

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**KAVUN ISLAHINDA KULLANILAN BAZI MOLEKÜLER
BELİRTEÇLERİN GEÇERLİLİĞİNİN TESPİTİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Mürşide HATİPOĞLU
DANIŞMAN: Prof. Dr. Suat ŞENSOY

VAN-2017

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**KAVUN ISLAHINDA KULLANILAN BAZI MOLEKÜLER
BELİRTEÇLERİN GEÇERLİLİĞİNİN TESPİTİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Mürşide HATİPOĞLU

Bu çalışma Van YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından **2016-FBE-YL011** no'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2017

KABUL VE ONAY SAYFASI

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Suat ŞENSOY danışmanlığında, Mürşide HATİPOğLU tarafından sunulan **“Kavun Islahında Kullanılan Bazı Moleküler Belirteçlerin Geçerliliğinin Tespiti”** isimli bu alışma Lisansüstü Eęitim ve Öęretim Yönetmelięi'nin ilgili hükümleri gereğince 29/11/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Suat ŞENSOY

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. M. Macit ERTUş

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. eknas ERDİNÇ

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/....../..... tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Mürşide HATİPOĞLU

ÖZET

KAVUN ISLAHINDA KULLANILAN BAZI MOLEKÜLER BELİRTEÇLERİN GEÇERLİLİĞİNİN TESPİTİ

HATİPOĞLU, Mürşide
Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Suat ŞENSOY
Kasım 2017, 61 sayfa

Bu çalışmada, kavunda geliştirilen AM, FM, Fom2-R₄₀₈, Fom2-S₃₄₂, SCAPB05₁₀₄₆, SCOPE14₅₄₁, T1, T1ex, M3A, M3a, SCAR belirteçleriyle; Fom1R-Fom1S, CAPS-Dde I, CAPS2, CAPS3, EX1-C170T CAPS belirteçlerinin, markör destekli seleksiyon yardımıyla ülkemizdeki bazı kavun çeşitleri ve genotipleri üzerinde geçerliliğini tespit etmek amaçlanmıştır. Bu amaçla *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* (FOM), hıyar mozaik virüsü (CMV), külleme hastalığı ve cinsiyet tanımlanması için geliştirilmiş olan bu moleküler belirteçler test edilmiştir. FOM için; AM, FM, Fom2-R₄₀₈, Fom2-S₃₄₂, (SCAR) ile Fom1R-Fom1S, CAPS2, CAPS3, (CAPS) belirteçleriyle testleme yapılmıştır. CMV için; SCAPB05₁₀₄₆, SCOPE14₅₄₁, (SCAR), külleme için, CAPS-Dde I, cinsiyet belirleme için T1, T1ex, CAPS EX1-C170T, M3a, M3a markörleri kullanılmıştır. Bu seçilen belirteçlerin, 11'i F₁ çeşit olmak üzere, toplam 24 kavun genotipinde etkinliği incelenmiştir. Çalışılan belirteçlerden *Fusarium solgunluğu* için, SCAR; FM, Fom2-R₄₀₈, Fom2-S₃₄₂ ve CAPS Fom1R-Fom1S, CMV için SCAR SCOPE14₅₄₁ markörlerinden sonuç alınabilmektedir. Bu bağlamda sonuç alınan SCAR ve CAPS belirteçlerinin kavunda MAS çalışmalarında etkin bir şekilde kullanılabileceği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: CAPS, *Cucumis melo* L., Kavun, MAS, SCAR



ABSTRACT

VALIDITY DETERMINATION OF SOME MOLECULAR MARKERS USED IN MELON BREEDING

HATİPOĞLU, Mürşide
M. Sc. Thesis, Horticulture Science
Supervisor: Prof. Dr. Suat ŞENSOY
Kasım 2017, 61 pages

The present work aimed to validate some molecular markers (AM, FM, Fom2-R408, Fom2-S342, SCAPB05₁₀₄₆, SCOPE14₅₄₁, T1, T1ex, M3A and M3a SCAR markers and Fom1R-Fom1S, CAPS-Dde I, CAPS2, CAPS3 and EX1-C170T CAPS markers) developed for melon breeding on some melon cultivars and genotypes in Turkey with the aid of marker-assisted selection. For this purpose, these molecular markers developed for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (FOM), Cucumber mosaic virus (CMV) and powdery mildew or sex determination have been tested. AM, FM, Fom2-R408 and Fom2-S342, (SCAR) and Fom1R-Fom1S, CAPS2, and CAPS3 (CAPS) markers for FOM; SCAPB05₁₀₄₆ and SCOPE14₅₄₁, (SCAR) for CMV; CAPS-Dde I for powdery mildew; T1, T1ex, CAPS EX1-C170T, M3a and M3A markers for sex determination were used. These selected markers were examined in 24 melon genotypes, 11 of which were commercial F₁ cultivars. The results were obtained from FM, Fom2-R₄₀₈ and Fom2-S₃₄₂ SCAR markers and Fom1R-Fom1S CAPS marker for Fusarium wilt disease and SCAR SCOPE14₅₄₁ for CMV. In this context, it is seen that the resultant SCAR and CAPS markers can be used effectively in MAS studies.

Keywords: CAPS, *Cucumis melo* L., Melon, MAS, SCAR



ÖN SÖZ

Kavun (*Cucumis melo* L.), ekonomik açıdan önemli bir sebze türü olup, ülkemizde neredeyse tüm tarım bölgelerimizde, önemli derecede yetiştiriciliği yapılmaktadır. Açıkta yetiştiricilikte genel olarak standart çeşitler kullanılmakla birlikte son yıllarda sera yetiştiriciliğinin artması ile diğer sebze türlerinde olduğu gibi kavun yetiştiriciliğinde de hibrit çeşitlerin kullanımı artmıştır. Kavun genotiplerinin yazlık ve kışlık kavun hatları, verim ve kaliteyi olumsuz yönde etkileyen *Fusarium solgunluğu* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*'in 0,1,2,1-2 nolu ırklarına), külleme (*Podosphaera xanthii* ırk 5), hıyar mozaik virüsüne karşı moleküler olarak testlenerek dayanıklı/tolerant genotipler belirlenmiştir. Belirlenen bu genotiplerle moleküler markörlerin kullanımını daha kısa sürede daha güvenilir sonuçlar elde edilmesinde olanak sağlamaktadır.

Bu tez çalışmasında, katkılarından dolayı değerli danışmanım Prof. Dr. Suat ŞENSOY' a teşekkür ederim.

Deneme aşamasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Sibel TURAN, Arş. Gör. Metin KOÇAK'a ve Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü'ne teşekkür ederim. Su Ürünleri Fakültesinden sayın Prof. Dr. Muhammed ARABACI'ya Yrd. Doç. Dr. Şükrü ÖNALAN'a ve Arş. Gör. Boran KARATAŞ'a kapillar elektroforez imkanları için teşekkür ederim. Ayrıca Bitki Koruma Bölümü'den Yrd. Doç. Dr. Mustafa Usta'ya yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Tez jürimde yer alan ve değerli katkılarını sunan sayın Yrd. Doç. Dr. M. Macit ERTUŞ ve Yrd. Doç. Dr. Çeknas ERDİNÇ'e teşekkür ederim.

Tez çalışmasında tohum kaynağını sağlayan Vatan Tohum, Yüksel Tohum, Altın Tohum ve Gen-To tohumculuğa teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım, Ziraat Yüksek Mühendisi Ceylan Pınar UÇAR'a teşekkür ederim.

Tez çalışması esnasında maddi, manevi destekleriyle hep yanımda olan sevgili aileme içtenlikle teşekkür ederim. Çalışmama maddi destek sunan Y.Y.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

2017

Mürşide HATİPOĞLU



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM	21
3.1. Materyal.....	21
3.2. Yöntem	23
3.2.1. Kavun bitkilerinin yetiştirilmesi.....	23
3.2.2. DNA izolasyonu.....	24
3.2.3 PCR analizleri.....	29
3.2.4 Jel görüntüleme.....	30
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	33
4.1. Kavun Fusarium Solgunluğuna (FOM)'a Ait Markörlerin PCR Analiz	
Sonuçları.....	33
4.1.1. FM markörü.....	33
4.1.2. Fom2 R408 ve Fom2 S342 markörü.....	37
4.1.3. CAPS Fom1-R / Fom1-S markörü.....	40
4.2. Hıyar Mozaik Virüsüne (CMV) Ait Markörün PCR Analiz	
Sonuçları.....	43
4.2.1. SCOPE14 ₅₄₁ markörü.....	43
4.3.1. Çalışmada kullanılan diğer belirteçlere ait bulgular.....	46
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	47
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	61



ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kavun genotip ve çeşitlerine ait bilgiler.....	21
Çizelge 3.2. Fusarium solgunluğu belirteçlerine ait bilgiler.....	22
Çizelge 3.3. Cinsiyet belirleme belirteçlerine ait bilgiler.....	22
Çizelge 3.4. Hıyar mozaik virüs belirteçlerine ait bilgiler.....	22
Çizelge 3.5. Külleme hastalığına ait belirteç bilgileri.....	23
Çizelge 3.6. PCR reaksiyonu.....	30
Çizelge 3.7. Belirteçlerin bağlanma sıcaklığı (°C).....	30
Çizelge 4.1. FM belirtecine ait sonuçlar.....	36
Çizelge 4.2. Fom2 R408 ve Fom2 S342 belirteçlerine ait sonuçlar.....	39
Çizelge 4.3. CAPS Fom1-R / Fom1-S markörüne ait duyarlı ve dayanıklı kesme enzimiyle elde edilen sonuçlar.....	42
Çizelge 4.4. SCOPE14541 belirtecine ait sonuçlar.....	45



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Kavun tohumlarının saksılara ekilmesi.	23
Şekil 3.2. DNA izolasyonu yapılacak kavun bitkileri.	24
Şekil 3.3. Gerçek yaprakları oluşmuş ve DNA izolasyonuna hazır kavun bitkileri.	25
Şekil 3.4. DNA izolasyonu için yaprak örneklerinin alınması.	25
Şekil 3.5. Kavun yapraklarının -86 °C sıcaklıkta bekletilmesi.	26
Şekil 3.6. Düşük basınçta yaprakların kurumasını sağlayan liyofilizatör cihazı.	26
Şekil 3.7. Bitki DNA kalitesi ve miktarının Nanodrop cihazı ile belirlenmesi.	27
Şekil 3.8. Örneklerin 65 °C sıcaklığa sahip su banyosu içerisinde bekletilmesi.	27
Şekil 3.9. Pelet görüntüsü.	28
Şekil 3.10. PCR cihazı (Thermal Cycler).	29
Şekil 3.11. Agaroz jel hazırlama aşamaları	31
Şekil 3.12. PCR ürünlerinin agaroz jele yüklenmesi ve görüntülenmesi.	32
Şekil 3.13. Kapiller cihazı (Qiaxcell screen software)	32
Şekil 4.1. FM ko-dominant markörü ile elde edilen dayanıklı 564 bç'deki kapiller bant görüntüsü.	35
Şekil 4.2. FM ko-dominant markörü ile elde edilen dayanıklı 564 bç'deki kapiller bant görüntüsü.	35
Şekil 4.3. Fom2 R ₄₀₈ dayanıklı markör ile elde edilen 408 bç'de agaroz jelde bant görüntüsü.	38
Şekil 4.4. Fom2 S ₃₄₂ duyarlı markör ile elde edilen 342 bç'de kapiller bant görüntüsü.	38
Şekil 4.5. Fom2 S ₃₄₂ duyarlı markör ile elde edilen 342 bç'de kapiller bant görüntüsü.	39
Şekil 4.6. CAPS Fom1-R / Fom1-S (<i>Bsp</i> HI kesme enzimi) markörü ile elde edilen 262+306 bç ve 568 bç'nin agaroz jeldeki bant görüntüsü.	40
Şekil 4.7. CAPS Fom1-R / Fom1-S (<i>Bsp</i> CNI kesme enzimi) markörü ile elde edilen 568 bç'nin agaroz jeldeki bant görüntüsü.	41

Şekil 4.8. SCOPE14₅₄₁ Markörü ile elde edilen 541 bç'deki kapiller bant görüntüsü... 44

Şekil 4.9. SCOPE14₅₄₁ Markörü ile elde edilen 541 bç'deki kapiller bant görüntüsü... 44



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

bç

Baz çifti

°C

Santigrat derece

ÇÜ

Çukurova Üniversitesi

H

Heterozigot dayanıklı

MgCl₂

Magnezyum klorür

S

Homozigot duyarlı

ddH₂O

Deiyonize su

dNTP_s

Deoksinükleotit fosfatlar

µl

Mikrolitre

R

Homozigot dayanıklı

%

Yüzde

pH

Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)

cm

Santimetre

mm

Milimetre

Kısaltmalar

Açıklama

SCAR

Sırayla Karakterize Edilmiş Amplifiye Bölgeler
(Sequence Characterized Amplified Regions)

CAPS

Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler
(Cleaved Amplified Polymorphic Sequences)

AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism)
CMV	Hıyar Mozaik Virüsü (Cucumber Mozaic Virus)
FOM	Fusarium solgunluk hastalığı
QTL	Kantitatif özellik bölgesi
AM	Andromonoik
MO	Monoik
CTAB	Hekzadesil trimetil amonyum bromit
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
FAO	Dünya Gıda ve Tarım Organizasyonu
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
YYÜ	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

1. GİRİŞ

Kavun, sistematik açıdan Cucurbitaceae familyasının Cucumis cinsine giren *Cucumis melo* L. türü olarak sınıflandırılmaktadır. Kavun, yüksek tüketim ve dünya çapında ticari değeri nedeniyle tarımsal açıdan en önemli ekonomik Cucurbitaceae türlerinden biridir (McCreight ve ark., 1993).

Türkiye’den Japonya’ya kadar yayılım gösteren kavun, dünyada ve Türkiye’de önemli miktarda tüketime sahip sevilen bir sebze türüdür (Vural ve ark. 2000; Şensoy, 2005). İspanya, Romanya ve Fransa, Avrupa’nın en büyük üretici ülkeleridir (Robinson ve Decker-Walters, 1997). Günay (1975) ; Avrupa ve Amerika’ da tarımı yapılan kantolop kavunlarının gen merkezinin Doğu Anadolu Bölgesi özellikle de Van ili ve çevresi olduğunu ifade etmiştir.

Yaklaşık 29.626.335 ton ile dünya kavun üretiminde Çin, diğer ülkelerin tamamından iki kat daha fazla üretim yapmaktadır (FAO, 2014). Ülkemiz yaş sebze üretiminde yaklaşık 1.854.356 ton kavun ile dördüncü sırada yer almaktadır. (TÜİK, 2016). Ayrıca, 2016 verilerine göre kavunda %7.8 lik bir artış gözlenmektedir (TÜİK, 2016). Ülkemizin çok soğuk bölgeleri dışında hemen her yöresinde yetişmekle beraber kavun üretiminin büyük bir bölümü Ege, Marmara, İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yapılmaktadır (Sensoy, 2005). Türkiye’de kavunun en fazla yetiştirildiği iller arasında Ankara birinci sırada yer alırken, bunu takiben Manisa, Diyarbakır, Balıkesir ve Konya ileri gelmiştir (TÜİK, 2016).

Türkiye’deki kavun üretiminin büyük bir bölümü (%85), Kırkağaç, Hasanbey, Yuva ve Kışlık Sarı gibi *inodorus* grubu kavun çeşitleriyle, diğer kısmı da Ananas ve Galia gibi *cantalupensis* grubu kavun çeşitleriyle yapılmaktadır (Abak, 2001).

Kavun (*Cucumis melo* L.), meyvelerinin yüksek oranda aroma özelliği ile lezzeti nedeniyle tercih edilen yazlık ve kışlık çeşitlerinin fazla olmasıyla yıl içerisinde uzun bir dönemde tüketilebilen bir tür olmasından dolayı ekonomik olarak önem kazanmıştır. Bu sayede stratejik olarak ihracat ürünü özelliklerine sahiptirler (Anonim, 2003).

Taze olarak tüketilebilmenin yanı sıra, meyve salatası ve meyve suyu yapımında kullanımı da yaygınlaşmıştır. Ayrıca gıda sanayinin pek çok kolunda (pasta, reçel, dondurma, meyveli yoğurt vb.) yaygın olarak kullanılmaktadır. Olgunlaşmamış meyveleri Uzak Doğu’da çorba yapımında değerlendirilebilirken, turşu yapımında da

kullanılabilmektedir. Bazı kavun çeşitleri süs bitkisi olarak, bazıları da parfüm yapımında ve kozmetik sanayisinde sıkça kullanılmaktadır (Wien, 1997).

Kavun içerdği pek çok mineral madde ve besin bakımından zengin bir sebzedir (Özgen ve ark., 2014). Kavunun içerdği en önemli besin maddeleri arasında; protein (0,6- 1,2 mg/100 g), karbonhidrat (6-15 g/100 g), A vitamini (500 IU-4200 IU/ 100 g), C vitamini (6-60 mg/100gr ve potasyum (130mg-330mg/100gr) bulunmaktadır (Lorenz ve Maynard, 1988).

Diğer bitki türlerinde olduğu gibi kabakgil familyasına ait sebzelerinin üretimini sınırlandıran en önemli etkenlerin başında hastalıklar ve zararlılar gelmektedir. Ülkemizde de kavun yetiştiriciliğini sınırlandıran etmenler arasında ilk olarak hastalık ve zararlılar gelmektedir. Hastalık ve zararlılar, birim alandan alınan verimin azalmasına, bazı çeşitlerin kaybolma tehlikesiyle karşılaşmasına ve üründe kalite ve ürün kaybına neden olmaktadır. Ülkemizde sebze üretim alanlarının sınırlı olmasıyla birlikte birim alandan alınacak ürünün artırılması ve mevcut olan miktarın korunması gerekmektedir (Sarı, 1994).

Yerel kavun popülasyonlarının, doğal mutasyonlar ve kavunun döllenme yapısından kaynaklanan özelliklerden dolayı, zengin bir çeşitlilik gösterme olasılığı yüksektir. Bu zengin hazinenin kaybolmasını önlemek ve seçilecek materyallerin ıslah çalışmalarında kullanılmasını sağlamak amacıyla, gen kaynaklarının korunması ve ıslah çalışmaları devam etmektedir (Sensoy ve ark., 2007).

Klasik ıslah programlarında son yıllara kadar, bitkisel ürünlerde ilki hastalık ve zararlılar olmak üzere kültür bitkilerinin başka birçok tarımsal özelliklerinin iyileştirilmesinde büyük katkısı olmuştur. Klasik ıslah yöntemleri bazı durumlarda yetersiz olabilmekte ya da oldukça uzun zamana ihtiyaç olmaktadır. Bitki biyoteknolojisi yöntemleri dünyada olduğu gibi Türkiye’de de büyük önem kazanmaktadır. Tarımsal açıdan öneme sahip olan genler genetik haritalar kullanılarak, kültür çeşitlerine etkili bir şekilde, hızlı ve kolaylıkla tespit edilir (Yıldırım ve Kandemir, 2001).

Günümüzde hızla artan dünya nüfusu, bitki hastalık ve zararlılarının olumsuz etkileri beslenme sıkıntılarını ortaya çıkarmış ve insanları farklı bitki ıslahı programlarına teşvik etmiştir. Klasik bitki ıslahı programlarıyla geliştirilen verimli ve kaliteli çeşitlerle insanların beslenme ihtiyaçları karşılanmış olup, çalışmalar

günümüzde de hızla devam etmektedir. Türkiye, yerel kavun populasyonları bakımından oldukça zengindir. Ülkemizde kavun üretimi, yerel populasyonlar ve piyasada bulunan F1 hibrit tohumlar ile gerçekleştirilmektedir.

Klasik ıslah programları arasında en yoğun kullanılanlardan birisi dayanıklılık ıslahıdır. Çünkü hastalık ve zararlılara dayanıksız çeşitlerde her ne kadar verimli olsa da hastalık bulaştığı andan itibaren verim düşmektedir. Bunun yanı sıra gelecekte de ortaya çıkabilecek olan yeni hastalık ve zararlılar ile toprak ve atmosferde oluşan değişikliklerin bitkilere olan etkileri önceden bilinmemektedir. Genetik kaynakların karakterizasyonunda klasik olarak coğrafi verilerden ve morfolojik karakterlerden yararlanılmakla birlikte (Ford-Loyd, 2001), günümüzde bu amaçla moleküler markörler de yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Genetik kaynakların değerlendirilmesinde ilk olarak yapılması gereken işlemlerden biri olan morfolojik karakterizasyon, koleksiyonlar içerisinde yer alan genotiplerin doğru bir şekilde tanımlanmasını sağlama bakımından son derece önemlidir (Escribano ve Lazaro, 2009).

