira' Type Cucumber Population. *Horticultura Brasileira*, 24 (2): 259-263.
- CLAVERIA, E., GARCIA-MAS, J., DOLCET-SANJUAN, R. 2005. Optimization of cucumber doubled haploid line production using *in vitro* rescue of *in vivo* induced parthenogenic embryos. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130 (4): 555-560.
- COLLARD, B.C.Y and MACKILL, D.J. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil. Transact. Royal Soc. B*. 363: 557-572.
- CUSTERS, J.B.M. and BERGERVOET, J.H.W. 1984. Embryo Size İn *Cucumissativus* X *C.Melo* As effected by irradiation of polen and genotype of the female parent. *Cucurbit Genetics Coop.*, 7:94-95.

- DANIN-POLEG, Y., REIS, N., TZURI, G. and KATZIR, N. 2001. Development and Characterization of Microsatellite Markers in *Cucumis*. *Theor. Appl. Genet.*, 102:61–72.
- DHILLON, N. P. S., RANJANA, R., SINGH, K., EDUARDO, I., MONFORTE, A. J., PITRAT, M., and SINGH, P. P. 2007. Diversity among landraces of Indian snapmelon (*Cucumis melo* var. *momordica*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54(6): 1267-1283.
- DIAZ, A., FERGANY, M., FORMISANO, G., ZIARSOLO, P., BLANCA, J., FEI, Z. and OLIVER, M. 2011. A consensus linkage map for molecular markers and quantitative trait loci associated with economically important traits in melon (*Cucumis melo* L.). *BMC Plant Biology*, 11(1): 1
- DOĞAN, M. (2011). Türkiye’de uygulanan nüfus politikalarına genel bakış. *Marmara Coğrafya Dergisi* 23: 293-307.
- DUMAS DE VAULX, R. 1979. Obtention de plantes-haploïdes chez le melon (*Cucumis Melo* L.) après pollinisation par *Cucumis ficifolius* A. Rich. *Comptes Rendus de l’Académie des Sciences. Paris, Série D*, 289: 875–878.
- EKİZ, H., FİRAT, A.F. and ÖZTÜRK, A. 1999. Studies on hybrid cucumber and melon breeding. *Acta Horticulturae*, 491:193-196.
- ELLİALTIOĞLU, Ş., SARI, N. and ABAK, K. 2001. Haploid bitki üretimi. Bitki biyoteknolojisi Cilt I - Doku Kültürü ve Uygulamaları. *S. Ü. Vakfı Yayınları*, Konya, 137- 189.
- ESİN, A., HATİCE, I., MUNEVVER, G., RECEP, C. and AHMET, E. 2010. Comparative Evaluation Of Different Embryo Rescue Techniques On Parthenogenetic Melon (*Cucumis Melo* L.) Fruits Induced With Irradiated Pollen. *African Journal of Biotechnology*, 9 (33): 5347-5356.
- FAO. 2013. Food and agriculture organization of the united nations statistics division. <http://faostat3.fao.org/download/q/qc/e>. Erişim:25.03.2016
- FAO. 2015. Nüfus İstatistikleri. <Http://Faostat3.Fao.Org/Download/O/OA/E>
- GELETA, F. L. and LABUSCHAGNE, T. 2004. Comparative performance and heterosis in single, three-way and double cross pepper hybrids. *The Journal Of Agricultural Science*, 142(6): 659-663 *Cambridge University Pres.* <http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract;jsessionid=DA829505>
- GONZALO, M. J., CLAVERÍA, E., MONFORTE, A. J., and DOLCET-SANJUAN, R. 2011. Parthenogenic haploids in melon: generation and molecular characterization of a doubled haploid line population. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 136(2): 145-154.