Kavunlarda morfolojik karakterizasyonla ilgili pek çok çalışma (Sarı ve Solmaz, 2007; Şensoy ve ark., 2007; Lotti ve ark., 2008; Escribano ve Lazáro, 2009; Szamosi ve ark., 2010) bulunmaktadır.

Marköre dayalı seleksiyonla, başta hastalık ve zararlılara dayanım olmak üzere, kalite özellikleri, biyokimyasal içerik gibi pek çok amaca yönelik incelemeler yapılmaktadır. Geliştirilen markörler ile ıslah programlarında dayanıklılık özelliğini taşıyan bireyler tespit edilebilmektedir. Islah çalışmalarında, hastalığa dayanımı sağlayan gene yakın moleküler markörlerin kullanımı, daha kısa sürede ve daha güvenilir sonuçlar elde etmemizi sağlamaktadır (Oumouloud ve ark., 2008). Bu amaçla, ülkemizde de sebze ıslahında birçok ıslahçı markör yardımcı seleksiyon (MAS) çalışmalarıyla moleküler markörlerden yararlanmaktadır (Pınar ve ark., 2013).

Genetik markör sisteminin temeline baktığımızda sistemin yeni olmadığını ve Mendel'in 19.yy'da fenotipik çalışmalarında kullandığını görmekteyiz. Bu teknikler tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de giderek artan kullanım alanı bulmaktadır. Morfolojik markörler yerine moleküler markörlerin kullanılması bitki ıslahçılarına daha yüksek etkinlikle çalışma imkanı vermektedir (Üstün ve ark., 1996). Genotipleri birbirinden ayırmayı sağlayan özelliklerden morfolojik olanlar önceden de bilinmektedir (Meglic ve Staub, 1996). DNA temelli markör teknolojisiyle birlikte ıslahçılar Mendelci

genetik yaklaşımı ıslah programının tamamlayıcısı olarak kullanabilmekte ve bu sayede kısa sürede yeni bir çeşit geliştirebilmektedir. DNA belirteçleri, bitkilerin genetik çeşitliliğin araştırılmasında, yakın türlerin, çeşitlerin belirlenmesi ve tanımlanmasında araştırmacılara yoğun çalışma olanağı veren güçlü bir yöntemdir (Akakaçar, 2001; Rajapakse, 2003). Bu belirleyicilerin DNA polimorfizmi klasik morfolojik veya biyokimyasal belirleyicilerden çok daha fazladır (Özcan ve ark., 2001).

Genotipler arasında farklılık göstermeyen markörler, monomorfik markörler olarak bilinirler. Aynı veya farklı türlerin bireyleri arasında farklılık gösteren markörler ise polimorfik markörler olarak isimlendirilirler ve bunlar, farklılıkları belirlediği için monomorfik olanlardan daha yararlıdırlar. Polimorfik markörler, homozigot ve heterozigotlar arasında ayrımlanabilmelerine göre dominant ve ko-dominant (eş baskın) özellik gösterirler. Dominant markörler var veya yok olarak belirlenirken; kodominant markörler boyut olarak farklılık gösterirler. Kurallara bakılırsa, bir DNA markörünün farklı formları (örneğin jel üzerindeki farklı boyuttaki bantlar) markör allelleri olarak adlandırılır. Bu durumda ko-dominant markörler farklı birçok allele sahip olabilirken dominant bir markör sadece 2 allele sahiptir. Ko-dominant markörlerle heterozigot ve homozigotlar arasındaki farklılık açık bir şekilde görülebilmektedir. Ancak dominant markörler bu ayrımı yapamamaktadır (Yorgancılar ve ark., 2015). Bu yüzden özellikle MAS'ta ko-dominant markörler kullanılmaktadır. MAS programları dominant özelliklerin yanında genellikle ko-dominant SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) Sırayla Karakterize Edilmiş Amplifiye Bölgeler ve CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) Kesilmiş Çoğaltılmış Polimorfik Dizilimler markör sistemleri üzerine yoğunlaşmıştır (Collard ve Mackill, 2008). Bu markör sistemlerinin alet ve ekipmana, işgücü ve maliyete gereksiniminin diğer yöntemlere göre daha az gereksinim duyulması avantaj kazandırmaktadır (Kumar, ve ark., 2009). Belirteç destekli seleksiyon yöntemi (Marker Assited Selection, MAS) yabani gen kaynaklarından gen transferleri, resesif allellerin ortaya çıkarılması ve seleksiyonu, erken seleksiyon, gen izolasyonu ve klonlanmasında kullanılmaktadır. Klasik bitki ıslahı, melezleme sonucu elde edilen ve açılım gösteren döller arasından üstün genotiplerin fenotipik seleksiyonuna dayanmaktadır. Fakat genotip ile çevre etkileşimi sebebiyle uygulama oldukça zorlaşmaktadır. Aynı zamanda fenotipik seleksiyonun maliyetli olması sebebiyle bazı özellikler için (abiyotik stres koşullarına tolerans gibi) çoğu durumlarda

uygulanmamaktadır. MAS, klasik bitki ıslahında bu belirtilen sorunlara karşı geliştirilen bir yöntemdir. Islah programlarında istediğimiz genle bağlantılı markörlerin kullanılmasının potansiyel faydaları yön değiştirmiş ve araştırmacılar 1970'lerin sonuna doğru DNA markörlerinin geliştirilmesiyle yeni bir çalışma alanı ortaya çıkmıştır. Yirmi birinci yüzyılın başında 40'dan fazla gen (tek gen ve QTL) haritalanmıştır (Grube ve ark., 2000). MAS tekniği oldukça hızlı, etkili, güvenilir ve ekonomik bir seleksiyon tekniğidir. Fakat bu teknik tek başına klasik ıslah yöntemlerinin yerine geçebilecek bir teknik olmasından ziyade klasik ıslah çalışmalarının başarısını artırıcı ve yardımcı bir yöntemdir (Sönmezoğlu ve ark., 2010).

Bitkiler yaşadıkları ortamda çeşitli hastalık ve zararlı etmenler (virüs, bakteri, fungus, nematod vb.) tarafından saldırıya uğramaktadırlar (Baker ve ark., 1997). Ülkemizde de kavun yetiştiriciliğini sınırlandıran etmenler arasında en başta hastalık ve zararlılar gelmektedir. Bitkinin hastalık ve zararlı etmenine karşı dayanıklılığı; düşük, orta ve yüksek düzeyde gerçekleşmektedir. Bitki yüksek düzeyde dayanıklı ise patojen hiç çoğalamamakta veya çok az düzeyde çoğalabilmekte, orta ve düşük dayanıklılıkta ise hastalık ve zararlı etmeni belli düzeyde çoğalabilmektedir (Roberts, 2002). Dayanıklılık genleri, patojene karşı dayanıklılığı kontrol eden en önemli yapısal proteinlerdir (Staskawicz ve ark., 1995; Van der Biezen ve Jone, 1998; Feys ve Parker, 2000).

Proteinlerde meydana gelen değişikliklerle meydana gelen izoenzimler, markör olarak kullanılmaya başlanmış (Meglic ve Staub, 1996; Onus, 1999a; Onus, 1999b; Akashi ve ark., 2002), ancak bu belirteçlerin sayısının az olması ve çevre şartlarından etkilenmeleri kullanımlarını kısıtlamıştır. DNA dizilimindeki değişikliklerin tespitiyle yararlanılan DNA belirteçlerin çok olması çevre şartlarından etkilenmemeleri nedeniyle çok faydalı olmuşlardır (Şensoy, 2005).

Dayanıklılık ıslah programında en büyük zorluk ebeveynlerin (duyarlı ve dayanıklı bireyler) melezlenmeleri sonucu elde edilen dayanıklı bireylerin belirlenmesidir. Başta birden fazla gen olmak üzere, birkaç gen ve tek gen tarafından idare edilen dayanıklılık özelliklerini (karakterleri) normal şartlarda geleneksel ıslah yöntemleri ile belirlemek zaman almakta, fazla iş gücü gerektirmekte ve çok güç olmaktadır. Bununla birlikte bir bitkiyi aynı anda birden fazla hastalık veya zararlı etmenle testlemek geleneksel yöntemlere göre hemen hemen imkansızdır. Bütün bu

zorluklar moleküler markörlerin devreye girmesiyle üstesinden gelinebilmektedir (Ballvora ve ark., 1995; Bradshaw ve ark., 1998; Lu ve ark., 1999).

Kavun hastalıkları arasında toprak kökenli patojenler ve bunlardan biri olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (FOM)'in neden olduğu kök çürüklüğü ve solgunluk hastalığı ilk sırada yer almaktadır. Türkiye'de kavun solgunluğu ilk kez, Manisa'da bir kavun tarlasında 1939 yılında ve daha sonra Ankara civarında Nallıhan'da saptanmıştır (Bremer, 1944). Hastalığın 0, 1, 2 ve 1-2 olmak üzere farklı 4 ırkı olup, ülkemizde yaygın olarak görülmektedir. Hastalığın kalıtımında *Fom-1* ve *Fom-3* genleri 0 ve 2 ırklarına karşı *Fom-2* geni ise 0 ve 1 ırklarına karşı dayanıklılık sağlamaktadır. Jacobson ve ark. (1990), A.B.D.'de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*'in yalnızca 2 nolu ırkının belirlendiğini, 1985-1987 yılları arasında 0 ve 1 nolu ırklarının da ülkenin değişik bölgelerinde ortaya çıktığını ve yıllara göre değişiklik gösterebildiğini bildirmektedirler.

Fusarium solgunluğu ilk olarak bitkide genel bir solgunluk sergilemekte ve şiddetli enfeksiyonlar hastalığın ilerleyen dönemlerinde bitkiyi öldürebilmektedir. *Fusarium* % 100 kayıplara neden olan epidemiler oluşturabilir (Zitter, 1999). Enfekteli bitki dallarından enine kesit alındığında ksilemde gözlenen kahverengileşme, *fusarium* solgunluğunda floem dokusuna kadar ulaşabilmektedir. Hastalık etmeni fungus toprak kökenli olup, uzun yıllar canlılığını muhafaza edebilmektedir. Hastalıkla mücadelede en pratik ve etkin yöntem dayanıklı çeşitlerin üretimde kullanılmasıdır (Martyn ve Gordon, 1996). *Fom-2* geninin izolasyonunda ve klonlanmasında da önemli adımlar atılmıştır (Wang ve ark., 2002; Joobeur ve ark., 2004).

Canlı etmenler içerisinde boyutu, kimyasal ve fiziksel yapısı, enfeksiyon şekli, bitki içerisindeki çoğalması, taşınması, simptom oluşturmaları ve etkin bir mücadelesinin olmayışı gibi yönleri ile virüs hastalıklarının özel bir önemi vardır (Agrios, 1997; Yılmaz ve Davis, 1984; Yılmaz ve ark., 1979 ve 1993). Francki ve ark. (1979)'nın bildirdiğine göre Hıyar Mozaik Virüsü (Cucumber mosaic virus CMV) hıyar ve diğer kabakgiller üzerinde ilk kez detaylı olarak 1916 yılında Doolittle ve Jagger tarafından eş zamanda tanımlanmış ve ilk kez Price tarafından 1934'te ABD'de izole edilmiştir. CMV (*Podosphaera xanthii*), tüm dünyada yetiştirilen ürünlerde hastalık gelişimine ve zararlara neden olmaktadır (Zitter ve Murphy 2009). Kültür bitkilerinde zararlı virüs hastalıkları içerisinde tütün mozaik virüsünden sonra en fazla konukçu çevresine sahip virüs CMV dir. CMV, 1000'e yakın değişik bitki türünde çok çeşitli belirtiler

oluşturan geniş konukçu dizisine sahip bir virüstür (Palukaitis, ve ark., 1992; Kaper, ve Waterworth, 1981). Virüs bitkilerin yapraklarında hafiften şiddetliye doğru değişen mozaik, yaprak deformasyonları ile ya da sadece bodurlaşma, yapraklarda eğrelti otu şeklinde yaprak deformasyonlarına yol açmaktadır (Kearney ve ark., 1990). Yapraklarda iplikleşme ve meyvelerde nekroz gibi belirtiler oluşturmaktadır (Blancard, 1988).

Kabakgillerde görülen küllemeye sebep olan hastalık etmenleri; *Erysiphe cichoracearum* ve *Sphaerotheca fuliginea* (Schlect. ex Fr.) Poll.dür. İki farklı etmen külleme hastalığından sorumlu olup, bunlardan *Sphaerotheca fuliginea* daha fazla yaygın ve diğer patojene göre daha saldırgandır. *Erysiphe cichoracearum* etmeni serin bahar ve erken yaz aylarında ortaya çıktığından dolayı, daha düşük sıcaklık isteğine sahiptir. Diğer etmen daha sıcak mevsimlerde ortaya çıkmaktadır. Her iki hastalık etmeninin konidisporlarını ve kleistothecium ayırt etmek oldukça zordur. Bundan dolayı her iki fungus birbiriyle karıştırılır (Anonim 2016). Bitkilerin önce yaşlı yapraklarında görülür, daha sonra genç yapraklara da geçer. Öncelikle yaprağın üst yüzeyinde parça parça, nispeten yuvarlak lekeler belirir, sonradan bu lekeler birleşerek yaprağın her iki yüzeyini, yaprak sapını ve gövdeyi kaplar. Lekeler ilk zamanlarda beyaz renkte toz tabakası gibi görünür, zaman ilerledikçe esmerleşir. Yapraklar kuruyup dökülür ve bitkide gelişme durur. Bunun sonucu olarak da ürün kaybı meydana gelir. Bu hastalık etmenlerinden dolayı ticari firmalar bu hastalıklara dayanıklı genleri MAS yardımıyla kültür çeşitlerine aktararak bu verim kaybını önlemek istemişlerdir.

Ayrıca, kavunda cinsiyet belirlemede monoik ve andromonoik bitkilerin erken aşamada tanımlanması, ıslah programlarının etkili bir şekilde yürütülmesini sağlamaktadır.

Bu bağlamda mevcut tez çalışmasında çok önemli bir yere sahip kavunda 11 hibrit F₁ ve 13 standart veya yerel çeşitlerde MAS uygulamalarında kullanılabilecek belirteçlerin geçerliliği tespit edilmeye çalışılmıştır. Bu çalışmada belirtilen hastalıklar kavunda verim kayıplarına sebep olmaktadır. Ürün kaybını önlemek için yapılan kimyasal ve kültürel önlemler yetersiz kaldığı ve dezavantajlarının görüldüğü noktada dayanıklı çeşit geliştirme yöntemleri geliştirilmiştir. Dayanıklı çeşit geliştirmede kullanılan yöntemlerden olan klasik ıslah yöntemlerine göre daha kısa zamanda, etkili güvenilir ve maliyetinin düşük olmasıyla MAS yöntemi klasik ıslah yöntemine destek

olmaktadır. Bu çalışma Türkiye’deki kavun çeşitlerinde dayanıklı çeşit geliştirmede kullanılan belirteçlerin (markörlerin, işaretleyicilerin) çalışıp, çalışmadığı ve ıslah çalışmalarına kolaylık sağlayıp, sağlayamayacağı etkin bir şekilde kontrol edilmeye çalışılmıştır.



2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Kavun (*Cucumis melo* L.), orijini Afrika kıtası olan, fakat ikincil gen merkezi olarak Türkiye'den, Japonya'ya kadar uzanan geniş bir alandan dünya geneline yayılan; dünyada ve ülkemizde sevilerek tüketilen bir sebze türüdür. Kavun *Cucurbitaceae* familyası, Cucurbitoideae alt familyası, Melothrieae takımı, Cucumerinae alt takımına ait, temel kromozom sayısı 12 olan diploid bir türdür (Robinson ve Decker-Walters 1997).

Kavun genelde monoik veya andromonoik karakterlerde çiçek yapısına sahip olan ve bu çiçek yapısından dolayı yabancı dölleme gösteren bir sebzedir (Türkmen ve ark., 2005). Kavun (*Cucumis melo* L.) birçok ülkede kültüre alınmış ve çeşitlilik gösteren bir türdür (Pitrat 2012). Kavun içerdiği protein (% 0.6-1.2 / 100g), vitamin, mineral maddeler, A (500-4200 IU/100 g), K vitamini (130-330 mg/100g) ve şeker içeriği yönünden zengin bir sebzedir (Lorenz ve Maynard, 1988).

Bitkilerde bitki ıslahında kullanılan belirteç tipleri morfolojik belirteçler, (markör, marker, markır, işaretleyici vb.) biyokimyasal belirteçler ve DNA belirteçleri olarak sıralanabilir. DNA belirteçleri, sekansa spesifik olmayanlar rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD), çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP), sekansa spesifik olanlar basit dizi tekrarı (SSR), basit sekans tekrarlamaları arası polimorfizmi (ISSR) ve son yıllarda yoğunluk kazanan organel mikrosatellitleri, sekansı karakterize edilmiş yani belirlenen çoğaltılmış bölgeler (SCAR), kesilerek çoğaltılmış polimorfik diziler (CAPS), RAMP, SRAP, TRAP, SSCP olarak sıralanır. DNA belirteçlerinin bitki ıslahında genetik kimlik tanısı ve akrabalık düzeylerinin belirlenmesi, hibrit bitki tanısı, belirteç yardımı ile seleksiyon, bulk segregasyon analizi ve tohum ıslahında rolü vardır.

Son yıllarda moleküler biyolojide görülen hızlı ilerleme, bitki genetiği çalışmalarında, genetik çeşitliliğin korunması, üretimi, ıslah gibi hedefler doğrultusunda kullanımına çok büyük ve önemli katkı sağlamıştır. Fakat bu belirteç yardımcı moleküler biyolojik uygulamalar, moleküler belirteçlerin tamamlayıcısı olmaktadır. Zaman içerisinde, belirteç destekli seleksiyon (MAS) uygulanan bitki ıslahı çalışmaları, klasik çalışmalardaki seleksiyon hızını ve etkinliğini artırma yönünde önemli katkılar sağlayacaktır (Vardar-Kanlıtepe, 2010).

Moleküler markörler, genomda herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilişkili DNA parçasıdır. Moleküler markörler; genetik markörlerin, DNA tabanlı tipini oluşturdıklarından, DNA markörleri olarak da bilinirler. DNA markörleri farklı genotiplere ait DNA diziliş farklılığını çeşitli biçimlerde ortaya koyan markörlerdir. Bütün bir genomun analiz edilebileceği DNA'yı elde etmek için, herhangi bir kısımdan alınan az miktarda doku parçası yeterli olmaktadır (Botstein, 1980).

Moleküler markörlerin kaynağı üretildikleri bitkilerin DNA'larıdır. Bundan dolayı bitki populasyonundaki çeşitlilik veya o populasyon içindeki bitki genotipleri arasındaki ilişkilerin tespitinde %100 e yakın güvenilirlikle sonuç verirler (Gülşen ve Mutlu, 2005).

Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PCR) keşfinden sonra genetik çalışmalarda PCR temelli markörler daha çok tercih edilmeye başlanmıştır. Karry Mullis tarafından 1985 yılında ilk kez ortaya konulan bu teknoloji sayesinde genomun özgün bölgelerinin in vitro şartlarda çoğaltılabilmesi ve elektroforez teknikleri ile görüntülenmesi mümkün hale gelmiştir. DNA teknolojisi ve moleküler biyolojideki hızlı gelişmeye paralel olarak daha ekonomik, kolay ve polimorfik olmalarından dolayı özellikle PCR temelli DNA markör sistemleri (RFLP, RAPD, EST, STS, SSCP, AFLP, STR ve SNP) genetik çalışmalarda daha yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Weber ve May, 1989; Liu, 1998).

Bu markör sistemlerinin dışında; SRAP; Sırayla İlişkilendirilen Amplifike Edilmiş Polimorfizm (Sequence Related Amplified Polymorphism), SCAR; Sırayla Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler (Sequence Characterized Amplified Regions), STS (Sequence Tagged Site), CAPS; Bölünmüş Çoğaltılmış Polimorfik (Cleaved Amplified Polymorphic), ALP Amplicon Uzunluk Polimorfizmi (Amplicon Length Polymorphism) ve bunlara ek olarak DNA sekanslamasına dayalı SNP; Tek Nükleotid Polimorfizm (Single Nucleotide Polymorphism) markörleri ve MP-PCR; Mikrosatellite Primed Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Microsatellite Primed Polymerase Chain Reaction), AP-PCR; Arzuya Bağlı Primed Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction), AS-PCR Allele Spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Allele Specific Polymerase Chain Reaction), DAF; Allele Spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu) stratejileri de polimorfizmin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Yorgancılar ve ark., 2015).

Biyoteknolojinin üstünlüğü moleküler markörleri, moleküler haritaları ve markör destekli seleksiyon (MAS) teknolojilerini kullanarak klasik bitki ıslah yöntemlerini destekleyen bir yaklaşım olarak ortaya çıkmaktadır. Özellikle moleküler markör teknolojisi karmaşık özellikleri kontrol etmekte olan birçok genin (Quantitatif trait loci: QTL) sayılarını ve bireysel, interaktif etkilerini ve kromozom üzerindeki yerini de belirlemekte kolaylık sağlamaktadır (Tanskley ve ark., 1989).

Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (BATEM) tarafından yapılan çalışmada kavun ıslah programında geliştirilen 8 adet aday hibritin *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*'e moleküler olarak dayanıklılık durumları ile verim değerleri belirlenmiştir. Moleküler çalışmalarda *Fusarium*'da *Fom-2* geninin kontrol ettiği 0 ve 1 nolu ırka dayanıklılığı belirlemek amacıyla SSR154 primeri, *Fom-1* geninin kontrol ettiği 2 nolu ırk için ise, NBS1-CAPS primeri kullanılmıştır. Agaroz jelde alınan görüntüye göre ırk 1'e dayanıklılık sağlayan *Fom-1* geni için kullanılan SSR 154 marköründen homozigot dayanıklı bireylerde Joobeur ve ark, (2004)'nın bildirmiş olduğu 299 bp büyüklüğündeki bant tespit edilmiştir. Hassas bireylerde ise 305 bp büyüklüğünde bant belirlenmiştir. ırk 2 için *Fom-2* geni ile ilişkili NBS1-CAPS markörünün kullanımında ise, PCR ürününde Brotman ve ark, (2005)'nın bildirmiş olduğu 250 bp'lik bant gözlenmiştir. PCR ürünlerinin NcoI enzimiyle kesiminden sonra, homozigot dayanıklı bireylerde 250 bp'lik bant, hassas bireylerde 205 bp'lik bant tespit edilmiştir. Çalışmada yer alan 8 adet aday hibrit verim açısından karşılaştırıldığında, FÇ 98 nolu hibrit kontrol çeşit olarak kullanılan Çıtırex F₁ çeşidine yakın bir verim değeri alarak, diğer adaylar arasında ilk sırada yer almış ve üreticilerin hizmetine sunulmuştur (Ünlü ve ark., 2014).

Zhang ve ark. (2012), küllemenin iki etmeninden birinin (*Podosphaera xanthii*)'nin neden olduğu, küllemenin kavun için önemli bir hastalık olduğu ve 2F ırkı Çin bölgelerinde baskın ırk olduğunu bildirmiştir. *P. xanthii*'nin 28'den fazla fizyolojik ırkı olup farklı tepkilerine göre tespit edilmiştir. Kavun hatları (Bardin ve ark., 1999; Hosoya ve ark., 1999; McCreight 2006; Kr'istkova' ve ark., 2007); duyarlı ve direnç ırklarına karşı dominant bir gen tarafından (*Pm-2F*) kontrol edilmiştir. Kullanılan SSR belirteçleri ile hıyarda *Pm-2F* genine karşı genomik analizler yapılarak 288-223 bp'lik homolog bant elde edilerek SSR belirteci ile tespit edilmiştir. Bunun yanında yeni geliştirilen CAPS (CAPS-Dde I) markörünün etkili olduğu yapılan çalışmada ortaya

konulmuştur. Evrensel bir belirteç olarak kullanılan markör NBS-LRR geninden CAPS markörü ve CAPS işaretleyicisinin etkinliği araştırılmıştır. Araştırma sonucunda 13 genotipte küllemeye karşı dayanımları incelenmiştir. Bunun için CAPS-Dde I markörü kullanılmıştır. Varsayılan direnç geni *Pm-2F* geni için potansiyel hedef sağlamıştır.

Katzir ve ark. (1996), Cucurbitaceae familyasına ait farklı türler arasındaki polimorfizmi, SSR markörleri ile araştırmışlardır. Kavun (*Cucumis melo* L.) genomik kütüphanesinden 5 ve hıyar (*Cucumis sativus* L.) sekans veritabanından 2 SSR izole edilerek primerler dizayn edilmiştir. Elde edilen 7 SSR primeri, 8 kavun, 11 hıyar, 5 kabak, 1 balkabağı ve 3 adet karpuz genotipinde test edilmiştir. SSR primerlerinden 5'i kavunlarda, 4'ü hıyarlarda, 3'ü kabaklarda polimorfizmi tespit ederken; denemede yer alan 3 karpuz genotipinde polimorfizm bulunamamıştır. Çalışmada Cucurbitaceae familyası üyelerinden herhangi birine özgü SSR primerlerinin familyada yer alan diğer cinslerde de kullanılabileceği sonucu ortaya çıkmıştır.

Staub ve ark. (2000), *Cucumis melo* L. subsp. *melo* ve subsp. *agrestis* alt türlerine ait 46 kavun genotipi arasındaki genetik olarak ilişkilerini, SSR ve RAPD markörleriyle belirlemişlerdir. Kullanılan markörlerden 64 RAPD primerinden 135, 17 SSR primerinden 54 bant elde edilmiştir. Genotipler arasındaki polimorfizmin değerlendirilmesinde RAPD primerlerinin 21'i ve SSR primerlerinin 7'si etkili olmuştur. Genetik uzaklık hesaplamaları, *cantalupensis*'in dört yerel çeşidinde, *inodorus*'un bir yerel çeşidinde, *conomon*'un bir genotipinde, *flexuosus*'un genotipinde yapılmıştır. Sonuç olarak her iki markörden elde edilen veriler doğrultusunda güçlü bir korelasyonun olduğu ve bu belirteçlerin çalışmada yer alan kavun genotipleri arasındaki genetik ilişkilerin belirlenmesinde kullanılabilecekleri bildirilmiştir.

Staub ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada, 17 yerel kavun çeşidi ve olan *cantalupensis*, *inodorus* ve *flexuosus* genotiplerinde yakın hatlarında 24 primerden elde edilen 65 adet RAPD belirteci ile 11 morfolojik özellik (meyve niteliği, verimle ilişkileri ve külleme hastalığına karşı dayanıklılık kullanılarak değerlendirme yapılarak gözlemlenmiştir. Çalışmada yerel kavunların çeşitlilik gösterdiği en yüksek varyasyon grup *flexuosus* grubunda olduğunu belirtmişlerdir. Diğer ülkelerdeki Batı Asya (*conomon*) ve Akdeniz (*inodorus*) kavun ıslah programlarında da, bu farklılık ve varyasyondan yararlanılabileceğini öngörmüşlerdir.

López-Sesé ve ark. (2002), çoğunluğu *inodorus* kavun grubundan olan 15 İspanyol kavun (*C. melo* L.) çeşidi arasındaki polimorfizmi RAPD ve SSR markörleriyle araştırma yapmışlardır. Yapılan çalışmada 36 RAPD primeri, polimorfizme ait 100 bant verileri elde edilirken, 12 SSR primeri de 23 allel üretmiştir. Her iki markör tekniğinde de genotipler birbirinden ayrılmış, RAPD markörleriyle % 25.6 ayrılırken, SSR markörleriyle de % 66.7 oranında polimorfizm elde edildiği görülmüştür. Aynı çeşit grubu içerisinde yer alan genotiplerin kendi aralarında da yüksek seviyede genetik çeşitlilik göstermesi İspanyol kavunlarının oldukça geniş bir genetik temele sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Danin-Poleg ve ark. (2001), tarafından yapılan çalışmada genetik çeşitlilik çalışmalarında kullanılmak üzere *Cucumis* türlerinde toplam 61 SSR markörü geliştirilmiştir. Karakterize edilen markörlerin 40'ı (30 kavun ve 10 hıyar SSR'ı), 13 kavun ve 11 hıyar (*Cucumis sativus* L.) genotipinde kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre genetik uzaklık değerleri kavun için 0.52 ve hıyar için 0.28 bulunmuştur. Kavunlarda, egzotik ve tatlı kavun grupları arasında, hıyarda ise iki alt tür (*C. sativus* var. *sativus* ve *C. sativus* var. *hardwickii*) arasında belirgin bir farklılık tespit edilmiştir.

Nakata ve ark. (2005), 67 Japon kavun (*C. melo* L.) çeşidi arasındaki genetik çeşitliliği, 25 RAPD ve 9 adet SSR primeri ile araştırmışlardır. Çalışmada kavun çeşitleri, *cantalupensis* (Earl's, House, Galia, Charentais ve Ogen çeşit tipleri), *inodorus* (Honeydew ve Casaba kavunları); Amarillo, Piel de Sapo, Rochet, Negro, Crenshaw ve Tendral çeşit tipleri *conomon* (Oriental çeşitlerini) olmak üzere 3 farklı tip yer almıştır. RAPD primerlerinden boyutları 300-2300 bp arasında değişen, primer başına ortalama 2.4 olacak şekilde toplam 56 adet polimorfik bant elde edilmiştir. SSR primerlerinden ise lokus başına ortalama 4 ve toplamda da 36 adet allel elde edilmiştir. Her iki markör sistemi ile tespit edilen en yüksek polimorfizm oranı % 79 ile oryantal sınıftan elde edilmiştir. En düşük polimorfizm (% 38) ise Earl's tipi kavunlardan elde edilmiştir. Genel olarak RAPD markörlerinden SSR markörlerine göre daha yüksek polimorfizm elde edilmiş ve araştırmacılar bunun nedeninin SSR markörlerinde incelenen lokus sayısının az olmasına bağlamışlardır.

Silberstein ve ark., (1999), yaptıkları çalışmada kavunda (*Cucumis melo* L.) moleküler varyasyonu belirlemek amacıyla RAPD ve RFLP markörlerini kullanmışlardır. 13 kavun çeşidinde 18 RAPD primeri kullanılarak yapılan çalışmanın

toplu analizlerinde, Hindistan ve Kuzey Amerika'dan *C. melo* var. *momordica* ve Avrupa kavun çeşitlerinde büyük farklılıklar ortaya çıkmış, RAPD primerlerinde *C. melo* var. *cantalupensis* ve *C. melo* var. *momordica* türleri arasında %61 oranında polimorfizm olduğu görülmüştür. 8 türün alt türü de RFLP problemleriyle incelenmiş ve altı kesme enzimle 56 probun denenmesi ile 8 tür arasında polimorfizm % 80 olduğu görülmüştür. Böylelikle yerel populasyonlar içerisinde genetik çeşitliliğin aranması görüşü önem kazanmıştır.

Şensoy ve ark. (2007), Türkiye'nin değişik bölgelerinden toplanmış ve bir Avrupa Birliği projesi kapsamında da karakterizasyonu yapılmış toplam 56 kavun genotipini 23 adet yerli ve yabancı genotiple fenotipik ve moleküler olarak karşılaştırma yapılmış ve 61 fenotipik karakter 33 primerden elde edilen 109 adet polimorfik DNA (RAPD belirteci) bantı kullanılmıştır. Fenotipik yöntemde, UPOV'un modifiye edilmiş deskriptör listesindeki 61 adet ölçüm veya gözlemden yararlanılmış, meyve analizleri ve meyve ölçümleri ise 3 adet olgun meyvede yapılmıştır. Kavun genotipleri arasındaki genetik akrabalık dereceleri, fenotipik ve moleküler veriler kullanılarak elde edilen değişik matrislerden dendrogramlar oluşturularak incelenmiştir. Çalışma sonucunda her ikisinde de tatlı olmayan kavun tipleri ile tatlı kavun tiplerinin farklı olduğunu ve tatlı tip Türk kavunlarının çeşitliliğinin tatlı tip yabancı çeşitlere göre fazla olduğunu ve birbiriyle yakın ilişkili genotiplerin çoğunluğunun aynı bölgeden toplandığı görülmüştür.

Yıldız ve ark. (2014), Türkiye'nin Doğu ve Güney Doğu Anadolu bölgelerinden seçilen kavunlarda 24 aksesyonun, 43 morfolojik özellik ve 207 moleküler DNA belirteci ile karakterizasyon çalışması yürütmüşlerdir. Bu farklı gruplar arasındaki genetik ilişkiyi, fenotipik-moleküler verilerin kombinasyonu ile elde edilen dendrogram UPGMA ile bakmışlardır. Morfolojik ve moleküler dendrogramda, iki grup oluştuğu, genotiplerin tatlı ve tatsız şeklinde gruplara ayrıldığını ifade etmişlerdir. İlk grup *agrestis* (CU305 ve CU375) ve *dudaim* (CU342)'den, ikinci grup ise *conomon* ve *flexuosus* içeren 2 alt gruptan oluşmuştur. Belirsiz genotipler (CU171, 175, 179, 199 ve 10 347) *inodorus* aksesyonları ile gruplanmıştır. Morfolojik özelliklerde elde edilen veriler ile temel bileşenler analizleri (PCA) sonucunda ilk grupta, cinsiyet, ovaryum indeksi, ovaryum şekli, meyve eti kalınlığı, çekirdek evi uzunluğu, SÇKM, meyve şekli, aroma, meyve üzerindeki ağ yoğunluğu ve tat yer almaktadır. Tüm ölçülen özellikler ile

PCA sonucunda, *flexuosus*, *agrestis* ve *reticulatus* gruplara ayırmıştır. Meyve özellikleri bakımından gruplar arasında yüksek bir varyasyon elde etmişlerdir. Amerika orijinli *reticulatus* grup genotipleri (CU360) ve Hindistan orijinli *momordica* grup genotipleri (CU386) aykırı alt grup olduğunu ve Türkiye orijinli tüm *reticulatus* grup genotipleri diğerleri ile gruplandığını ve ayrıca buna ek olarak Van bölgesi orijinli olan tüm *inodorus* ve *reticulatus* genotiplerin diğerleri ile gruplanmıştır. Bu sonuçlar daha iyi bir verim ve diğer özellikler için kavun iyileştirme programlarında kullanılan, genetik çeşitliliğe iyi bir kaynak sağlayan Türkiye gen havuzunda incelenmiş özellikler için büyük oranda varyasyonun olduğunu göstermişlerdir.

Lin ve ark. (2009), fusarium solgunluğuna dayanıklı çeşit ıslah programlarını hızlandırmak amacıyla, dayanıklı çeşitlerin belirlenmesini hızlı ve güvenilir şekilde sağlayan PCR temelli bir teknik geliştirmişlerdir. G05-SCAR primer seti olan GsF5/GsR5, OPG05 RAPD primerinin dayanıklı bireylerde çoğaltılmış olduğu bantın sekanslama sonucu elde edilmiştir. Bu SCAR primeri (GsF5/GsR5) sadece fusarium solgunluğuna dayanıklı veya duyarlı olan genotiplere spesifik olmak üzere 898 bp aralığında bant oluşturmuştur. Fusariuma duyarlı 12 çeşit, 1 hat (SB) ve dayanıklı 8 hatta SCAR primeri (GsF5/GsR5) ile yapılan tarama çalışmasında OPG05-898 markörü tüm dayanıklı hatlarda tespit edilirken, duyarlı olarak bilinen hat ve çeşitlerde görülmemiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada, karpuzda fusariuma dirençli hızlı diferansiyasyon için ya da ayrı bir özellik için PCR sisteminde SCAR markörü kullanılabileceği belirtilmiştir.

Chiba ve ark. (2003), kavunda (*Cucumis melo* L.) 31 adet mikrosatellit (SSR) markörü geliştirmiş ve bunların temel olarak kabakgil familyası türlerinde kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Bu mikrosatellitler ilk olarak, *Cucumis melo*'nun 6 farklı türüne ait 12 hat ve çeşitten oluşan kavun genotipleri arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılmış ve toplam 28 markör polimorfizm özellik göstermiştir. Markörlerin kabakgil familyasının farklı türlerinde uygulanabilirliğini araştırmak amacıyla 9 farklı türde uygulamalar yapılmış ve temel türler olan; hıyar, kabak, karpuzda 13 markör lokusu belirlenmiştir. Türler arasında en fazla markör *Momordica charantia* (24 adet), *Cucumis sativus* (20 adet) ve *Cucurbita maxima* (18 adet)' dan elde edilmiştir.

Erdinç ve ark. (2013), Van Gölü bölgesinden toplanmış olan 37 kavun genotipi arasındaki genetik çeşitliliğini, moleküler düzeyde ISSR ve RAPD belirteçleri ile belirlemişlerdir. 8 RAPD ve 10 ISSR primerlerden toplamda 121 polimorfik moleküler markörler kullanmışlardır. Grup içinde genetik benzerlik katsayısı 0.55 ve 1.00 arasında değiştiği, benzer bölgelerden toplanan genotiplerin veya akraba genotiplerin benzer kümelerde yer aldığını göstermiştir. Van Gölü havzasındaki genotipler arasında genetik çeşitlilik parametreleri olarak $H=0.175$, $I=0.231$ ve % 96.19 polimorfizm olduğunu bildirmişlerdir.

Garcia-Mas ve ark. (2000), kavun türüne ait 6 genotip arasında genetik farklılığı ölçmek için 3 farklı moleküler belirteç çeşidi (RAPD, AFLP ve RFLP) kullanmışlardır. Piel de, Sapo, Ogen, PI161375, PI414723, *agrestis* ve C105 kavun genotiplerini kullanmışlardır. Tüm kullanılan genotipler üzerinde pek çok sayıda polimorfik RAPD, AFLP ve RFLP polimorfizm elde edilerek benzerlikler ölçülmüştür. RAPD analizlerinde toplam 500 primer test edilmiş ve 204 (%40.8) primer en az bir polimorfik bant içermiş olup, 12 AFLP primer kombinasyonunun her birinden en az bir polimorfik bant elde edilmiştir ve %100 oranında polimorfik bant elde edilmiştir. Kullanılmış olan 82 RFLP primerinden ise 6 hat için en az bir polimorfik bant elde edilmiştir. Ulaşılan veriler doğrultusunda 3 markör yönteminin de aynı derecede bilgi vermiş olmasına rağmen, AFLP markör yönteminin polimorfizmi belirlemede en verimli yöntem olduğunu göstermiştir.

Kim ve ark. (2015), kavun hatlarında ve hibrit tohum üretimi sırasında andromonoik olan kavun cinsiyet tiplerinde elle emaskülasyon gereksinmesini ortadan kaldırmak için bir çalışma planlamışlardır. Bu nedenle, kendi kendine tozlaşmayı önlemek için seçkin germplazmda tek cinsiyetli cinsiyet tipleri geliştirmeye ihtiyaç duyulmuştur. Çalışmada etilen üretimi ile ilişkili olan *CmACS-7* geninin sekans varyasyonuna dayalı monoik bitkilerin seçimi için moleküler belirteçler geliştirilmiştir. *CmACS-7* sekansları, monoik (MO23) ve andromonoik (AM24) bir hattan çoğaltılmıştır. *CmACS-7* tarafından düzenlenen, tek dominant bir gen tarafından kontrol edilmekte ve MO23 (220 bp) hattunda monoiklik vermektedir. Etilen üretimini düzenleyen *CmACS-7* kavun cinsiyet ifade genleriyle de ilişkilidir. MO23 × AM24 melezlerinden elde edilen 442 F₂ bitkilerinin cinsiyet ifadesi ve T1ex SCAR temelli genotipi ile belirlenmiştir. F₂ undaki cinsiyet ifade karakterleri, MO, AM ve IM

fenotip sınıflarına ayrılmıştır. Monoik ve andromonoik F₂ populasyonunda 3: 1 oranla ayrılmıştır; burada 429 bitki cinsi (sınıflandırılmamış 13 bitki) SCAR belirteç ile birlikte ayrılmıştır ve *CmACS-7* tarafından düzenlenen tek renkli cinsiyet ifadesinin tek bir baskının kontrolü altında olduğu bildirilmiştir. MO23'te yaklaşık 220 bp' lik parlak bir bant gösterirken, andromonoik olan AM24' te 200 bp' lik tek bir parlak bant görülmüştür. Bu nedenle T1 genotiplendirmenin sonuçları, kavun germplazmasına bağlı olarak monoik kavunlarda *CmACS-7* boyutunun farklı olabileceğini göstermiştir. Sonuç olarak T1 belirtecinin monoik analizlerde sınırlamaları vardır ve evrensel olarak kullanılmaktadır. T1ex F / R olarak adlandırılan uzatılmış primerlerde ise MO23 üzerinde test edilip, ancak ikinci 150 bp bantı daha yüksek sıcaklıklarında dahi hala amplifiye edildiği tespit edilmiştir. Bu işaretleyiciyi kullanarak 442 F₂ bitkisini genotiplendirilmiştir. Tamamen monoik olan 13 bitki arasından üçünde AA marker genotipi, 10 tanesinde Aa marker genotipi var olup SCAR T1'in monoik hattı RH107'de 180 bp PCR bantını yükselttiğini bildirmiştir. Bununla birlikte, T1 monoik MO23'de 220 baz çiftlik bir bant görülmüş bu da *CmACS-7*' nin allelik varyasyonunun monoik kavun germplazasında olduğunu ortaya koymuştur. Monoikle birleştirilmiş EXON 1'deki SNP alleleline özgü CAPS markeri ise *BIPI* enzim kısıtlama bölgesine dayanılarak geliştirilmiştir. Sadece *BIPI* monoik çizgisinde SNP alanını tanıdığından *BIPI* kullanan CAPS, SNP'nin allel ayırımı için idealdir. Tahminen, EX1_C170T markörü için PCR primerleri hem monoik hem de andromonoik AM24'ten 424 bp fragmanları elde edilmiştir. SNP allel varyasyonlarını değerlendirmek için, T1EX markörleri, taksonomik ve coğrafik olarak farklı monoik ve andromonoik kavun hatlarından 112 allel varyasyonu görmek için toplamak için kullanılmış olup, fenotipik değerlendirme yapılmıştır. Bu değerlendirme sonucunda 21 monoik, 89 genotipin andromonoik olduğu görülmüştür.

Daryono ve ark. (2009), kavunda *CMV-B2* direnç geni ile bağlantılı iki RAPD markörleri, kavunda *CMV-B2* direnç genini tespit etmek için SCAR markörleri Yamatouri çeşidinden klonlanarak dizayn edilmiştir ve APB-0'ten türetilen SCAPB05₁₀₄₆ belirtecinde tek DNA bantı elde edilirken, OP-14'ten türetilen SCOPE14₅₄₁ de 16 bant vermiştir. F₂ bitkilerde SCAR markör kökenli olan SCOPE14₅₄₁ ve SCAPB05₁₀₄₆ markörlerinin kodominant özellik gösterdiği gözlenmiştir. Sonuç olarak SCAR analizleri sadece kavunlarda değil, aynı zamanda

RAPD markörleri tarafından gözlemlenen belirsiz direnç sonuçlarına açıklık getirmiştir (Daryono ve ark., 2009).

Wang ve ark. (2010), kavunda fusarium solgunluğunu destekleyen *Fom-2* için fonksiyonel markörlerin gelişimi çalışmasında, F_1 ve F_2 generasyonunda fusarium solgunluğu direnciyle bağlantılı SNP geçerliliği CAPS ve allele özgü PCR yöntemleri keşfetmek için çalışılmıştır. Homozigot ve heterozigot direnç genotipleri ile homozigot duyarlı genotipler CAPS yöntemi kullanarak ayrılabilir. Tespit edilen 3 SNP fusarium solgunluğuna bağlantılı olarak F_2 generasyonunda 1:2:1 bir ayırım oranı gözlemlenmiştir. Ek olarak heterozigot direnç ve homozigot duyarlı genotipler PCR metodu kullanılarak F_1 generasyonunda açık bir şekilde ayırt edilmektedir. Sonuç olarak fusarium solgunluğu direnci ile bağlantılı SNP 'ye dayalı Fom 2-2 LRR bölgesinin SNP'den ortaya çıkan FmS belirlenmiş ve kavunda dayanıklılık ıslahında umut vaat ettiği gösterilmiştir.

Noguera ve ark. (2005), yaptıkları çalışmada kavunun andromonoik geni ile bağlantılı olan ko-dominant SCAR markörünün haritalanması ve geliştirilmesini hedeflemişlerdir. AFLP bölümlerinin sekanslanması ve çoğaltılmasında kullanılmış ve dizayn edilmiş olup 532 bitki genotipi haritalama çalışmalarında kullanılmıştır. Farklı boyutlar arasında SCAR fragmentlerinin iki alleli 42 bp olarak belirlenmiştir. Islah programlarında SCAR markörü kavunlarda cinsiyet tipleri için seçilen ürünleri, MAS yöntemini kullanarak ıslah programlarında faydalı olabildiği tespit edilmiştir.

Oumouloud ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada kavunda fusarium solgunluk etmeni ırk 2'ye direncinin moleküler ıslah için fonksiyonel markörlerin gelişimi ve *Fom-1* geninin moleküler karakterizasyonu çalışılmıştır. Son zamanlarda *Fom-1* geni Fom 0 ve 2 ırklarına karşı direnç için kullanılmış ve çoğaltılmıştır. Bu çalışmada araştırmacılar bu gen içinde dizayn edilen primerlerinin üçünü kullanarak birçok duyarlı ve dirençli kavun genotiplerinden *Fom-1*'in tam genomik sekansını üretmiş ve çoğaltmışlardır. *Fom-1* lokusunun kod bölgesi içerisinde tek nükleotidli polimorfizme dayalı olarak 2 CAPS markörü üretilmiştir. Fom-1R 182+386 bp ve 568 bp de bant aralığı vermiş ve Fom-1S CAPS markörü için 262+306 bp ve 568 bp bant aralığı vermiştir. Kavun ıslah programları için moleküler yardımcı seleksiyonda her iki CAPS markörünün açık bir şekilde kullanışlı olduğunu kanıtlanmıştır.

Dhillon ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada Hindistan'ın 2 tarımsal ekolojik (nemli-tropik) bölgesinden toplanan 36 *momordica* (*Cucumis melo* var. *momordica*) genotipleri arasındaki çeşitliliği RAPD primerleri, meyve özellikleri, verim, zararlı ile hastalıklara dayanıklılık gibi morfolojik özellikler biyokimyasal belirteçleri kullanarak belirlemeye çalışmışlardır. *Momordica* kavun genotipleri arasında bitki ve meyve karakterleri açısından tipik farklılıklar görülmüştür. Koleksiyondaki genotiplerin titre edilebilir asit oranına sahip; mildiyö, CMV, ZYMV, PRSV, *Aphis gossypii* (Yaprak biti) ve *Meloidogyne incognita* (Kök ur nematodu)'ya dayanıklı olduğu analiz edilmiştir. RAPD markör tekniğiyle yapılan moleküler karakterizasyona göre Hindistan *momordicalarında* zengin bir genetik çeşitlilik kaynağı tespit edilmiştir. *Agrestis* ve *momordica* genotipleri aynı grup içerisinde yer alırken *reticulatus* genotipleri ise farklı bir grup oluşturmuştur.

Monforte ve ark. (2003), yabani ve kültürü yapılan kavunların genel sınıflarını temsil eden 27 genotipin genetik çeşitliliğini incelemek için yaptıkları çalışmada 18 SSR veya mikrosatelit markör seti kullanmışlardır. Çalışılan materyalde toplam 114 allel tespit edilmiş ve SSR için oldukça polimorfik olduğu belirtilmiştir. Kümeleme analizleri sonucunda 2 ana grup oluşmuştur. Bunların da büyük çoğunlukla *Cucumis melo*'nun 2 alt türü olan *agrestis* ve *melo* ile uygun olduğunu belirlemişlerdir. Farklı iki gruptan en çoğu Akdeniz'den gelen genotip, Çin, Japonya, Kore ve Hindistan'dan gelen genotiplerdir. Başta Orta Afrika ve Hindistan olmak üzere geri kalan genotiplerde önemli bir genetik varyasyon kaynağı olabileceği tespit edilmiştir.

Wang ve ark. (2000), yaptıkları çalışmada fusarium ırk 0 ve 1'e direnç içeren Fom-2 genleriyle bağlantılı markörleri tanımlamak için AFLP belirteçleri kullanmışlardır. Fom-2 ile bağlantılı olan AFLP markörleri tanımlamak için 200 ECORI/MseI ve 240 PstI/MseI primer kombinasyonlarını kullanarak homozigot duyarlı ve dirençli genotipler görüntülenmiş, iki AFLP markörü kullanılmış ve bu iki dominant markör ebeveynler arasında polimorfizm uzunluğu üreterek spesifik PCR primerlerinin dizayn edilmesiyle ko-dominant markörlere dönüştürülmüş olup 45 genotipin direnç fenotipleri ve parça boyutları arasında yüksek bir korelasyon göstermiştir. Bu markörlerin MAS'ta kullanımının faydalı olabildiği ortaya konulmuştur.

Oumouloud ve ark. (2011), yaptığı çalışmada iki SCAR markörü, (Fom2-R₄₀₈ ve Fom2-S₃₄₂ Fom2 dirençli ve duyarlı alleller için) geliştirilmiştir. Bu alleller çoklu

PCR’de kombine edildiğinde ko-dominant olarak kullanılabilmiştir. Bu spesifik markörler birçok kavun tipini temsil edilerek 27 genotip üzerinde geçerli olmuştur. Kavunda *Fom-2* geni için bu iki markörün maliyet etkinliğini ve güvenilirliğini geliştirmesini beklendiğini ifade etmişlerdir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait iklim odasında yetiştirilen 11 F₁ hibrit kavun çeşidi ile 13 kavun genotipiyle birlikte toplamda 24 genotip kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Söz konusu çeşitlerin çoğu yetkili firmalardan temin edilmiştir. Çalışmada Fusarium solgunluğu, cinsiyet, CMV ve külleme için 10 SCAR markörü ve 5 CAPS markörü olmak üzere toplam 15 markör çifti kullanılmıştır. Bu markörler Çizelge 3.2-3.5'te belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kavun genotip ve çeşitlerine ait bilgiler

Genotip	Fusarium	Külleme	CMV	Cinsiyet	Temin Edilen Yer
CU-129 (<i>inodorus</i>)	Dayanıklı	?	?	Monoik	ÇÜ
CU-305 (agrestis benzeri yabani kavun)	Duyarlı	?	?	A.monoik	ÇÜ
Y15 Isabelle (<i>cantalupensis</i>)	Dayanıklı	?	?	A.monoik	Pitrat- Fransa
Y63 (<i>conomon</i>)	Dayanıklı	?	?	Monoik	Pitrat- Fransa
CU-269 (Şemame, <i>dudaim</i>)	Duyarlı	?	?	A.monoik	YYÜ
T4 Hasanbey (<i>inodorus</i>)	Duyarlı	?	?	?	İstanbul Toh
Y9 (<i>conomon</i>)	Dayanıklı	?	?	A.monoik	Pitrat- Fransa
Şıra F1 (Galia)	?	?	?	?	Manier Toh.
Serin F1 (Ananas)	?	?	?	?	Manier Toh.
Balözü F1 (Galia)	Dayanıklı	Dayanıklı	?	?	Vatan Toh.
Napolyon F ₁ (Ananas)	Dayanıklı	Dayanıklı	?	?	Gento-Toh.
Digital F ₁ (?)	?	?	?	?	Gento-Toh.
VCR-601 F1 (Ananas)	Dayanıklı	?	?	?	Gento-Toh
Polidor F1 (Galia)	?	Dayanıklı	?	?	Altın Toh.
Dragon F1 (?)	?	?	?	?	Altın Toh.
Favori F1 (Galia)	?	Dayanıklı	?	?	Altın Toh.
Medetli F ₁ (Ananas)	Dayanıklı	?	?	?	Yüksel Toh.
Galina F1 (?)	?	?	?	?	Yüksel Toh.
Topatan Kavunu	?	?	?	?	Balıkesir-Yerli Toh.
Düvlek Muz Kavunu	?	?	?	?	Balıkesir-Yerli Toh.
Musakka Kavunu	?	?	?	?	Balıkesir-Yerli Toh.
Çilli Kavun	?	?	?	?	Balıkesir-Yerli Toh.
Beyaz Gönen Kavunu (<i>inodorus</i>)	Duyarlı	?	?	?	Balıkesir-Yerli Toh.
T6 Acur (<i>flexuosus</i>)	Duyarlı	?	?	Monoik	Bursa Toh.

Çizelge 3.2. *Fusarium solgunluğu* belirteçlerine ait bilgiler

Gen	Markör	Markör tipi	Markör ismi	Markör dizilimi	Kaynak
<i>Fom-2</i>	SCAR	Ko-dominant	FM	F=GAAGATGCAAAGAAAAAGAGAAGG R=TCAATTAAACATTCTGATGCC	Wang et. al. 2000.
<i>Fom-2</i>	SCAR	Ko-dominant	AM	F=CTTCATTATTTCGAGGATGAC R=CTTCTGACACCAACCAAAAAGG	Wang et. al. 2000.
<i>Fom-2</i>	CAPS	Ko-dominant	CAPS2	F= GGAAGTGAGGTGTTGAATT R=TACACATTGGTCCGTTAGAC	Wang et. al. 2011.
<i>Fom-2</i>	CAPS	Ko-dominant	CAPS3	F= AGACGTAGCATTGCTTCTCTAG R= TGGCATCCTTCAGCACCTTC	Wang et. al. 2011.
<i>Fom-2</i>	SCAR	Dominant	Fom2-R ₄₀₈	F=GAGAAATTTGCAATGGGTGG R= TTACACTATTATTGCTCAACTTGC	Oumouloud 2012.
<i>Fom-2</i>	SCAR	Dominant	Fom2-S ₃₄₂	F=ATGAAAAGAAAAGATAACGACGA R=ATTGCTCTAAGTTGATCATATTCTG	Oumouloud 2012.
<i>Fom-1</i>	CAPS	Ko-dominant	Fom1-R Fom1-S	F=ATGAGTTTGTATAGTTTCATAAG R=GAACACTCCCTTAGATACTT	Oumouloud 2012.

Çizelge 3.3. Cinsiyet belirleme belirteçlerine ait bilgiler

Gen	Markör	Markör tipi	Markör ismi	Markör dizilimi	Kaynak
<i>CmACS-7</i>	SCAR	Ko-dominant	T1	F=AACGGATGAAGAAGGAAAAACG R=ATATTGGGCAGTGTCACACA	Feng et al.2009
<i>CmACS-7</i>	SCAR	Ko-dominant	T1ex	F=AACGGATGAAGAAGGAAAAACGAAG R=ATATTGGGCAGTGTCACACAAAA	Kim ve ark.2015
<i>CmACS-7</i>	CAPS	Ko-dominant	EX C	F=TTGGCTCTCAAAAAGGAAA	Kim ve ark.2015
Andromonoik	SCAR	Ko-dominant	170 I	R=CCCTCACAAATTTTCCTCCAA	Noquera ve ark.2004
Andromonoik	SCAR	Ko-dominant	M3a	F=GAATTCAAGGAAAGTTTATATAT R=ATTCTTCATAACTTCGATTAA	Noquera ve ark.2004
Andromonoik	SCAR	Ko-dominant	M3A	F=GAATTCAAGGAAAGTTTATAGAT R=AATCTTCATAACTTCGATTAA	Noquera ve ark.2004

Çizelge 3.4. Hıyar mozaik virüs belirteçlerine ait bilgiler

Gen	Markör	Markör tipi	Markör ismi	Markör dizilimi	Kaynak
<i>CMV-B2</i>	SCAR	Dominant	SCAPB05 ₀₄₆	F=AACGCGCAACTTGATACAAATATA R=AACGCGCAACAATAGAAGAACATC	Daryono ve ark 2009
<i>CMV-B2</i>	SCAR	Dominant	SCOPE14 ₅₄₁	F=TGCGGCTGAGGACGGTTGGAGGTC R=TGCGGCTGAGCATTCTCGAGCAG	Daryono ve ark 2009

Çizelge 3.5. Külleme hastalığına ait belirteç bilgileri

Gen	Markör	Markör tipi	Markör ismi	Markör dizilimi	Kaynak
<i>Pm-2F</i>	CAPS	Dominant	CAPS- <i>Dde</i> I	F=GCCCCAACCTTCAACTCGATA R=TTGAATCTCATTTTCTGTTGCAT	Zhang ve ark. 2012

3.2. Yöntem

Tez çalışması kapsamında fusarium solgunluğu, hıyar mozaik virüsü, külleme hastalığı ve cinsiyet belirlemede kullanılan bazı SCAR ve CAPS markörlerinin 24 kavun genotipinde etkinliği araştırılmıştır. SCAR ve CAPS markör yöntemi çalışmamızda belirlenen hastalıklara ve cinsiyet belirlemelerine göre sekansa özgü markörler PCR ortamında çoğaltılmasıyla gerçekleşmiştir. CAPS markör tekniğinde gen spesifik markör çiftleriyle PCR ortamında çoğaltılan amplifikasyon ürünleri kesme enzimleri ile kesilmiştir (Jiang ve ark., 1997).

3.2.1. Kavun bitkilerinin yetiştirilmesi

Çeşitli bölgelerden temin edilen yerli ve hibrit çeşitlere ait tohumlar iklim odasında her çeşitten onar adet olacak şekilde gruplandırılarak saksılara ekilmiştir (Şekil 3.1). Yaklaşık 15-20 gün sonra bitkiler 2-3 gerçek yaprak dönemindeyken genç yapraklardan örnek alınmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.1. Kavun tohumlarının saksılara ekilmesi.



Şekil 3.2. DNA izolasyonu yapılacak kavun bitkileri.

3.2.2. DNA izolasyonu

Çimlenen kavun tohumları fide aşamasında gerçek yaprak (Şekil 3.3) oluşturduktan sonra DNA izolasyonu için yaprak örnekleri alınarak (Şekil 3.4) liyoflizatöre konulmuştur. İki gün boyunca -86°C sıcaklıkta (Şekil 3.5) ve düşük basınçta liyoflize edilen yapraklar (Şekil 3.6) öğütülerek toz haline getirilip izolasyon aşamasına geçilmiştir. Kavun yapraklarından DNA izolasyonu Doyle ve Doyle (1990)'a göre modifiye edilmiş olan CTAB metoduna göre yapılmıştır. Yapılan çalışmalar ayrı başlıklar halinde aşağıdaki gibidir.



Şekil 3.3. Gerçek yaprakları oluşmuş ve DNA izolasyonuna hazır kavun bitkileri.



Şekil 3.4. DNA izolasyonu için yaprak örneklerinin alınması.



Şekil 3.5. Kavun yapraklarının -86 °C sıcaklıkta bekletilmesi.



Şekil 3.6. Düşük basınçta yaprakların kurumasını sağlayan liyofilizatör cihazı.

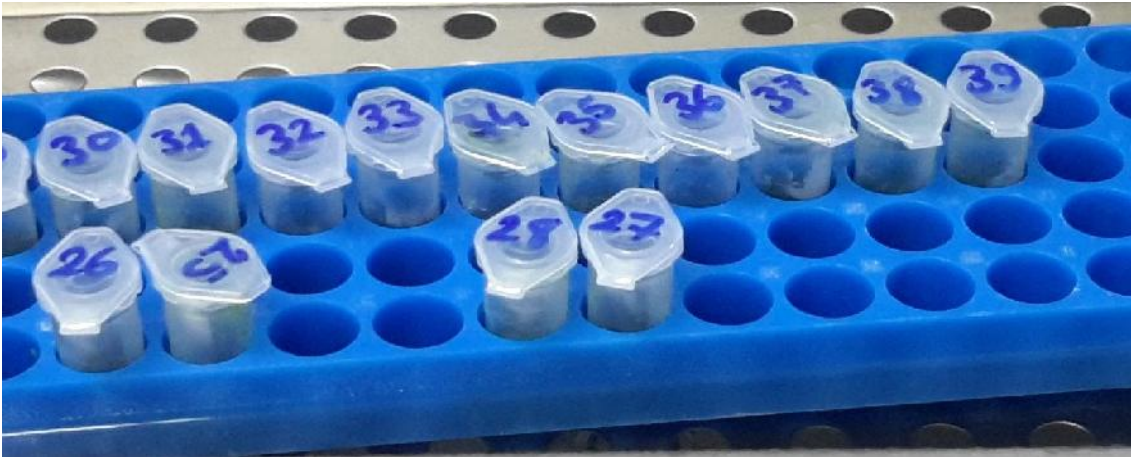
İzole edilen DNA'ların miktar ve kaliteleri, 1 μ l DNA örneği kullanılarak spektrofotometre (Nanodrop ND-100) ile ölçülmüştür (Şekil 3.7). Elde edilen spektrofotometre sonuçları değerlendirilip, ilgili hesaplamalar yapılmış ve DNA konsantrasyonları önce 50 ng'a seyreltilip -20°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.7. Bitki DNA kalitesi ve miktarının Nanodrop cihazı ile belirlenmesi.