- GULSEN, O., SHEARMAN, R. C., VOGEL, K. P., LEE, D. J., BAENZİGER, P. S., HENG-MOSS, T. M., and BUDAK, H. 2005. Nuclear Genome Diversity and Relationships among Naturally Occuring Buffalograss Genotypes Determined by Suguence-Related Amplified Polymorphism Markers. *HortScience*, 40(3): 537-541.
- GÜRSOY, I. 2009. Yuva ve hasanbey kavunlarında ışınlanmış polenle farklı tozlama dönemlerinin meyve tutumuna etkisi ile farklı hasat tarihleri ve depolama sıcaklıklarının embriyo verimi ve bitkiye dönüşüme etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, ADANA.
- HALİT, Y. and NEBAHAT, S. 2003. A New Method For Haploid Muskmelon (*Cucumis melo* L.) dihaploidization. *Scientia Horticulturae* 98 : 277–283.
- İBRAHİM, E. A. 2012. Variability, heritability and genetic advance in egyptian sweet melon (*Cucumis melo* var. *Aegyptiacus* L.) under Water Stress Conditions. *International Journal of Plant Breeding and Genetics*, 6(4): 238-244.
- STAUB, J.E., Danin-Poleg, Y., Fazio, G., Horejsi, T., Reis, N. and Katzir, N., 2000. Comparative analysis of cultivated melon groups (*Cucumis melo* L.) using random amplified polymorphic DNA and simple sequence repeat markers. *Euphytica*, 115(3):225-241.
- JOSÉ, M. A., IBAN, E., SILVIA, A., and PERE, A. 2005. Inheritance mode of fruit traits in melon: heterosis for fruit shape and its correlation with genetic distance. *Euphytica*, 144(1-2): 31-38.
- KABIR, M.Y., KHAN, A. S. M. M. R. and HASSAIN, M. S. 2009. Genetic divergence in pointed gourd. *J Agric Rural Dev* 7(1and2): 87-92.
- KAHRAMAN, A. 2010. Bazı yerel kavun çeşitlerimizin fusarium solgunluğuna (*fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*) dayanıklılık durumlarının moleküler markörlerle belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İZMİR.
- KITROONGRUANG, N., POO-SWANG, W., and TOKUMASU, S. 1992. Evaluation of combining ability, heterosis and genetic variance for plant growth and fruit quality characteristics in thai-melon (*Cucumis melo* L., var. *Acidulus Naud.*). *Scientia horticulturae*, 50(1): 79-87.
- KOHPAYEGANI, J.A. and BEHBAHANI, M. 2008. Genetic diversity of some populations of iranian melon using ssr markers. *Biotechnology*, 7 (1): 19-26.
- KURTAR, E.S. and BALKAYA, A., 2010. Production of in vitro haploid plants from in situ induced haploid embryos in winter squash (*Cucurbita maxima* Duchesne ex Lam.) via irradiated pollen. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 102(3):267-277.



- LANG, N.T., XA, T.T.T., YEN, H. P. and THI, T.K. 2007. Genetic divergence analysis on cucumis spp. By rapid marker. *OmonRice*, 15: 46-53.
- LİM, W. and EARLE, E.D., 2008. Effect of in vitro and in vivo colchicine treatments on pollen production and fruit set of melon plants obtained by pollination with irradiated pollen. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 95(1): 115-124.
- LOPEZ SESE, I.A. and STAUB, J.E. 2002. Combining ability analysis of yield components in cucumber. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 127(6): 931-937.
- LOTFI, M., ALAN, A. R., HENNING, M. J., JAHN, M. M., and EARLE, E. D. 2003. Production of haploid and doubled haploid plants of melon (*Cucumis melo* L.) For use in breeding for multiple virus resistance. *Plant Cell Reports*, 21(11): 1121-1128.
- MANLY, B.F., 2004. Multivariate statistical methods: a primer. CRC Press.
- MANOHAR, S.H. and MURTHY, H.N. 2012. Estimation of phenotypic divergence in a collection of *Cucumis melo*, including shelf-life of fruit. *Scientia Horticulturae*, 148: 74-82.
- MONFORTE, A.J., GARCIA-MAS, J. and ARUS, P. 2003. Genetic variability in melon based on microsatellite variation. *Plant Breeding*, 122: 153-157.
- MOUSHUMI, S. and SIROHI, P.S. 2006. Gene action of quantitative characters including yield in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Indian Journal of Horticulture*, 63 (3): 341-342.
- MUNSHI, A.D., KUMAR, R. and PANDA, B. 2005. Heterosis for yield and its component in cucumber (*Cucumis Sativus* L.). *Vegetable Science*, 32(2): 133-135.
- MUNSHI, A.D. and VERMA, V.K. 1997. Studies on heterosis in muskmelon (*Cucumis melo* L.). *Vegetable Science*, 24 (2): 103-106.
- NEI, M. and LI, W.H., 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(10): 5269-5273.
- OUMOULOU, A., ARNEDO-ANDRÉS, M.S., GONZÁLEZ-TORRES, R. and ALVAREZ, J.M., 2010. Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* races 0 and 2 in melon accession Tortuga. *Euphytica*, 176(2): 183-189.
- OVESENA, J., POLAKOVALEONA, K. and LEISOVA, L. 2002. DNA Analysis and their applications in plant breeding. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 38 (1): 29-40.
- ÖZSAN, T. 2014. Farklı genetik ilerleme seviyesinde bitki kullanımının biber (*Capsicum Annuum* L.) anter ve mikrospor kültüründe haploid bitki eldesi

üzerine etkileri.Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilimdalı, ANTALYA,63s.