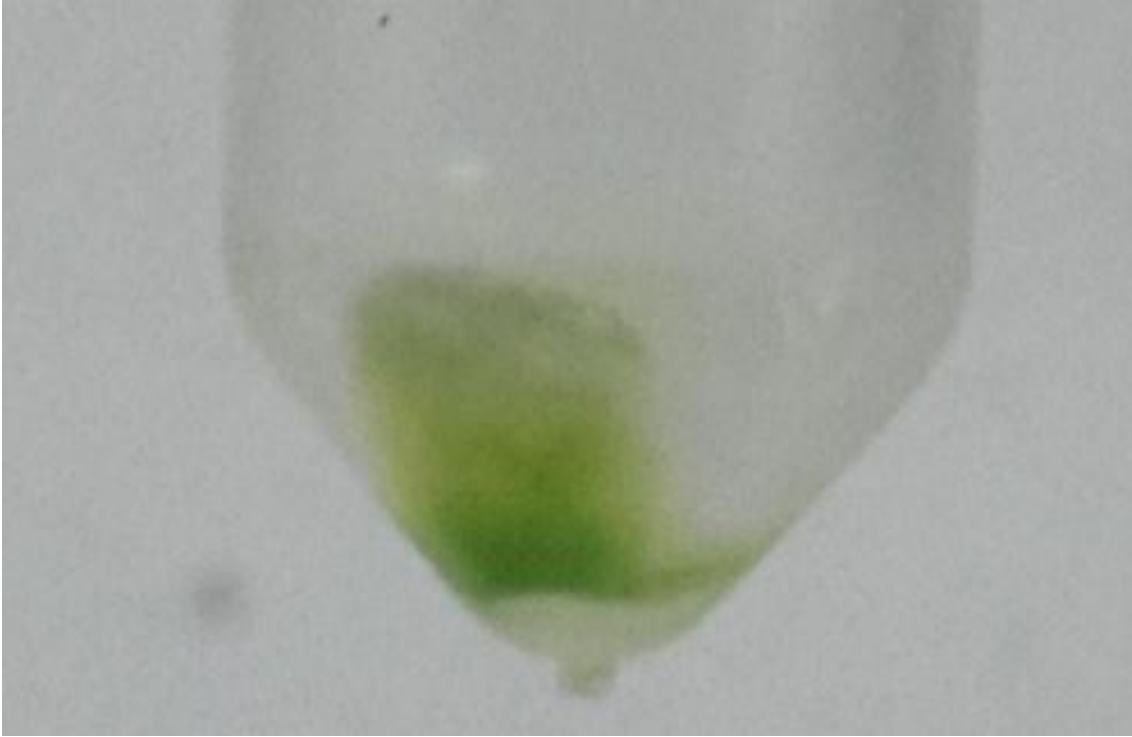
İzolasyon için aşağıdaki adımlar sırasıyla takip edilmiştir:

1. Ezilen örnekler 2 ml'lik ependorf tüplere konularak 500 μ l CTAB tampon çözeltisi (100 mM Tris-HCl, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, %2 CTAB, pH 8.0) eklenmiştir.
2. Tampon çözeltisi eklendikten sonra her örnek için 10 μ l β -mercaptoetanol ve 10 μ l proteinaz eklenerek tüplerin ağzı kapatılmış, örnekler 65 $^{\circ}$ C sıcaklığa sahip su banyosu içerisinde (Şekil 3.8) 1 saat bırakılmış ve bu süre içerisinde tüpler birkaç kez hafifçe karıştırılmıştır.



Şekil 3.8. Örneklerin 65 $^{\circ}$ C sıcaklığa sahip su banyosu içerisinde bekletilmesi.

3. Su banyosundan çıkarılan örnekler biraz soğuduktan sonra 24:1 hacimli 500 µl kloroform: izoamil alkol konularak 13500 rpm'de 30 dakika santrifüj edilmiştir.
4. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra ayırım tabakası oluşmuş ve üst tabaka yeni 2 ml'lik eppendorf tüplerine aktarılıp üzerine 28 µl soğuk amonyum asetat eklenmiştir. Daha sonra soğuk isopropanoldan 204 µl eklenip 24 saat süreyle -20 °C'de bırakılmışlardır.
5. Bir gün sonra örnekler 13500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilip DNA dibe çöktürülmüş ve geri kalan sıvı tüplerden pipet yardımıyla uzaklaştırılmıştır.
6. Tüplere 700 µl %70 lik soğuk ethanol eklenmiş ve 13500 rpm'de 3 dakika santrifüj yapılarak yıkanma sağlanmıştır.
7. Tüpler boşaltıldığı sırada DNA'nın düşmemesine dikkat edilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Pelet görüntüsü.

8. Daha sonra 700 µl %95 lik soğuk ethanol eklenmiş olup yıkama işlemi tamamlanmıştır. Yıkama tamamlandıktan sonra tüplerde kalan etanolün kuruması için 55 °C'de yaklaşık 20 dakika bekletilmiştir.

9. Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra 1 µl Rnase ve 100 µl deiyonize (ddh2O) su eklenerek izolasyon işlemi tamamlanmıştır.

3.2.3. PCR analizleri

PCR’da markör bağlanma noktaları arasındaki küçük DNA parçacıklarının milyonlarca kez çoğaltılması sağlanmıştır (Şekil 3.10.) Reaksiyon ortamı için gereken kalıp DNA, DNA’ya yapışacak sentetik markörler, DNA’nın çoğalması için gerekli enzim olan Taq polimeraz, Taq polimerazın kofaktörü olan $MgCl_2$, ddH₂O eklenmesiyle PCR reaksiyonu hazırlanmıştır (Çizelge 3.6). Hazırlanan reaksiyon, markörlerin bağlanma sıcaklıklarına göre PCR döngüleri ayarlanmıştır. Bütün markörler en az 3 defa denenmiştir.



Şekil 3.10. PCR cihazı (Thermal Cycler).

Çizelge 3.6. PCR reaksiyonu

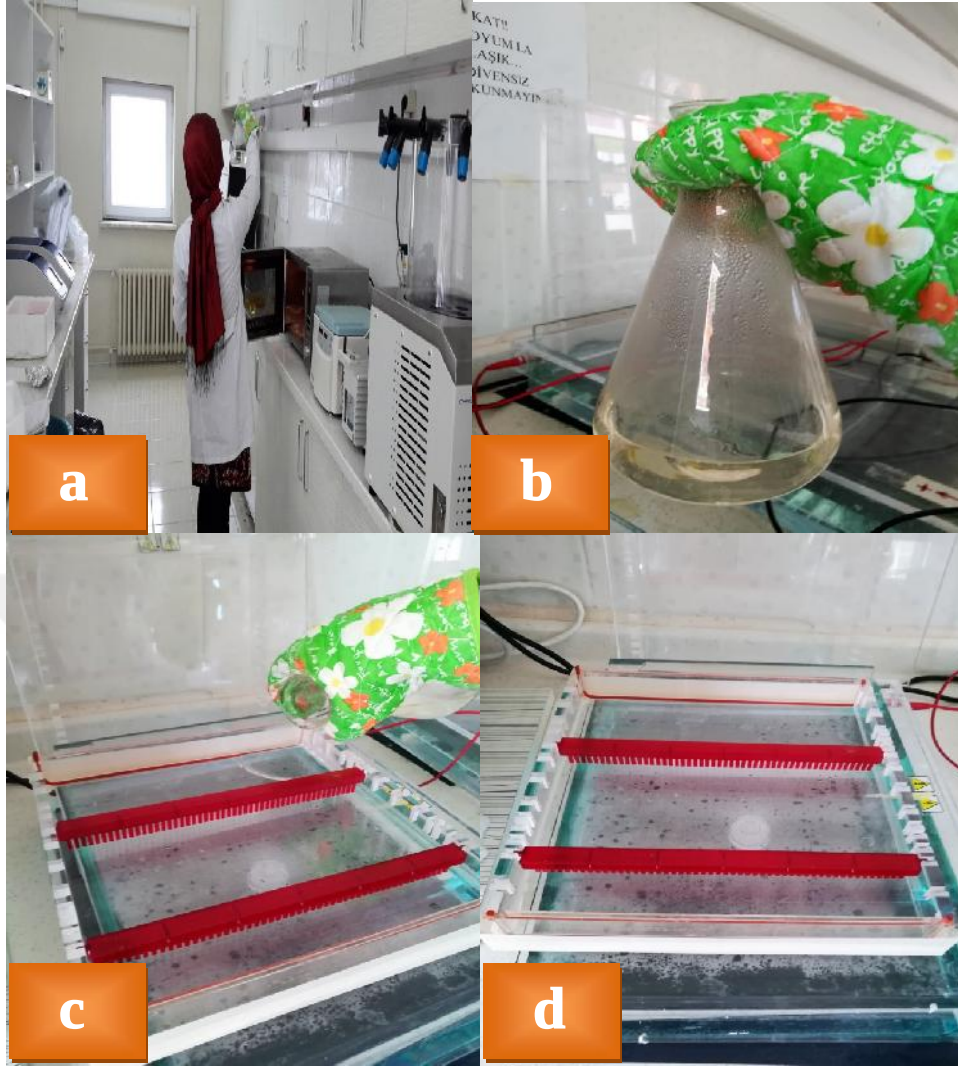
Kullanılan Kimyasallar	Her örnek için Kullanılan Miktar (µl)
ddH ₂ O	6.3
TBE Buffer	2
MgCl ₂	2.5
dNTP	2
Primer (forward ve reverse)	5+5
Taq	0.2
DNA	2
Toplam Hacim	25

Çizelge 3.7. Belirteçlerin bağlanma sıcaklığı (°C)

Markör	Bağlanma Sıcaklığı	İlgili olduğu gen ve özellik	Kaynak
T1	56 °C	<i>CmACS-7</i> / Cinsiyet belirleme	Feng ve ark., 2009
T1ex	55°C	<i>CmACS-7</i> / Cinsiyet belirleme	Kim ve ark., 2015
EX1 C170I	55 °C	<i>CmACS-7</i> / Cinsiyet belirleme	Kim ve ark., 2015
M3a	56°C	<i>A.monoik</i> / Cinsiyet belirleme	Noguera ve ark.,2005
M3A	56 °C	<i>A.monoik</i> / Cinsiyet belirleme	Noguera ve ark.,2005
CAPS-Dde I	55 °C	<i>Pm-2F</i> / Külleme	Zhang ve ark.,2012
Fom1R/Fom1S	53 °C	<i>Fom-1</i> / <i>Fusarium solgunluğu</i>	Oumouloud ve ark.,2015
AM	35 °C	<i>Fom-2</i> / <i>Fusarium solgunluğu</i>	Wang ve ark.,2000
FM	35 °C	<i>Fom-2</i> / <i>Fusarium solgunluğu</i>	Wang ve ark.,2000
CAPS2	60 °C	<i>Fom-2</i> / <i>Fusarium solgunluğu</i>	Shiwei Wang ve ark.,2010
CAPS3	60 °C	<i>Fom-2</i> / <i>Fusarium solgunluğu</i>	Shiwei Wang ve ark.,2010
SCAPB15 ₁₀₄₆	67 °C	<i>CMV-B2</i> / Hıyar mozaik virüsü	Daryono ve ark.,2009
SCOPE14 ₅₄₁	67 °C	<i>CMV-B2</i> / Hıyar mozaik virüsü	Daryono ve ark.,2009
Fom2 R ₄₀₈	61°C	<i>Fom-2</i> / <i>Fusarium solgunluğu</i>	Oumouloud ve ark.,2011
Fom2 S ₃₄₂	62 °C	<i>Fom-2</i> / <i>Fusarium solgunluğu</i>	Oumouloud ve ark.,2011

3.2.4. Jel görüntüleme

PCR ürünlerinin görüntülenmesi için agaroz jel elektroforezi (Şekil 3.11.) ve kapiller elektroforez (Şekil 3.13.) olmak üzere iki farklı sistemden faydalanılmıştır. PCR bileşenleri tüm markörler için aynı olup PCR döngü programı ilgili yayınlarda belirtilen PCR koşulları uygulanmış olup elde edilen PCR ürünleri %2.5'lik agaroz jelde 120 V 3.5 saat süreyle agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür.



Şekil 3.11. Agaroze jel hazırlama aşamaları

- a) jelin mikrodalga fırında eritilmesi c) jelin tanka dökülmesi
b) jelin belirli bir süre soğutulması d) jelin donması

Bu çalışmada örneklerimiz % 2.5'lik agaroze jele yüklenmiştir. Bununla birlikte agaroze jelde istenen ölçüde bant ayırımı sağlanmadığında agaroze jel yoğunluğu % 2,5-3 olarak ayarlanmıştır ve ortalama 3 saat 80-120V arası elektrik akımı uygulanmıştır. Daha sonra UV ışınlar altında bant görüntülemesi yapılmıştır (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. PCR ürünlerinin agaroz jele yüklenmesi ve görüntülenmesi.

- a) PCR ürünlerinin elektroforez içerisinde bulunan agaroz jele yüklenmesi
- b) UV görüntüleme cihazı



Şekil 3.13. Kapiller cihazı (Qiaxcell screen software)

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Kavun fusarium solgunluğu için FM, AM, Fom2 R₄₀₈ ve Fom2 S₃₄₂, SCAR markörleri ile CAPS2, CAPS3, Fom-1R / Fom-1S CAPS markörlerinin 24 kavun genotipi üzerinde analizi yapılmıştır. Bu markörlerden FM, Fom2 R₄₀₈, Fom2 S₃₄₂ ve Fom-1R / Fom-1S için görüntü alabilirken, CAPS2, CAPS3, AM için herhangi bir görüntü alınamamıştır.

Hıyar mozaik virüsüne ait SCAPB05₁₀₄₆ ve SCOPE14₅₄₁ SCAR markörleri ile belirttiğimiz 24 kavun genotipi üzerinde analiz yapılmıştır. SCOPE14₅₄₁ için sonuç alınırken, SCAPB05₁₀₄₆ marköründen sonuç alınamamıştır.

Külleme için geliştirilmiş olan CAPS-Dde I markörü 24 kavun genotipi üzerinde çalışılmıştır. Kesme enzimi kesme işlemini gerçekleştirilemediği için istenilen sonuç görüntüsü alınamamıştır.

Kavunda cinsiyet belirleme için kullanılan T1, T1ex, M3a ve M3A SCAR markörleri ile CAPS olan EX1 C170I CAPS markörleri 24 kavun genotipi üzerinde analiz yapılmıştır. Fakat bu markörler ile ilgili sonuç alınamamıştır.

4.1. Kavun Fusarium Solgunluğuna (FOM)'a Ait Markörlerin PCR Analiz Sonuçları

Bu çalışmada kavun fusarium solgunluğuna ait dayanıklılık için geliştirilmiş olan FM, AM, Fom2 R₄₀₈ ve Fom2 S₃₄₂ SCAR markörleri ile CAPS2, CAPS3, Fom-1R / Fom-1S CAPS markörlerinin 11 F₁ ve 13 yerli çeşitleri olmak üzere 24 kavun genotipi taraması yapılmıştır. FM, Fom2 R₄₀₈, Fom2 S₃₄₂ ve CAPS Fom-1R / Fom-1S markör çiftlerinden görüntü alınabilmiştir.

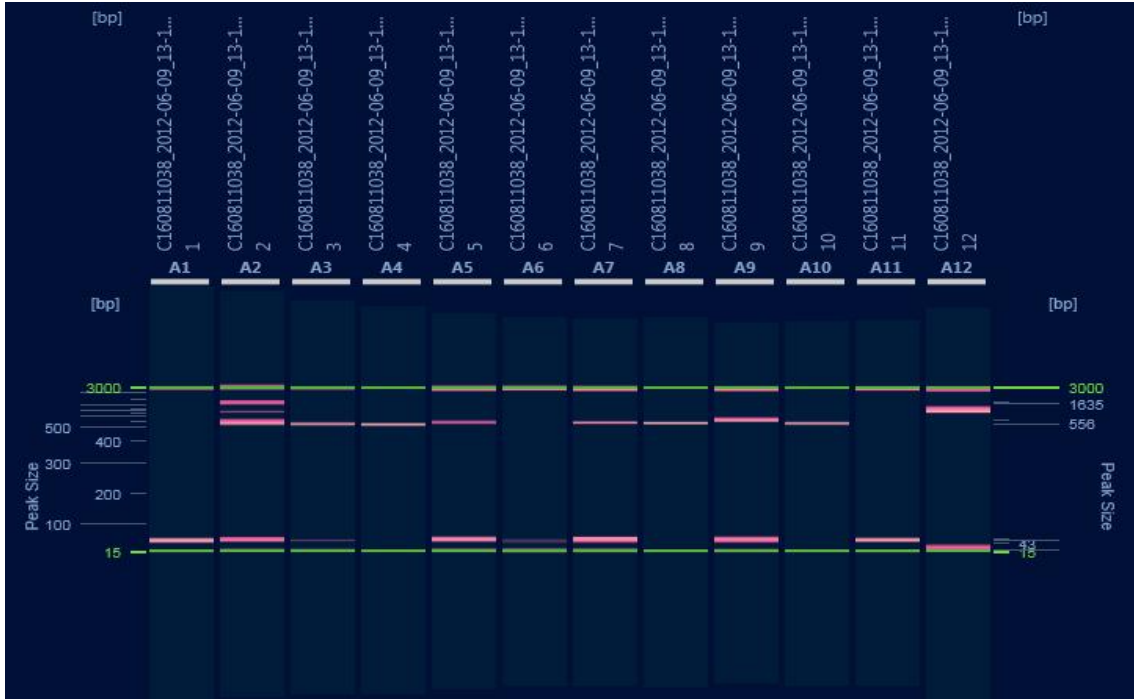
4.1.1. FM markörü

Fungal patojenin ırk 0 ve 1'e direnç içeren *Fom-2* genleriyle bağlantılı markörlerini tanımlamak için geliştirilen ko-dominant SCAR FM markörü 24 kavun genotipi üzerinde analiz edilmiştir (Şekil 4.1-4.2, Çizelge 4.1). Bu ko-dominant markörün dayanıklılık bantı 564 bp'de görüntü vermiştir. Onbir F₁ ticari kavun çeşitlerinde 1 adet duyarlı, 4 adet dayanıklı, 4 adet heterozigot bant elde edilirken, 2

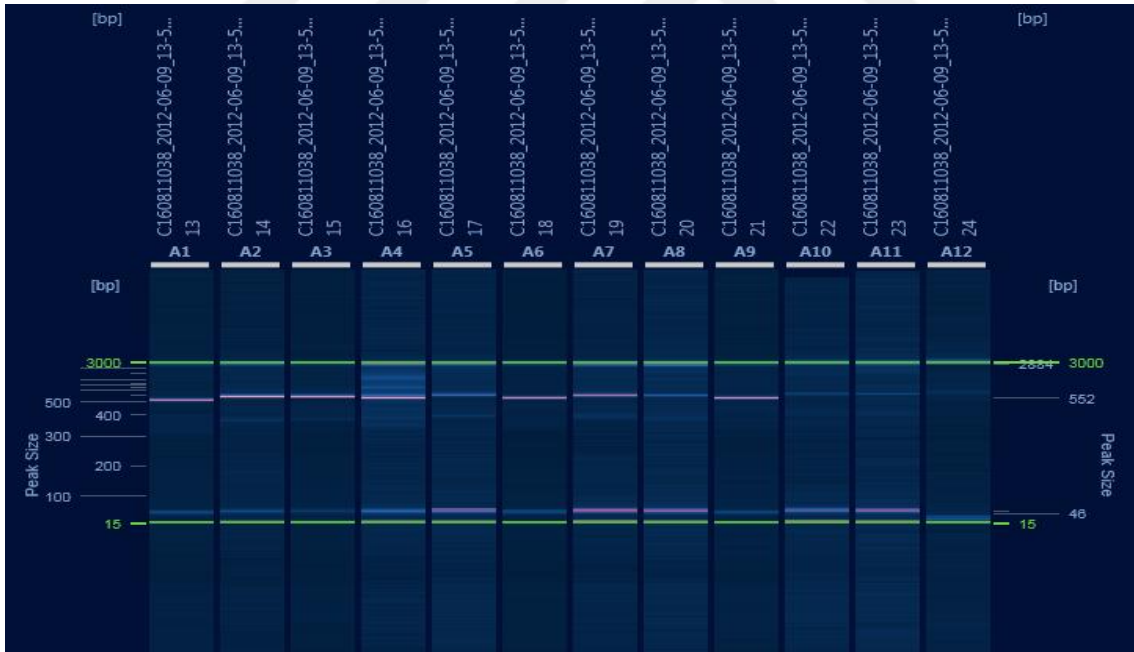
adet F_1 çeşidinde bant elde edilmemiştir. Yerli kavun genotiplerinde 5 adet duyarlı, 4 adet dayanıklı 2 adet ise heterozigot olarak toplam 11 F_1 çeşitten bant elde edilirken, 2 yerli çeşitten bant elde edilmemiştir. Aynı zamanda 24 kavun genotipinin hastalıklara dayanımlarıyla elde edilen sonuçlar birbiriyle karşılaştırılmıştır.

Wang ve ark. (2000), yaptıkları çalışmada direnç genine bağlantılı moleküler markörleri tanımlayarak direnç genotiplerinin seçimi için önemli bir araç olabildiğini ortaya koymuşlardır. *Fom-2* genleriyle bağlantılı markörleri tanımlamak için AFLP'den bu iki dominant (FM, AM) markör, ebeveynler arasında polimorfizm uzunluğu üreterek spesifik PCR primerlerinin dizayn edilmesiyle SCAR ko-dominant markörlere dönüştürmüşlerdir. *Fom-2* ile bağlantılı olan SCAR markörleri tanımlamak için 200 ECORI/MseI ve 240 PstI/MseI primer kombinasyonlarını kullanarak 564 bç'de dayanıklı genotipler görüntülenmiştir. Kırkbeş genotipin direnç fenotipleri ve parça boyutları arasında yüksek bir korelasyon göstermiştir. Bu markörlerin MAS' ta kullanımının faydalı olabildiği ortaya konulmuştur.

FM ve AM markörleri, 7 homozigot dayanıklı ve 11 homozigot duyarlı F_2 çeşidinden elde edilmiş olan *Fom-2* dayanıklılık geni, 1.7 ve 3.3 cM uzaklıkta bulunmaktadır (Wang ve ark., 2000). Elde edilen moleküler bilgiler doğrultusunda Wang ve ark., (2000)'de yaptıkları çalışmada kullanılan Fransa orjinli Isabelle ve Shiro Uri Okoyama çeşitlerinin FM ve AM marköründe dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan FM markörü aynı sonucu verirken, AM marköründe herhangi bir bant elde edilmemiştir. Sensoy 2005' te yaptığı çalışmada RAPD belirteçleriyle (E07- G17) 8 yerli genotipinde yapay inokulasyonla fusariuma duyarlılık düzeyleri tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasındaki ortak olarak kullanılan genotiplerde benzer sonuçlar elde edilmiştir.



Şekil 4.1. FM ko-dominant markörü ile elde edilen dayanıklı 564 bç'deki kapiller bant görüntüsü.



Şekil 4.2. FM ko-dominant markörü ile elde edilen dayanıklı 564 bç'deki kapiller bant görüntüsü.

Çizelge 4.1. FM belirtecine ait sonuçlar

GENOTİP	FOM DAYANIKLILIK (FOM-2 GENİ) MARKÖR MEVCUDİYETİ (564bç)
1. CU 129	?
2. CU 305	S
3. Y15 Isabelle	R
4. Y63	R
5. CU 269	S
6. T4 Hasanbey	?
7. Y9	R
8. Şıra F1	R
9. Serin F1	S
10. Balözü F1	R
11. Napolyon F1	?
12. Digital F1	?
13. Vcr-601 F1	R
14. Polidor F1	H
15. Dragon F1	H
16. Favori F1	H
17. Medetli F1	H
18. Galina F1	R
19. Topatan	H
20. Düvlek Kavunu	H
21. Musakka	R
22. Çilli	S
23. Beyaz Gönen	S
24. T6 Acur	S

*: H: heterozigot dayanıklı; R: homozigot dayanıklı; S: homozigot duyarlı

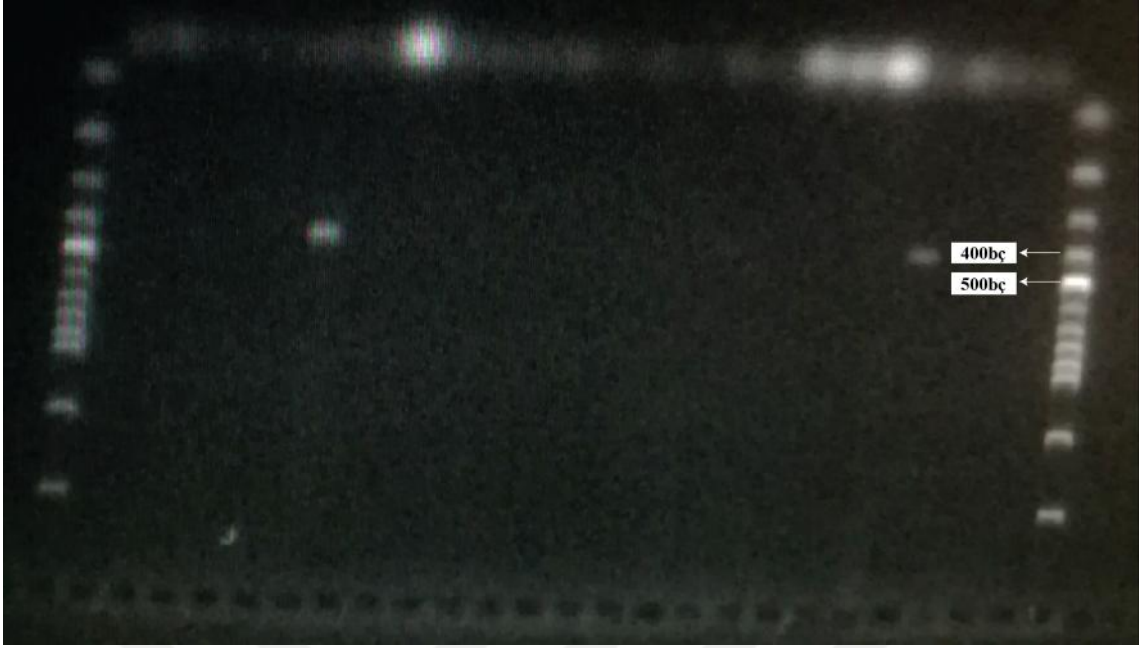
?: Bant elde edilmemiştir.

4.1.2. Fom2 R₄₀₈ ve Fom2 S₃₄₂ markörü

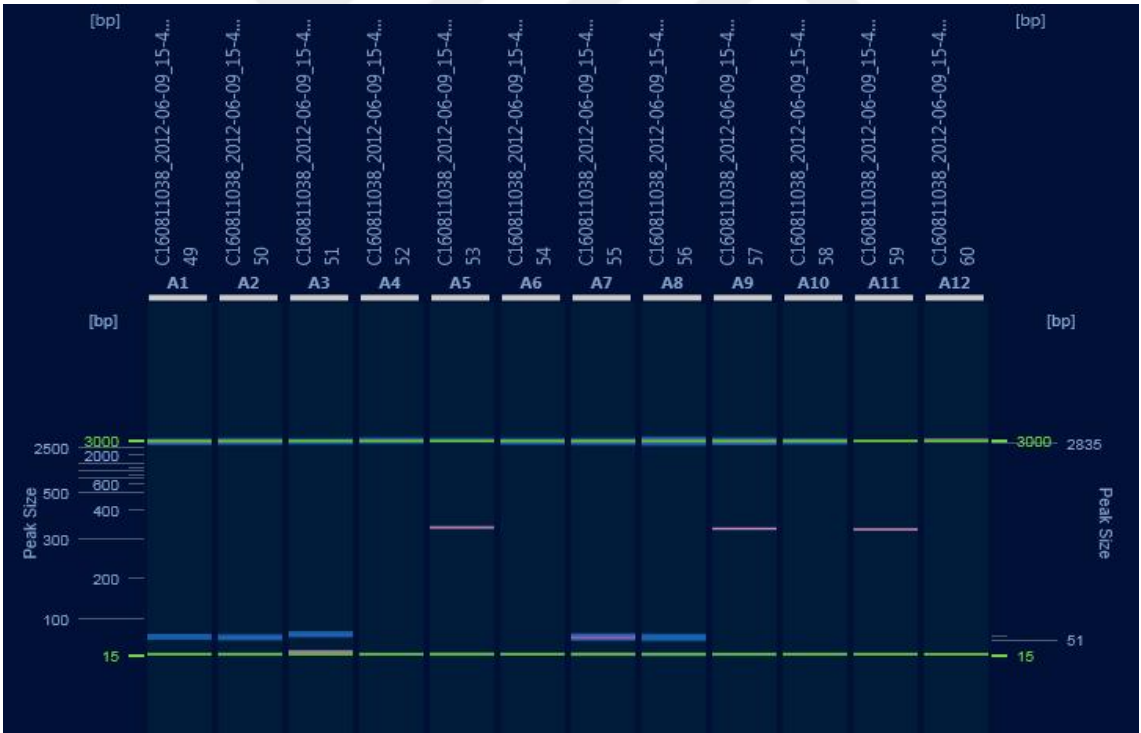
Fom2 R₄₀₈ ve Fom2 S₃₄₂ SCAR markörleri, *Fom-2* genine karşı dayanıklılık ve duyarlılık allelleri için geliştirilmiştir (Oumouloud ve ark., 2011). Geliştirilen bu markörler 24 kavun genotipi üzerinde analiz edilmiştir (Şekil 4.3-4.5, Çizelge 4.2-4.3). Bu markörlerin dayanıklılık bantı 408 bç, duyarlılık bantı ise 342 bç'dir. Dayanıklılık geni ile ilişkili olan bant, 11 F₁ ticari çeşitten herhangi birinde elde edilmezken, 13 yerel genotipten 2 adet dayanıklılık bantı elde edilmiştir. Duyarlılık geni ile ilişkili olan bant, 11 F₁ ticari çeşitten 5 adet duyarlılık bantı elde edilirken, 13 yerel çeşitten 4 adet duyarlılık bantı elde edilmiştir. Yerel çeşitlerden Musakka kavunu hem duyarlılık bantı hem de dayanıklılık bantı görüntüsü elde edilmiştir. Bundan dolayı ko-dominant özellik taşımış olup heterozigot bir genotip olduğu görülmüştür. Genotip özellikleri ile uyumlu olmayan durumlarda, markör ile dayanıklı gen arasında ilişkinin kesilmiş olabileceği varsayılmaktadır.

Oumouloud ve ark. (2011), yaptığı çalışmada dayanıklı ve duyarlı alleller olmak üzere iki SCAR (Fom2-R₄₀₈ ve Fom2-S₃₄₂ Fom2) markörü, geliştirilmiştir. Bu alleller çoklu PCR için kombine edildiğinde ko-dominant olarak kullanılabilmiştir. Fom2-R₄₀₈ markörü 27 kavun genotipinde içerisinde 13 dayanıklı bant elde edilirken, Fom2-S₃₄₂ Fom2 marköründe ise 17 duyarlı bant görüntüsü elde edilmiştir. Kavunda *Fom-2* geni için bu iki markörün maliyet etkinliği ve güvenilirliği açısından geliştirmesini ifade etmişlerdir.

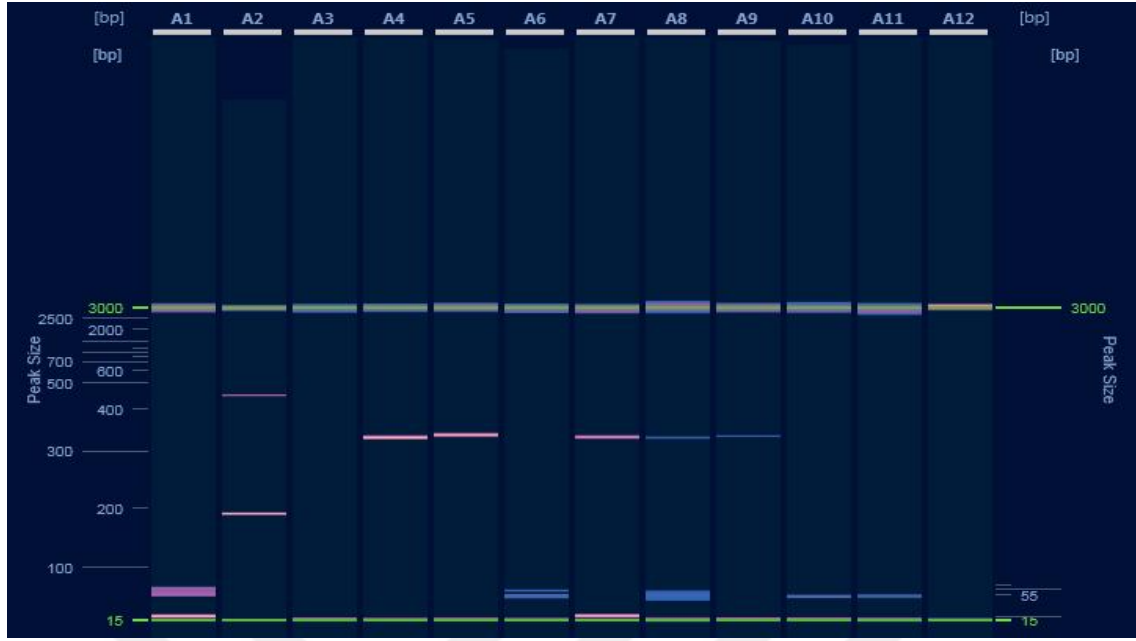
Sensoy 2005'te yaptığı çalışmada E07 RAPD belirteciyle kullanılan yerli genotip olan CU-269'da fusariuma duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Fom2-S₃₄₂ SCAR markörüne göre de duyarlı olduğu tespit edilmiş olup E07 RAPD belirtecine göre eşdeğerdedir. T4 Hasanbey genotipi fusariuma duyarlı iken, Fom2-R₄₀₈ SCAR markörüne göre dayanıklı olduğu görülmüştür. E07 RAPD belirtecine göre T6 Acur, Gönen Beyazı ve CU 269 yerli genotiplerde fusariuma duyarlı bant elde edilmiştir. SCAR Fom2-S₃₄₂ duyarlı marköründe T6 Acur, Gönen Beyazı'ndan bant elde edilmezken, CU 269 genotipinde duyarlı bant elde edilmiştir.



Şekil 4.3. Fom2 R₄₀₈ dayanıklı markör ile elde edilen 408 bç'de agaroz jelde bant görüntüsü.



Şekil 4.4. Fom2 S₃₄₂ duyarlı markör ile elde edilen 342 bç'de kapiller bant görüntüsü.



Şekil 4.5. Fom2 S₃₄₂ duyarlı markör ile elde edilen 342 bç'de kapiller bant görüntüsü.

Çizelge 4.2. Fom2 R₄₀₈ ve Fom2 S₃₄₂ belirteçlerine ait sonuçlar

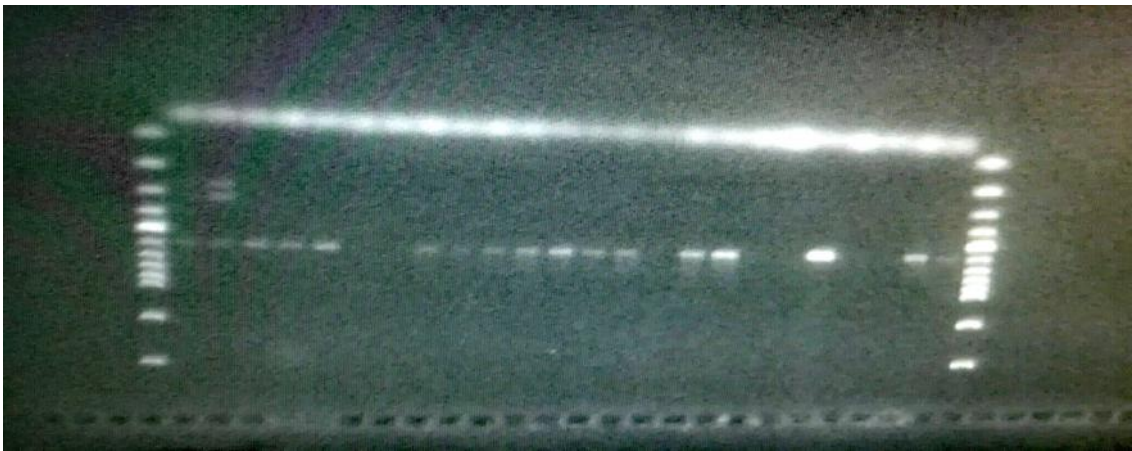
GENOTİP	FOM DAYANIKLILIK (FOM-2 GENİ) MARKÖRÜ (408bç)	FOM DUYARLILIK (FOM-2 GENİ) MARKÖRÜ (342bç)
1. CU 129	-	-
2. CU 305	-	-
3. Y15 İsabelle	-	-
4. Y63	-	-
5. CU 269	-	S
6. T4 Hasanbey	R	-
7. Y9	-	-
8. Şıra F ₁	-	-
9. Serin F ₁	-	S
10. Balözü F ₁	-	-
11. Napolyon F ₁	-	S
12. Dıgıtıl F ₁	-	-
13. VCR-601 F ₁	-	-
14. Polidor F ₁	-	S
15. Dragon F ₁	-	-
16. Favori F ₁	-	S
17. Medetli F ₁	-	S
18. Galina F ₁	-	-
19. Topatan	-	S
20. Dövlek Kavunu	-	S
21. Musakka	R	S
22. Çilli	-	-
23. Beyaz Gönen	-	-
24. T6 Acur	-	-

*R: homozigot dayanıklı; *S: homozigot duyarlı

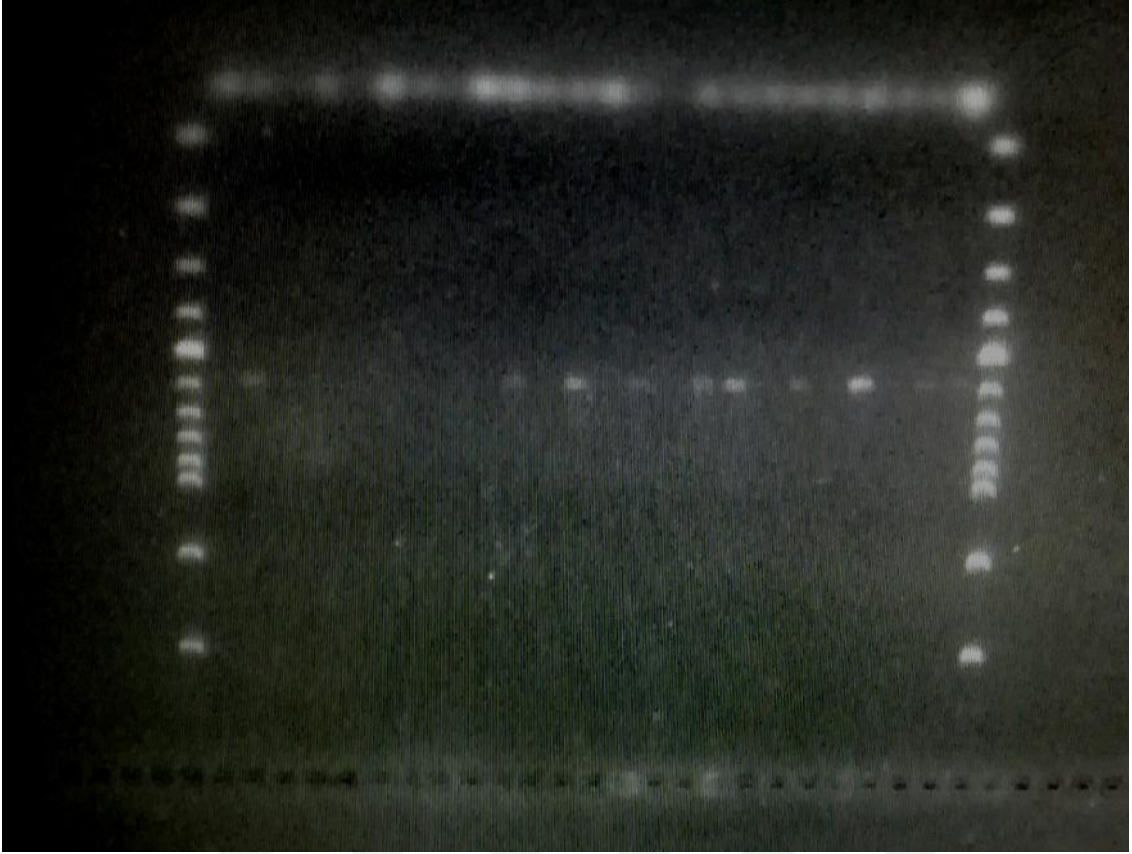
4.1.3. CAPS Fom1-R / Fom1-S markörü

Fom-1 dayanıklılık genine bağlı olarak geliştirilmiş olan Fom1-R / Fom1-S markörünün (Oumouloud ve ark., 2015), 24 kavun genotipi üzerinde taraması yapılmıştır. CAPS, Fom1-R / Fom1-S marköründe kesme enzim olarak dayanıklılık bantı eldesi için *Bsp*CNI ve duyarlılık bantı eldesi için *Bsp*HI enzimi kullanılmıştır (Şekil 4.6-4.7, Çizelge 4.3-4.4). Dirençli *Bsp*CNI enziminde kesme görülmeyp, sadece bant aralığı 568 bç'de 5 tane F_1 çeşitten ve 5 tane de yerel çeşitten sonuç alınırken, *Bsp*HI kesme enziminde bant aralıkları ise 262+306 bç ve 568 bç bant görüntüsü elde edilmiştir. *Bsp*HI kesme enzimiyle sadece 1 yerel çeşidin her üç bantı da verdiği belirlenmiştir. F_1 çeşitlerden, 9 adet 568 bç'de görüntü elde edilirken, yerel çeşitlerden 7 adet, görüntü elde edilmiştir.

Oumouloud ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada kavunun Fom ırk 2'ye olan direncinin moleküler ıslah için, markörlerin gelişimi ve *Fom-1* geninin moleküler karakterizasyonu çalışılmıştır. Bu çalışmada, araştırmacılar bu gen içinde dizayn edilen primerlerinin üçünü kullanarak birçok duyarlı ve dayanıklı kavun genotiplerinden *Fom-1'* in tam genomik sekansını üretmişler ve çoğaltmışlardır. *Fom-1* lokusunun kod bölgesi içerisinde tek nükleotidli polimorfizme dayalı olarak 2 CAPS markörü üretilmiştir. Fom-1R 182+386 bç ve 568 bç de bant aralığı vermiş ve Fom-1S CAPS markörü için 262+306 bç ve 568 bç bant aralığı vermiştir. Kavun ıslah programları için moleküler yardımcı seleksiyonda her iki CAPS markörünün açık bir şekilde kullanışlı olduğunu kanıtlanmıştır (Oumouloud ve ark., 2015).