- REDDY, B.P.K., BEGUM, H., SUNIL, N., REDDY, M.T., BABU, J.D., REDDY, R. V.S.K. and PURUSHOTHAMA, B. 2013. Multivariate analysis of morphological diversity in local land races of muskmelon (*Cucumis melo* L.) in andhra pradesh, India. *Journal of Agricultural Technology*, 9(4): 817-828.
- REDDY, R.P.B., BEGUM, H., SUNIL, N., REDDY, M.T., BABU, J.D., REDDY, R.S. K. and REDDY, B.P. 2012. Genetic divergence analysis in muskmelon (*Cucumis Melo* L.). *Asian Journal of Science Technology*,4(12):1-6.
- ROBINSON, R.W. 2000. Rationale And Methods For Producing Hybrid Cucurbit Seed. *Journal Of New Seeds*, 1(3-4): 1-47.
- SARI, N., YETİŞİR, H., EKBİÇ, E. and GÖK, P. 2002. VI. Sebze Tarımı Sempozyumu 17-20 Eylül, Bursa.
- SAUTON, A. 1987. Obtention of embriyo and plants from *in vitro* culture of fertilized ovules of cucumis melo 5 days after pollination. *Cucurbits Genetics Cooperative Rep.*,10: 62-63.
- SEBASTIANI, M. S., and FICCADENTI, N. 2016. *In Vitro* Plant Regeneration From Cotyledonary Explants Of *Cucumis Melo* L.var. *Cantalupensis* And Genetic Stability Evaluation Using RAPD Analysis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (PCTOC), 124(1): 69-79.
- SEGUÍ-SIMARRO, J.M., CORRAL-MARTÍNEZ, P., PARRA-VEGA, V., GONZÁLEZ-GARCÍA, B. 2011. Androgenesis in recalcitrant solanaceous crops. *Plant Cell Rep*, 30: 765–778.
- SIM, S.C., DURSTEWITZ, G., PLIESKE, J., WIESEKE, R., GANAL, M.W., VAN, DEYNZE A., HAMILTON, J.P., BUELL, C.R., CAUSSE, M., WIJERATNE, S. and FRANCIS, D.M. 2012. Development of a large SNP genotyping array and generation of high-density genetic maps in tomato. *Plos One*. 7:7 e40563.
- SOLMAZ, İ., SARI, N., GÜRSOY, İ. and KASAPOĞLU, S. 2011. Comparison of *in vivo* and *in vitro* colchicine application for production of dihaploid ‘kirkagac’ and ‘yuva hasanbey’ melons. *African Journal of Biotechnology*, 10(70): 15717-15724.
- SULOCHANAMMA, B. N.2001. Heterosis in diverse muskmelon (*Cucumis melo* L.,) *Types Journal of Research ANGRAU*, 29 (1):66-70.
- SZAMOSI, C., SOLMAZ, S., SARI, S. And BARSONY, C. 2010. Morphologicalevaluation and comparison of Hungarian and Turkish melon (*Cucumis melo*L.) germplasm. *Scientia Horticulturae*,124: 170-182.

- TAŞKIN, H., KEMAL YÜCEL, N., BAKTEMUR, G., ÇÖMLEKÇİOĞLU, S., and BÜYÜKALACA, S. 2013. Effects of different genotypes and gamma ray doses on haploidization with irradiated pollen technique in watermelon (*Citrullus lanatus* L.). *Canadian Journal of Plant Science*, 93(6): 1165-1168.
- TESTER, M. and LANGRIDGE, P. 2010. Breeding technologies to increase crop production in a changing world. *Science*, 327: 818-822.
- TOMAR, R. S. and VE BHALALA, M. K. 2006. Heterosis studies in muskmelon (*Cucumis melo* L.). *Journal of Horticultural Sciences*, 144. National Research Centre for Groundnut Post Bag No.5, Ivanagar Road, Junagadh -362 001, Gujarat, INDIA.
- TUİK. 2014. Türkiye kavun istatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>
- WATERS, B.M. 2015. Identification of fruit quality and morphology qtls in melon (*Cucumis Melo*) using a population derived from flexuosus and cantalupensis botanical groups. *Euphytica*, 204:163–177.
- ÜNLÜ, M., KURUM, R., POLAT İ., ÜNLÜ, A. and SÜLÜ, G. 2014. Kavun ıslah programında geliştirilen aday hibritlerin *Fusarium oxysporum f. sp. melonis*'e moleküler olarak dayanıklılık durumlarının tespiti ve verim değerlerinin belirlenmesi. *Derim*, 31(2): 1-10.
- YILDIZ, M., EKBİC, E., KELES, D., SENSOY, S. and ABAK, K. 2011. Use of ISSR, SRAP, and RAPD markers to assess genetic diversity in turkish melons. *Scientia Horticulturae*. 130: 349-353.
- YILMAZ, N. 2009. Hibrit kavun (*Cucumis melo var. Cantalupensis*) ıslahında tekli, üçlü ve çift melezlerde heterozis üzerinde araştırmalar. Doktora Tez, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, ANTALYA, 240s.

## ÖZGEÇMİŞ



1986 yılında Minia/MISIR'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Minia'da tamamladı. 2002 yılında Minia Üniversitesi, Ziraat Fakültesi'nde başladığı lisans öğrenimine, 2006 yılında aynı bölümde araştırma görevlisi olarak devam etti. 2010 yılında yüksek lisans eğitimini bitirmesinin ardından, 2011 yılında Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığı (YTB) bursunu kazandı. 2011 yılında Türkçe dil eğitimini tamamladıktan sonra, 2012 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Doktora öğrenimine başladı. Halen Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri

Anabilim Dalında Doktora öğrenimine devam etmektedir.