Şekil 4.6. CAPS Fom1-R / Fom1-S (*Bsp*HI kesme enzimi) markörü ile elde edilen 262+306 bç ve 568 bç'nin agaroz jeldeki bant görüntüsü.



Şekil 4.7. CAPS Fom1-R / Fom1-S (*BspCNI* kesme enzimi) markörü ile elde edilen 568 bç'nin agaroz jeldeki bant görüntüsü.

Çizelge 4.3. CAPS Fom1-R / Fom1-S markörüne ait duyarlı ve dayanıklı kesme enzimiyle elde edilen sonuçlar

GENOTİP	FOM DUYARLILIK (FOM-1 GENİ) VE DUYARLILIK (BspCNI KESME ENZİMİ) MARKÖRÜ MEVCUDİYETİ (568 bç)	FOM DAYANIKLILIK (FOM-1 GENİ) VE DUYARLILIK (BSPHI KESME ENZİMİ) MARKÖRÜ MEVCUDİYETİ (262+306 ve 568 bç)
1. CU 129	-	+ (568 bç)
2. CU 305	+ (568bç)	H (262+306+568 bç)
3. Y15 İsabella	-	+ (568 bç)
4. Y63	-	+ (568 bç)
5. CU 269	-	+ (568 bç)
6. T4 Hasanbey	-	-
7. Y9	-	-
8. Şıra F1	-	+ (568 bç)
9. Serin F1	-	+ (568 bç)
10. Balözü F1	+ (568 bç)	+ (568 bç)
11. Napolyon F1	-	+ (568 bç)
12. Dıgıtıl F1	+ (568 bç)	+ (568 bç)
13. VCR-601 F1	-	+ (568 bç)
14. Polidor F1	+ (568 bç)	+ (568 bç)
15. Dragon F1	-	+ (568 bç)
16. Favori F1	+ (568 bç)	-
17. Medetli F1	+ (568 bç)	+ (568 bç)
18. Galina F1	-	+ (568 bç)
19. Topatan	+ (568 bç)	-
20. Dövlek Kavunu	-	+ (568 bç)
21. Musakka	+ (568 bç)	-
22. Çilli	-	-
23. Beyaz Gönen	+ (568 bç)	+ (568 bç)
24. T6 Acur	+ ((568 bç)	+ (568 bç)

*: H: heterozigot dayanıklı *: (+): bant mevcut (568 bç) * :(-): bant mevcut değil

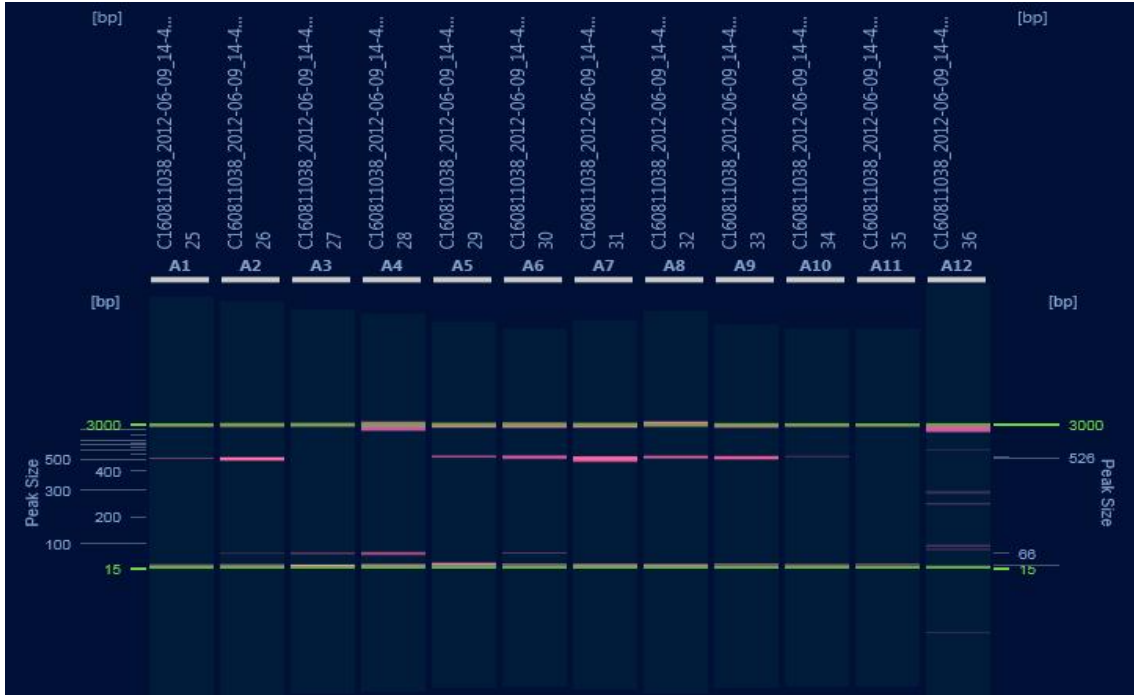
4.2. Hıyar Mozaik Virüsüne (CMV) Ait Markörün PCR Analiz Sonuçları

Bu çalışmada hıyar mozaik virüsüne karşı geliştirilmiş olan iki dominant SCAR markörü (SCAPB05₁₀₄₆ ve SCOPE14₅₄₁) (Weeden ve ark., 1992; Staub ve ark., 1996), 24 kavun genotipi üzerinde çalışılmıştır. SCAPB05₁₀₄₆ marköründen bant görüntüsü elde edilmezken, SCOPE14₅₄₁ marköründen sonuç alınabilmektedir.

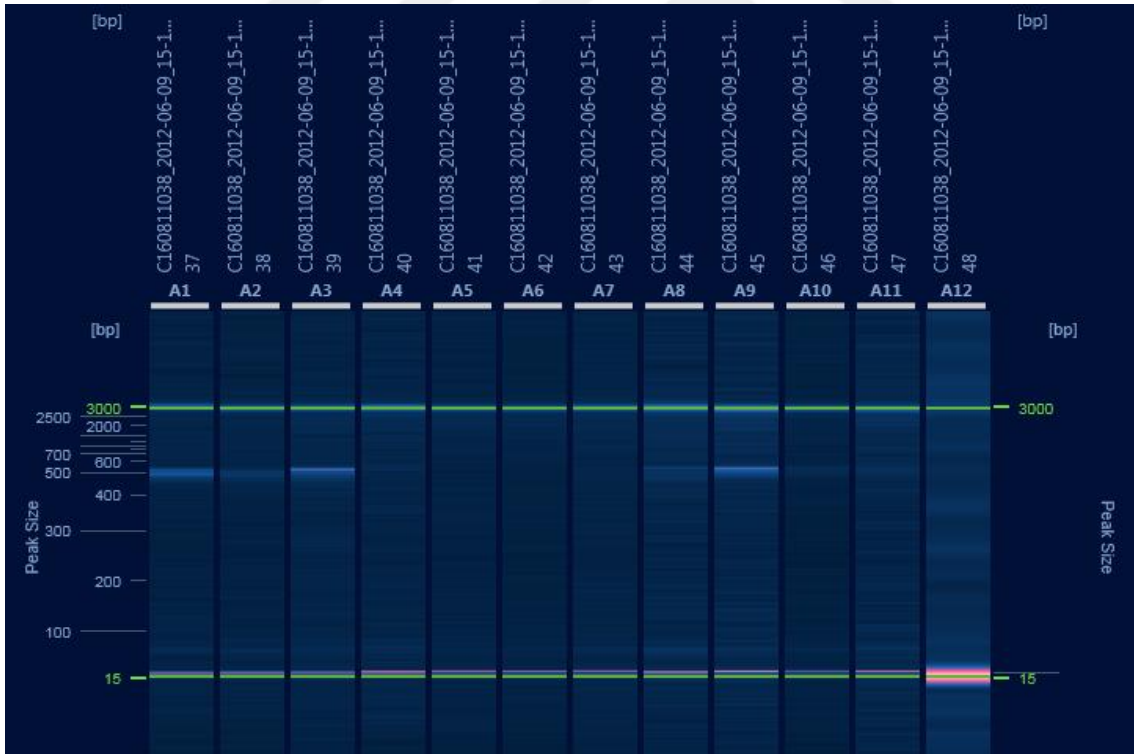
4.2.1. SCOPE14₅₄₁ markörü

CMV-B2 direnç genini tespit etmek için dizayn edilen (Weeden et al.1992; Staub et al.1996), dominant SCAR markörlerinin 24 kavun genotipinde etkinliği araştırılmıştır. APB-05'ten türetilen SCAPB05₁₀₄₆ marköründen bant elde edilmezken, OP-14'ten türetilen SCOPE14₅₄₁'te 11 F₁ çeşitten 7 adet, 13 yerel çeşitten de 8 adet bant görüntüsü elde edilmiştir (Şekil 4.8-4.9, Çizelge 4.4).

Kavunda *CMV-B2* direnç geni ile bağlantılı iki RAPD marköründen, kavunda *CMV-B2* direnç genini tespit etmek için SCAR markörleri dizayn edilmiştir ve Yamatouri çeşidinden klonlanmıştır. APB-05'ten türetilen SCAPB05 marköründen bir DNA bantı elde edilirken, OP-14'ten türetilen SCOPE14'te 16 bant vermiştir. Sonuç olarak SCAR analizlerinin sadece kavunlardaki etkinliği değil aynı zamanda RAPD markörleri tarafından gözlemlenen belirsiz direnç sonuçlarına da açıklık getirmiştir (Daryono ve ark., 2009).



Şekil 4.8. SCOPE14₅₄₁ Markörü ile elde edilen 541 bç'deki kapiller bant görüntüsü.



Şekil 4.9. SCOPE14₅₄₁ Markörü ile elde edilen 541 bç'deki kapiller bant görüntüsü.

Çizelge 4.4. SCOPE14₅₄₁ belirtecine ait sonuçlar

GENOTİP	CMV DAYANIKLILIK (CMV-B2 GENİ) MARKÖRÜ MEVCUDİYETİ
1. CU 129	+
2. CU 305	+
3. Y15 Isabelle	-
4. Y63	-
5. CU 269	+
6. T4 Hasanbey	+
7. Y9	+
8. Şıra F1	+
9. Serin F1	+
10. Balözü F1	+
11. Napolyon F1	-
12. Digital F1	+
13. VCR-601 F1	+
14. Polidor F1	+
15. Dragon F1	+
16. Favori F1	-
17. Medetli F1	-
18. Galina F1	-
19. Topatan	-
20. Düvlek Kavunu	+
21. Musakka	+
22. Çilli	+
23. Beyaz Gönen	-
24. T6 Acur	-

*: (+): bant mevcut * :(-): bant mevcut değil

4.3.1. Çalışmada kullanılan diğer belirteçlere ait bulgular

Cinsiyet belirlemede kullanılan T1, T1ex, M3a ve M3A SCAR markörleriyle EX1 C170I CAPS markörüyle herhangi bir sonuç elde edilememiştir. Fusarium solgunluğuna ait AM, CAPS2 ve CAPS3 markörlerinden de istenilen herhangi bir sonuç alınamamıştır. Küllemeye karşı geliştirilen CAPS; CAPSDde I markörünün kesme enzimiyle sonuç alınamadığı görülmüştür. Aynı zamanda CMV'ye dayalı geliştirilen dominant SCAPB15₁₀₄₆ dan da sonuç alınamadığı görülmüştür.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünyada, kavunda tek ve birden çok özelliği barındıran genler veya QTL'lerle ilgili moleküler belirteçler (markörler) geliştirilmeye devam edilmektedir. Moleküler belirteçler kavunda tarımsal açıdan birçok önemli özellik için genlerin ve QTL'lerin belirlenmesinde veya haritalanmasında moleküler yardımcı seleksiyon yöntemiyle kullanışlı ve faydalı olabilmektedir. Morfolojik ve biyokimyasal markörler yapılarından kaynaklanan dezavantajlarından dolayı günümüzde yerini ya moleküler markörlere bırakmaktadır ya da moleküler markörler ile birlikte karşılaştırılmalı çalışmalarda kullanılmaktadır. DNA esas alınarak yapılan teşhislerde gözlemlenen polimorfizm morfolojik ve biyokimyasal markör tekniklerinde gözlemlenenlere oranla daha yüksektir. Ayrıca moleküler yöntemlerde küçük bir miktar DNA yöntemin uygulanabilmesi için yeterli olmaktadır. Bununla birlikte, literatürde belirtilen tüm markörler kavun ıslah programlarında uygulanamamaktadır. Markörleri yeniden tanımlayabilmek, belirli ıslah hatlarında faydalılık, çoğaltılabilirlik, yeni polimorfik markörleri tanımlamak ve geliştirmek için genellikle ek çabalar gereklidir. Bu çalışmada, fusarium solgunluğu, hıyar mozaik virüsü, külleme ve cinsiyet belirleme için literatürlerde belirtilen geliştirilmiş olan markörler içinden 15 tanesi seçilmiştir. Seçilen CAPS ve SCAR markörleri 24 kavun genotipi üzerinde test edilmiştir.

Türkiye kavunlarındaki *Fusarium* solgunluğuna, hıyar mozaik virüsüne, külleme ve cinsiyet belirlemelerin moleküler yöntemlerle araştırılması amacıyla yapılan bu çalışmada aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

Fusarium solgunluğu için, FM, Fom2 R₄₀₈, Fom2 S₃₄₂, Fom-1R / Fom-1S markörleri 24 kavun genotipi üzerinde test edilerek sonuç alınmıştır. Bu sonuçlar Oumouloud ve ark. (2013; 2015)'nin çalışmaları ile Wang ve ark. (2000)'nin yaptığı çalışmalar sonucunda paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu markörlerin kavun ıslahında etkin bir şekilde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Fom2 R₄₀₈, Fom2 S₃₄₂ SCAR belirteçlerinde elde edilen sonuçlar 408 bç dayanıklılık bantı ve 342 bç duyarlı bant elde edilmiştir. Fom2 R₄₀₈, belirtecinde 2 yerli genotiplerde bant görüntüsü elde edilmiştir. 24 kavun genotip çeşidinde duyarlı genotip tespitinde 9'u başarılı olmuştur. Buna karşılık diğer genotiplerde *Fom-2* dayanıklılık genine daha uzakta oluşu bant elde edilememesinin olduğu düşünülmektedir. Bunun

yanında laboratuvar koşulları ve moleküler kimyasallardan da kaynaklanabildiği varsayılmaktadır.

Hıyar mozaik virüsü için test edilen SCAR SCOPE14₅₄₁ ve SCAPB05₁₀₄₆ markörü 24 kavun genotipi üzerinde tespit edilmiştir. SCOPE14₅₄₁ için sonuç alınmıştır. Bu sonuç Daryono ve ark. (2009), yaptığı çalışmayla paralellik göstermiştir ve klasik testlemeye alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Fom-1 genine bağlı olarak geliştirilmiş olan Fom1-R / Fom1-S markörü ise 24 kavun genotipi üzerinde taraması yapılmıştır (Oumouloud ve ark., 2015). CAPS, Fom1-R / Fom1-S marköründe kesme enzim olarak dayanıklılık bantı eldesi için *Bsp*CNI ve duyarlılık bantı eldesi için *Bsp*HI enzimi kullanılmıştır. Kesilme sadece duyarlılık bandında olmuştur. Duyarlı çeşit olan bant duyarlı olan kesme enzimiyle uyuşmakta olduğu görülmüştür. Duyarlı *Bsp*HI kesme enziminin güvenle kullanılabileceğini göstermiştir. *Bsp*HI enzim kesiminde bant aralıkları ise 262+306 bp ve 568 bp bant görüntüsü elde edilmiştir. Sadece bir duyarlı çeşitte kesme enzimi kesilmiştir.

Cinsiyet belirlemeyi sağlayan andromonoik ve monoik T1, T1ex, M3A, M3a SCAR markörleriyle EX1_C170T CAPS marköründen olumlu bir sonuç alınamamıştır. Belirteçler ile ilgili bantlar görülmemiş ve genotipler hakkında herhangi bir görüşe varılamamıştır. Külleme için; CAPS *Pm-2F* genini tanıyan CAPS marköründe de güvenilir sonuç alınamamıştır. Markörün bant aralığı görülmüş olup, kesme enzimiyle kesme işlemi gerçekleşmemiştir. Fom-2 genini tanıyan DNA belirteci olan CAPS2 ve CAPS3, CAPS markörlerinden de sonuç alınamamıştır.

Bunun yanı sıra elde edilen sonuçlar gen kaynaklarının korunmasında kolaylık sağlayacağı ve klasik ıslah yöntemlerine kaynak oluşturacağı düşünülmektedir. Türkiye'nin sahip olduğu zengin kavun popülasyonlarının günümüz biyoteknoloji imkanlarının modern kavun ıslahına katkı sağlaması ve kavunda ileride değişik hastalık ve zararlılara karşı reaksiyonların da önceden bilinmesi kavun ıslahına önemli katkılar sağlayacağı da düşünülmektedir.

Dayanıklılık ıslah programında en büyük zorluk ebeveynlerin (duyarlı ve dayanıklı bireyler) melezlenmeleri sonucu elde edilen dayanıklı bireylerin belirlenmesidir. Başta birden fazla gen olmak üzere, birkaç gen ve tek gen tarafından idare edilen dayanıklılık özelliklerini (karakterleri) normal şartlarda geleneksel ıslah yöntemleri ile belirlemek zaman almakta, fazla iş gücü gerektirmekte ve çok güç

olmaktadır. Bununla birlikte bir bitkiyi aynı anda birden fazla hastalık veya zararlı etmenle testlemek geleneksel yöntemlere göre hemen hemen imkansızdır. Bütün bu zorluklar moleküler markörlerin devreye girmesiyle üstesinden gelinebilmektedir (Ballvora ve ark., 1995; Bradshaw ve ark., 1998; Lu ve ark., 1999).

Kavun ıslah programlarında moleküler belirteç yardımcı seleksiyon amaçlı geliştirilmiş markörlerden sadece üçte birinde (5/15) etkin bir sonuç alınmıştır. Öte yandan kapiller elektroforezin agaroz jel elektroforezden daha etkin olduğu görülmektedir. Markörlerin seleksiyonda etkili olabileceği fakat markörlerin gene uzaklık durumunun, dikkate alınması; klasik hastalık testleme çalışmaları ile de testleme yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir. Kapiller yöntemin hem zamandan tasarruf hem de 1 µl örnekte bile güvenilir sonuç alınabilmesinin yanında yüzlerce örneği kısa bir zaman diliminde test edebilmesinden dolayı avantajları oldukça yüksektir.

Bu yüzden literatürde farklı populasyonlar kullanılarak elde edilmiş belirteçlerin ülkemiz populasyonlarında kullanılmasında sıkıntılar olabilecektir. Klasik hastalık bulaştırma yöntemlerinden yararlanılarak, kavun genotiplerinin dayanıklılıkları yapay inokulasyonla da hastalık belirlenmesi ve genotiplerin dayanıklılıkları tespit edilmesi önem arz edecektir. Elde edilecek MAS sonuçların klasik hastalık bulaştırma yöntemleri ile desteklenmesi faydalı olacaktır.

Entansif tarım uygulamaları yüzünden hastalık ve zararlı etkenleri sürekli kendilerini değiştirme kapasitesine sahiptirler. Bu yüzden hastalık ve zararlılara dayanıklılık sağlayan yeni gen kaynaklarının bulunması ve bunlarla ilişkili güvenilir ve etkin belirteçlerin ıslah programlarına gelecekte yoğun bir şekilde kazandırılması önem arz etmektedir.



KAYNAKLAR

- Abak, K., 2001. Melon growing in Turkey. **Proceedings of the 23rd Meeting**. 12-14 February. Frankfurt, Germany. 64-68.
- Agrios, G. N. 1997. Plant diseases caused by viruses. **In Plant Pathology**, 479-556.
- Akakaçar, Y., 2001. **Türkiye’de Yetiştirilen Önemli Kiraz (*Prunus avium* L.) ve Vişne (*Prunus cerasus* L.) Çeşit ve Tiplerinin DNA Parmakizi Yöntemi ile Sınıflandırılması**, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Doktora Tezi, 192s.
- Akashi, Y., Fukuda, N., Wako, T., Masuda, M., Kato, K., 2002. Genetic variation and phylogenetic relationships in East and South Asian melons, *Cucumis melo* L., based on the analysis of five isozymes. **Euphytica**. **125**:385-396
- Anonim, 2003. Dünya haberleri. www.dunyagazetesi.com.tr Erişim tarihi: 12.10. 2017.
- Anonim, 2006. Türk Standartları Enstitüsü <http://www.tse.org.tr/Turkish/Abone/Standardara.asp> Erişim tarihi: 21.08.2017
- Anonim, 2016 www.bitkisaqliqi.net Erişim tarihi: 09.11.2017
- Baker, B., P. Zambryski, B. Staskawicz S.P. Dinesh-Kumkar. 1997. **Signalling in plant-microbe interactions**. Science. **276**: 726-733.
- Ballvora, A., J. Hesselbach, J. Niewöhner, D. Leister, F. Salamini, C. Gebhardt.1995. Marker enrichment and high- resolution map of the segment of potato chromosome VII harbouring the nematode resistance gene Gro1. **Mol Gen. Genet**. **249**: 82-90.
- Bardin, M., Dogimont C, Nikot P, Pitrat M (1999). Genetic analysis of resistance of melon line PI 124112 to *Sphaerotheca fuliginea* and *Erysiphe cichoracearum*, studied in recombinant inbred lines. **Acta Hort** **492**: 163-168.
- Blancard, D., 1988. Maladies de la tomate: observer, identifier, lutter. Rev Hort INRA.
- Bradshaw, J.E., C.A. Hackett, R.C. Meyer, D. Milbourne, J.W.McNicol, M.S. Philips, R. Waugh. 1998. Identification of AFLP and SSR markers associated with quantitative resistance to *Globodera pallida* (Stone) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*) with a view to marker-assisted selection. **Theor. Appl. Genet**. **97**: 202-210.

- Bremer, H., 1944. **Über Welkekrankheiten øn Südwest Anatolien.** Istanbuler Schriften 18., 40 Pp.
- Brotman Y, Kovalski I, Dogimont C, Pitrat M, Portnoy V, Perl-Treves R (2005) Molecular markers linked to papaya ring spot virus resistance and Fusarium race 2 resistance in melon. **Theor. Appl. Genet.** 110:337–345
- Botstein D., 1980. White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **Am J Hum Genet.** 32: 314–331.
- Chiba, N., K. Suwabe, T. Nunome, M. Hirai. 2003. Development of microsatellite markers in Melon (*Cucumis melo* L.) and their application to major Cucurbit crops. **Breeding Science** 53: 21-27.
- Collard, B. C., Mackill, D. J. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, 363(1491): 557-572.
- Danin-Poleg, Y., Reis, N., Tzuri, G., Katzir, N., 2001. Development and characterization of microsatellite markers in *Cucumis*. **Theor. Appl. Genet.**, 102:61-72.
- Daryono B.S, K.W, Natsuaki KT. 2009. Development of Random Amplified Polymorphism DNA Markers Linked to CMV-B2 Resistance Gene In Melon. **Journal of Biosciences.**, 142-146.
- Dhillon, N.P.S., Ranjana, R., Singh, K., Eduardo, I., Monforte, A.J., Pitrat, M., Dhillon, N.K., Singh, P.P., 2007. Diversity among landraces of Indian snapmelon (*Cucumis melo* var. *momordica*). **Genetic Resources and Crop Evolution**, 54(6): 1267-1283.
- Doyle JJ, Doyle JL., 1987. A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissues. **Phytochem. Bull.** 19: 11-15.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L. (1990). A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. **Focus**, 12:13-15.
- Erdinç, Ç., Ekincialp, A., Yıldız, M., Kabay, T., Türkmen, Ö. ve Şensoy, S., 2013, Molecular genetic diversity in Lake Van basin melons (*Cucumis melo* L.) based on RAPD and ISSR markers, **YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi**, 23 (3), 264-270.

- Escribano, S., Lazaro, A. 2009. Agro-morphological diversity of Spanish traditional melons (*Cucumis melo* L.) of the Madrid provenance. **Genet. Resour. Crop Evol.** **56**: 481-497.
- FAO, 2014. Statistic database. <http://faostat.fao.org/>. Erişim tarihi: 04.05.2017
- Feys, B.J. J.E. Parker. 2000. Interplay of signaling pathways in plant disease resistance. **TIG.** **16**:449-455.
- Francki, RIB , Mossop D W, Hatta T (1979). Cucumber mosaic virus. **Descriptions of Plant Viruses**, No. 213 (No. 1 revised). Commonwealth Mycological Institute, Association of Applied Biologists, Kew, Surrey, England.
- Ford-Loyd,b.v.,2001. Genotyping in plant genetic reso in plant.Genotyping :**The DNA Finger Printing of Plants (ed.Rj.Henry),pp.**59-62 CAB International,UK.
- Garcia-Mas, J., Oliver, M., Gomez, H., De Vicente, M. C., (2000). Comparing AFLP, RAPD and RFLP markers for measuring genetic diversity in melon. **Theor.Appl. Genet.**, **101**: 860-864.
- Gülşen, O. ve Mutlu, N., 2005. Bitki biliminde kullanılan genetik markırlar ve kullanım alanları. **Alatarım** **4**(2): 27–37.
- Günay, A., 1975. Kantalop kavunun gen merkezi ve Türkiye’de yetiştirilen kantolop kavun çeşitleri üzerine araştırmalar. **TÜBİTAK. V. Bilim Kongresi.** Ankara
- Grube, R.C. Radwanski, E. R., Jahn, M. 2000. Comparative genetics of disease resistance within the *Solanaceae*. **Genetics**, **155**(2): 873-887.
- Hosoya, K. Narisawa K, Pitrat M, Ezura H (1999). Race identification in powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) on melon (*Cucumis melo*) in Japan. **Plant Breed** **118**(3):259-262.
- Jacobson, D. J., T. R. Gordon. Variability of mitochondrial DNA as an indicator of relationships between populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melonis*. **Mycological Research** **94.6** (1990): 734-744.
- Jiang, G., Qu, W., Cruz, Y., Chang, C. J., Ho, G. Y., Klein, R. S., Burk, R. D. (1997). PCR detection of human papillomavirus: comparison between MY09/MY11 and GP5+/GP6+ primer systems. **Journal of clinical microbiology**, **35**(6), 1304-1310.

- Joobeur, T., King, J.J., Nolin, S.J., Thomas, C.E., Dean, R. A. (2004). The *Fusarium* wilt resistance locus Fom-2 of melon contains a single resistance gene with complex features. ***The Plant Journal***, **39**: 283-297
- Kaper J.M. Waterworth H.E. 1981. ***Cucumoviruses in Handbook of Plant Virus Infectious and Comparative Diagnosis*** (Kurtsak. E., ed.), Biomedical, North Holland, 258-332
- Katzir, N., Danin-Poleg, Y., Tzuri, G., Karchi, Z. Lavi, U., Cregon, P.B., 1996. Length polymorphism and homologies of microsatellites in several Cucurbitaceae species. ***Theor. Appl. Genet.***, **93**:1282-1290
- Kearney, C. M., Gonsalves, D., Provvidenti, R., 1990. A severe strain of cucumber mosaic virus from china and associated satellite RNA. ***Plant Disease***, **74**:819-823.
- Kim., J.O., Bichseam K., Eung K.C., Un S.H., Jack E. S, Sang-Min C, Younghoon P., 2015. The *CmACS-7* Gene provides sequence variation for development of DNA markers associated with monoecious sex expression in melon (*Cucumis Melo* L.). ***Biotechnol*** **56**(4) :535-545.
- Kumar, P., Gupta, V. K., Misra, A. K., Modi, D. R., Pandey, B. K. 2009. Potential of molecular markers in plant biotechnology. ***Plant Omics***, **2**(4): 141.
- Křístková, E., A. Lebeda, A. Sedláková B (2007). Temporal and spatial Dynamics of powdery mildew species on cucurbits in the Czech Republic. ***Acta Horti*** **731**:337.
- Lin, H.Y., Chen, S.K., Liou, D.T., Huang, W.J., Chang, L.F.P., 2009. Development of a Molecular Method for Rapid Differentiation of Watermelon Lines Resistant to *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*. ***Botanical Studies***, **50**: 273-280.
- Liu BH.1998. ***Statistical Genomics: Linkage, Mapping, and QTL Analysis***. CRC Press LLC, Boca Raton New York.
- López-Sesé, A.I., J. Staub, N. Katzir, M.L. Gómez-Guillamón. 2002. Estimation of between and within accession variation in selected Spanish melon germplasm using RAPD and SSR markers to assess strategies for large collection evaluation. ***Euphytica*** **127**: 41-51.
- Lorenz, O.A., Maynard DN., (1988). ***Knott's Handbook for Vegetable Growers***. Sons JW. USA 456.

- Lotti, C., Marcotrigiano, A. R., De Giovanni, C., Resta, P., Ricciardi, A., Zonno, V., Famizza, G., Ricciardi, L., 2008. Univariate and multivariate analysis performed on bio-agronomical traits of *Cucumis melo* L. germplasm. **Genet. Resour. Crop Evol.** **55**(4): 511-522.
- Lu, Z.-X., K. Sossey-Alaoui, G.L. Reighard, Wm.V. Baird, A.G. Abbott. 1999. Development and characterization of a codominant marker linked to root-knot nematode resistance, and its application to peach rootstock breeding. **Theor. Appl. Genet.** **99**:115-122
- Martyn, R.D., Gordon, T.R., 1996. **Fusarium Wilt of Melon**. Pp. 14-15. In: Zitter, T.A., Hopkins, D.L. and Thomas, C.D., Eds. Compendium of cucurbit Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN, USA.
- McCreight JD, Nerson H, Grumet R: Melon *Cucumis melo* L. In: Kalloo G, Berch BO (Eds.) **Genetic Improvement of Vegetable Crops**, pp. 267–294. Pergamon Press, Oxford (1993).
- McCreight, James D. 2006. Melon-powdery mildew interactions reveal variation in melon cultigens and *Podosphaera xanthii* races 1 and 2. **Journal of the American Society for Horticultural Science** **131** (1): 59-65.
- Meglic, V., Staub, J.E., 1996. Inheritance and linkage relationships of isozyme and morphological loci in cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Theor. Appl. Genet.**, **92**: 865-872
- Monforte, A. J., J. Garcia-Mas, P. Arús. 2003. *Genetic variability in melon based on microsatellite variation*. **Plant Breeding** **122.2** 153-157.
- Nakata, E., Staub, J.E., Lopez-Sese, A.I., Katzir, N., 2005. Genetic Diversity of Japanese Melon Cultivars (*Cucumis melo* L.) as Assessed By Random Amplified Polymorphic DNA and Simple Sequence Repeat Markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **52**: 405–419.
- Noguera, J. Capel., J.I. Alvarez R. Lozano (2005). Development and mapping of a codominant SCAR marker linked to the *andromonoecious* gene of melon. **Theor. Appl. Genet.**, **110**: 714-720
- Onus, A.N., 1999a. *Capsicum*'da bazı marker genler arasında linkage çalışmaları. **Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi**. 14-7 Eylül. Ankara: 474-477.

- Onus, A.N., 1999b. Üç farklı Capsicum türünün (C. Annum, C. Chacoense, C. Baccatum) izoenzim markerleri ile tanımlanması. **Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi**. 14-17 Eylül. Ankara. 454-455.
- Oumouloud, A., Arnedo-Andres, M.S., Gonzalez-Torres, R., Alvarez, J.M. 2008. Development of molecular markers linked to the *Fom-1* locus for resistance to Fusarium race 2 in melon. **Euphytica**, **164**:347-356.
- Oumouloud, A., M. Mokhtari, H. Chikh-Rouhou., M.S. Arnedo-Andres., R. Gonzalez-Torres. JM Alvarez 2011. **Mol Breeding** 2012 30:325-334
- Oumouloud, A., M. El. Otmani, J.M Alvarez 2015. Molecular characterization of *Fom1* gene and development of functional markers for molecular breeding of resistance to Fusarium race 2 in melon. **Euphytica**, **491**-501.
- Özgen, S., Sekerci S. ve Korkut R. 2014. Honeydew yetiştiriciliğinde organik ve inorganik gübre kaynaklarının fitokimyasal değişimler üzerine etkisi. **Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 31 (1), 104-110.
- Özcan, S ., Babaoğlu, M., Sancak, C, 2001, **Bitki Biyoteknolojisi I Doku Kültürü ve Uygulamaları**, Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S., S.Ü. Vakfı Yayınları, Konya, 71-88.
- Palukaitis P., Rossinck M.J., Dietzgen R.G. Francki R.I.B. 1992. Cucumber mosaic virus. **Advances in Virus Research**, **41**: 281-348.
- Pınar, H., Atilla, A., Keleş, D., Mutlu, N., Denli, N., Mustafa, Ü. 2013. Domates hatlarında *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*'ye dayanıklılığın moleküler markörler yardımıyla belirlenmesi. **Derim**, **30**(1): 15-23.
- Pitrat M, (2012). Domestication and diversification of melon. **Proceeding of the Xth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae**. Antalya, Turkey. October: 31-9
- Rajapakse, S., 2003. Progress in Application of Molecular Markers to Genetic Improvement of Horticultural Crops. **Acta.Hort.**, 625. 29-35.
- Robinson RW, Decker-Walters DS, 1997. **Cucurbits**. CAB International.
- Roberts, P.A. 2002. Concept and Consequences of Resistance in Plant Resistance to Parasitic Nematodes (e.ds J.L. Starr, R. Cook and J. Bridge). CAB International Pub.UK.

- Sarı, N., 1994. **Karpuzda Işınlanmış Polen Uyartımıyla Haploid Bitki Eldesi Üzerine Genotipin ve Mevsimin Etkisi ile Işınlama Yerine Geçebilecek Uygulamalar Üzerinde Araştırmalar**. Doktora Tezi, Ç. Ü. Fen Bil. Ens., Adana, 242 s.
- Sarı N, Solmaz İ, (2007). Fruit Characterization of Some Turkish melon genotypes. **3 rd Int. Cucurbit Symposium**. Townsville Australia. 731: 103-7.
- Silberstein, L., Kovalski, I., Huang, R., Anagnostou, K., Jahn, M. M. K., Perl-Treves, R. (1999). Molecular variation in melon (*Cucumis melo* L.) as revealed by RFLP and RAPD markers. **Scientia Horticulturae**, 79(1), 101-111.
- Sönmezoğlu, Ö. A., Yıldırım, A., Güleç, T. E., Kandemir, N. 2010. Markör destekli Seleksiyonun buğday ıslahında kullanımı. **Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 27(1): 105-112.
- Staskawicz, B., F.M. Ausubel, B.J. Baker, J.G. Ellis J.D.G. Jones. 1995. Molecular genetics of plant disease resistance. **Science** 268:661-667
- Staub JE, Serquen FC, Gubta M, 1996. Genetic Markers, Map Construction, and Their Application in Plant Breeding. **HortScience** 31: 729- 740
- Staub, J., Poleg, Y., Fazio, G., Horejsi, T., Reis, N. ve Katzir, N. 2000. Comparative analysis of cultivated melon groups (*Cucumis melo* L.) using random amplified polymorphic DNA and simple sequence repeat markers. **Euphytica** 115: 225–241, 2000
- Staub, J., Lopez-Sese, A., Fanourakis N. 2003. Diversity among melon landraces (*Cucumis melo* L.) from Greece and their genetic relationships with other melon germplasm of diverse origins. **Euphytica** 136 : 151-166, 200
- Szamosi C, Solmaz S, Sari S, Barsony C, 2010. Morphological evaluation and comparison of Hungarian and Turkish melon (*Cucumis melo* L.) germplasm. **Scientia Horticulturae**, 124(2), 170-182.
- Şensoy, S. **Türkiye Kavunlarındaki Genetik Varyasyonun ve Fusarium Solgunluğuna Dayanıklılığın Fenotipik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması**. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi 164 (2005).
- Sensoy, S., Büyükalaca, S. Abak, K. 2007. Evaluation of genetic diversity in Turkish melons (*Cucumis melo* L.) based on phenotypic characters and RAPD markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 54(6), 1351-136

- Tanksley, S. D., Young, N. D., Paterson, A. H., Bonierbale, M. W. 1989. RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science. ***Nature Biotechnology***,7(3), 257-264.
- TÜİK, 2016. Türkiye istatistik kurumu. Bitkisel üretim istatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/>. Erişim tarihi: 10.07.2017.
- Türkmen Ö, Sensoy S, Demir S, Yıldız M, (2005). Van Gölü Havzası'nda yerel kavun popülasyonlarının ıslahı ve seçilen tiplerin ticari çeşitlerle karşılaştırılması. ***TÜBİTAK Projesi***, 1-51.
- Ünlü., M, R.Kurum., İ.Polat., A.Ünlü ve G.Sülü 2014. Kavun ıslah programında geliştirilen aday hibritlerin *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*'e moleküler olarak dayanıklılık durumlarının tespiti ve verim değerlerinin belirlenmesi. 1-10.
- Üstün, A.; Smith, R. L.; Gülümser, A. 1996. Moleküler markörler ve bitki ıslahında kullanımları. ***Om Ü. Zf Dergisi***, 11(2): 249-263.
- Van Der Biezen, E. A., Jones, J. D. (1998). Plant disease-resistance proteins and the gene-for-gene concept. ***Trends in biochemical sciences***, 23(12), 454-456.
- Vardar-Kanlıtepe, Ç., Aras, S., Cansaran-Duman, D. 2010. Bitki ıslahında moleküler belirteçlerin kullanımı ve gen aktarımı. ***Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi***, 67(1): 33-34
- Vural, H., Eşiyok, D. Duman, İ. (2000) ***Kültür sebzeleri (Sebze Yetiştirme)***. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Bornova-İzmir, 440.
- Wang YH, Thomas CE, Dean RA (2000) **Genetic mapping of a Fusarium wilt resistance gene Fom-2 in melon (*Cucumis melo* L.)**. ***Mol Breed*** 6:379–389
Üniversitesi Basım Evi, Bornova, İzmir.
- Wang, SW.,J.Yang, M. Zhang., 2010. Developments of functional markers for Fom-2-mediated fusarium wilt resistance based on single nucleotide polymorphism in melon (*Cucumis melo* L.) ***Mol Breeding*** (2011) 27:385-395
- Weeden, N. F., Muehlbauer, F. J., Ladizinsky, G. (1992). Extensive conservation of linkage relationships between pea and lentil genetic maps. ***Journal of Heredity***, 83(2), 123-129.
- Weber JL, May PE 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. ***Am J Hum Genet.*** 44: 388–396

- Wien, H.C., 1997. The Cucurbits: Cucumber, Melon, Squash and Pumpkin (H.C. Wien). ***The Physiology of Vegetable Crops***. CAB International, Wallingford, Oxon, 9: 345-386.
- Yıldırım, A., Kandemir, N. 2001. Genetik markörler ve analiz metodları. Özcan, S. Gürel, E., Babaoğlu, M. **Bitki Biyoteknolojisi II. Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları. Selçuk Üniv. Vakıf Yayınları**, 112-159.
- Yıldız, M., Akgul, N. ve Sensoy, S., 2014, Morphological and molecular characterization of Turkish Landraces of Cucumis melo L., ***Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42 (1)**, 51-58
- Yılmaz, M.A., Kaska, N., Gezerel, O., ve Çınar, A., 1979. ***Turfanda Domateslerde Ekim ve Dikim Zamanlarının Virüs Hastalıklarına Etkisi***. Tübitak Proje No. 11.
- Yılmaz, M.A., Davis R.F., 1984. Purification and Particle Morphology of TMV, CMV and ZYMV Isolated from Various Cultivated Crops Grown along the Mediterranean Coast of Turkey. J. ***Turkish Phytopathology*, 13**, 20-28.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E., Erkoyuncu, M. T. (2015). Moleküler markörlerin bitki ıslahında kullanımı. ***Journal of Bahri Dagdas Crop Research*, 4(2)**, 1-12.
- Zhang, C., Ren Y., Guo S., Zhang H., Gong G., Du Y., Y.Xu 2012. Application of comparative in developing markers tightly linked to the *Pm-2F* gene for powdery mildew resistance in melon (*Cucumis melo* L.) ***Euphytica* 190**:157-168
- Zitter, T.A.,1999. Fusarium Wilt of melon, a Worldwide Problem in temperate and tropical regions. ***Acta Horticulturae* 492**:157-160
- Zitter, T. A., Murphy, J. F. (2009). Cucumber mosaic. ***The Plant Health Instructor***. DOI: 10.1094. PHI-I-2009-0518-01.



ÖZGEÇMİŞ

Mürşide Hatipoğlu, 1991 yılında Van'da doğdu. İlköğretim ve lise öğrenimini Van'da tamamladı. 2010 yılında girdiği Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölüm'ünden bölüm ikincisi ve fakülte üçüncüsü olarak 2014 yılında Ziraat Mühendisi unvanıyla mezun oldu. 2013'te Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (BATEM)'de staj yaptı. 2014 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı.