

**ÜLKEMİZDE YETİŞTİRİLEN FARKLI
ÇEKİRDEKLİK KABAK
POPULASYONLARININ BAZI TANE
ÖZELLİKLERİNİN SAPTANMASI VE RAPD
YÖNTEMİ İLE GENETİK İLİŞKİLERİNİN
BELİRLENMESİ**

**Selen ŞEKER
Yüksek Lisans Tezi
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Levent ARIN
2012**

T.C
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÜLKEMİZDE YETİŞTİRİLEN FARKLI ÇEKİRDEKLİK KABAK
POPULASYONLARININ BAZI TANE ÖZELLİKLERİNİN SAPTANMASI
VE RAPD YÖNTEMİ İLE GENETİK İLİŞKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Selen ŞEKER

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: PROF. DR. LEVENT ARIN

TEKİRDAĞ – 2012

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Levent ARIN danışmanlığında, Selen ŞEKER tarafından hazırlanan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye: Prof. Dr. Levent ARIN

İmza:

Üye: Doç. Dr. Metin TUNA

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Serdar POLAT

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÜLKEMİZDE YETİŞTİRİLEN FARKLI ÇEKİRDEKLİK KABAK POPULASYONLARININ BAZI TANE ÖZELLİKLERİNİN SAPTANMASI VE RAPD YÖNTEMİ İLE GENETİK İLİŞKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Selen ŞEKER

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Levent ARIN

Bu çalışmada ülkemizde üretilen, *Cucurbita pepo* türüne ait 10 adet çekirdeklik kabak çekirdeği genotipinin kalite özellikleri incelenmiş, genotipler arasındaki farklılığı belirlemek amacıyla da moleküler karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Çalışmada kullanılan genotipler çerezlik olarak üretileceğinden 1000 tane ağırlığı, tohum büyüklüğü, kabuk kalınlığı ve kabuk/iç oranı özelliklerinin yanı sıra, raf ömrü, tadı ve aromasına etki eden faktörlerden yağ tayini, yağ asitleri tayini, protein tayini ve mineral tayini analizleri yapılmıştır. Yapılan kalite analizleri neticesinde genotipler arasında farklılık ve benzerlik olduğu saptanmıştır. Çalışmaların moleküler kısmında ise 8 adet RAPD primeri kullanılarak 38 adet bant elde edilmiş, bunlardan 18 adedi monomorfik, 20 adedi ise polimorfik (%52.63) bulunmuştur. RAPD analizlerinde kabak çekirdekleri arasındaki benzerlik katsayısının 0.70 ile 0.97 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda, genotipler arasındaki genetik uzaklıkların kalite unsurları üzerine etkisi araştırılmıştır.

Anahtar kelimeler: Kabak çekirdeği, moleküler karakterizasyon, RAPD, DNA markır

2012 , 75 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

THE DETERMINING OF SOME GRAIN PROPERTIES OF SEVERAL PUMPKIN GENOTIYPES WHICH IS GROWN IN TURKEY AND THEIR GENETIC RELATIONSHIPS WITH RAPD METHOD

Selen ŞEKER

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Main Science Division of Horticulture

Supervisor : Prof. Dr. Levent ARIN

In this research, it was investigated the quality properties of the 10 crusty appetizers pumpkin seeds' genotypes that is belong to Cucurbita pepo and molecular characterization was done to determine the difference among genotypes. Due to the fact that pumpkin seeds will be used as appetizers, the weight of 1000 seeds, the size of the seed, the thickness of the hull and hull/inner ratio are considered as well as shelf life, oil amount from the factors that effect the taste and aroma, fatty, protein and mineral amounts was analyzed. Differences and similarities were determined among the genotypes according to these analysis. In the RAPD study, 38 bands were obtained by using 8 RAPD primers, 18 of these were found monomorphic and 20 of these were found polymorphic (%52.63). In the RAPD analysis the genetic similarity coefficients varied between 0.70 and 0.97. As a result of the research, genetic distances among genotypes investigated on the quality characteristics.

Keywords : Pumpkin seed, molecular characterization, RAPD, DNA marker

2012 , 75 page

TEŞEKKÜR

Öncelikle, yüksek lisans tezimin her aşamasında değerli bilgi ve önerileri ile yol gösteren, yardım ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danışmanım sayın Prof. Dr. Levent ARIN'a sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışması kapsamında moleküler genetik konusunda her türlü desteği veren, değerli bilgi ve tecrübeleriyle daima destek olan jüri üyelerinden sayın Doç. Dr. Metin TUNA'ya saygı ve teşekkürlerimi borç bilirim.

Tez çalışmamın her aşamasında değerli katkılarıyla beni yönlendiren hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Serdar POLAT'a teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmanın materyal toplama kısmındaki yardımlarından dolayı Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü yetkililerine teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak da eğitimimin her aşamasında maddi ve manevi desteği hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli aileme sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
2.1 Markır Tipleri.....	6
2.2 Moleküler Çalışmalarda Kullanılan Teknikler.....	10
2.3 DNA Dizisinin Belirlenmesi.....	13
2.4. Kabakgil Türlerinde Moleküler Düzeyde Yapılan Çalışmalar.....	16
2.5 Kabak Çekirdeğinin Kalite Özellikleri.....	24
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	30
3.1 Materyal.....	30
3.2 Yöntem.....	30
3.2.1 Kalite özelliklerinin karakterizasyonunda kullanılacak metotlar.....	30
3.2.1.1 Kabak çekirdeklerinde fiziksel özelliklerin tespiti.....	31
3.2.1.2 Kabak çekirdeklerinde kimyasal özelliklerin tespiti.....	31
3.2.2 RAPD markırları ile moleküler karakterizasyonda kullanılan metotlar.....	32
3.2.2.1 Bitkisel materyalin sağlanması.....	33
3.2.2.2 DNA izolasyonu	34
3.2.2.3 DNA konsantrasyonunun belirlenmesi.....	35
3.2.2.4 Polimeraz zincir reaksiyonu.....	36
3.2.2.5 DNA'nın jel üzerinde yürütülmesi.....	37
3.2.2.6 Agaroz jel elektroforezi.....	38
3.2.2.7 Sonuçların değerlendirilmesi.....	39
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	40
4.1. Fiziksel Özelliklere Ait Bulgular.....	40
4.2 Kimyasal Özelliklere Ait Bulgular.....	46
4.3 Moleküler Karakterizasyona Ait Bulgular.....	55
5. SONUÇ ve TARTIŞMA.....	66

KAYNAKLAR	70
------------------------	----

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism

cDNA : Complementary deoxyribonucleic acid

CTAB: cetyltrimethylammoniumbromide

dATP : deoxy adenosine trifosfat

dGTP : deoxy guanosine trifosfat

dTTP : deoxy thymine trifosfat

dk : dakika

DNA : Deoxyribonucleic acid

EDTA : Ethilenediaminetetraacetikasit

gr : Gram

ISSR : inter-simple sequence repeat

Kg : Kilogram

MgCl₂ : Magnezyumklorür

mg : miligram

ml : mililitre

mm : milimetre

NaCl : Sodyum Klorür

PCR : Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

RAPD : Randomly Amplified Polymorphic DNA

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

SSR : Simple Sequence Repeat

SCAR : Sequence-Characterized Amplified Regions

SRAP : Sequence Related Amplified Polymorphism

Taq : *Thermus aquaticus*

TAE : Tris (acetate) EDTA (buffer)

TBE : Tris (borate) EDTA (buffer)

TBS : Toplam bant sayısı

TE : Tris EDTA (buffer)

Tris : tris (hydroxymethyl) aminomethane

UPGMA: Unweighted pair-group method analysis

µl : mikrolitre

% : Yüzde

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Bitkilerin fide dönemindeki görünüşleri.....	33
Şekil 3.2. DNA izolasyonu.....	35
Şekil 3.3 Çalışmada kullanılan PCR cihazı.....	39
Şekil 3.4. Jel Elektroforezi.....	38
Şekil 4.1. Kabak çekirdeği genotiplerinde RAPD tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen soyağacı.....	57
Şekil 4.2. Primer OPC 4.....	58
Şekil 4.3. Primer OPC 5.....	59
Şekil 4.4 Primer OPC 6	60
Şekil 4.5. Primer OPC 7.....	61
Şekil 4.6 Primer OPC 8.....	62
Şekil 4.7. Primer OPC 9.....	63
Şekil 4.8. Primer OPC 15.....	64
Şekil 4.9. Primer OPC 1.....	65

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Kabak çekirdeğinin besin içeriği ve günlük ihtiyacı karşılama oranları.....	25
Çizelge 2.2. Kabak çekirdeğinin besin içeriklerinin bazı tohum ve çerezlerle karşılaştırılması.....	25
Çizelge 2.3. Kabak çekirdeği yağ asidi kompozisyon.....	26
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bitkisel materyal.....	30
Çizelge 4.1. Bin tane ağırlığı için varyans analiz tablosu.....	40
Çizelge 4.2. Bin tane ağırlığı için genotiplerin önemlilik grupları.....	40
Çizelge 4.3. Nem tayini için varyans analiz tablosu.....	41
Çizelge 4.4. Nem tayini için genotiplerin önemlilik grupları.....	41
Çizelge 4.5. Genotiplerin tohum eni için varyans analiz tablosu.....	42
Çizelge 4.6. Tohum eni için genotiplerin önemlilik grupları.....	42
Çizelge 4.7. Genotiplerin tohum boyu için varyans analiz tablosu.....	43
Çizelge 4.8. Tohum boyu için genotiplerin önemlilik grupları.....	43
Çizelge 4.9. Genotiplerin tohum kalınlığı için varyans analiz tablosu.....	44
Çizelge 4.10. Tohum kalınlığı için genotiplerin önemlilik grupları.....	44
Çizelge 4.11. Genotiplerin kabuk iç oranı için varyans analiz tablosu.....	45
Çizelge 4.12. Kabuk iç oranı için genotiplerin önemlilik grupları.....	45
Çizelge 4.13. Genotiplerin protein tayini varyans analiz tablosu.....	46
Çizelge 4.14. Protein tayini için genotiplerin önemlilik grupları.....	46
Çizelge 4.15. Genotiplerin yağ tayini varyans analiz tablosu.....	47
Çizelge 4.16. Yağ tayini için genotiplerin önemlilik grupları.....	47
Çizelge 4.17. Genotiplerin palmitik asit varyans analiz tablosu.....	48
Çizelge 4.18. Palmitik asit için genotiplerin önemlilik grupları.....	48
Çizelge 4.19. Genotiplerin steraik asit varyans analiz tablosu.....	49
Çizelge 4.20. Steraik asit için genotiplerin önemlilik grupları.....	49
Çizelge 4.21. Genotiplerin oleik asit varyans analiz tablosu.....	50
Çizelge 4.22. Oleik asit için genotiplerin önemlilik grupları.....	50
Çizelge 4.23. Genotiplerin linoleik asit varyans analiz tablosu.....	51
Çizelge 4.24. Linoleik asit için genotiplerin önemlilik grupları.....	51
Çizelge 4.25. Genotiplerin Fe minerali varyans analiz tablosu.....	52
Çizelge 4.26. Fe minerali için genotiplerin önemlilik grupları.....	52
Çizelge 4.27. Genotiplerin Zn minerali varyans analiz tablosu.....	53

Çizelge 4.28. Zn minerali için genotiplerin önemlilik grupları.....	53
Çizelge 4.29. Genotiplerin Cu minerali varyans analiz tablosu.....	54
Çizelge 4.30. Cu minerali için genotiplerin önemlilik grupları.....	54
Çizelge 4.31 RAPD primerlerinin amplifikasyonu sonucunda elde edilen veriler.....	55
Çizelge 4.32. Kabak çekirdeği genotipleri arasındaki Jaccard genetik benzerlik katsayıları.	56

1. GİRİŞ

Kabak sıcak iklimden hoşlanan değişik iklim koşullarında yetiştirilebilme şansına sahip tek yıllık bir bitki türüdür (Anonim, 2006a). Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış meyvelerinin insan beslenmesinde kullanılmasının yanında besleyici değeri yüksek olan tohumları da özellikle ülkemiz, Akdeniz ülkeleri ve Ortadoğu ülkelerinde çerezlik olarak kullanılabildeği gibi, gıda ve kozmetik sanayinde de değerlendirilebilmektedir (Stuart 2006, Yanmaz ve Düzeltir 2003). *Cucurbitaceae* ailesine giren kabak türleri yazlık ve kışlık kabaklar olarak gruplandırılabilir (Düzeltir 2004). *Cucurbita pepo* L. türüne giren kabaklar yazlık kabaklar olarak adlandırılır ve çoğunlukla olgunlaşmamış meyveleri tüketilir. Buna karşılık *Cucurbita moshata poir* ve *Cucurbita maxima duch* ise kışlık kabaklar olarak kabul edilmekte ve olgunlaşmış meyveleri tatlı ve börek yapımında kullanılmaktadır (Anonim 2006a). Ülkemizde yetiştirilmekte olan çerezlik tüketim amaçlı çekirdek kabakları, çoğunlukla *Cucurbita pepo* L. türünden olup, az miktarda da *Cucurbita moschata* türünden olan bal kabağı tohumları da kullanılmaktadır (Yanmaz ve Düzeltir 2003). Bazı araştırmacılar kabak türlerinin anavatanının Amerika olduğunu, bazıları ise Asya olduğunu iddia etmektedirler. Bu araştırmacılar *Cucurbita pepo* L., ile *Cucurbita moshata poir*'in orijininin Amerika, *Cucurbita maxima duch*'in ise Asya kökenli olduğunu bildirmektedirler (Anonim 2006a).

Kabak çekirdeği, kuruyemiş olarak tüketiminin yanı sıra, sahip olduğu yağ, protein, mineral maddeler ve aminoasitler yönünden de zengin olup, insan sağlığı açısından ayrı bir öneme sahiptir. Halk arasında barsak parazitini gidermede etkili olduğu bilinen kabak tohumlarının %35-40 oranında yağ, %37 oranında karbonhidrat, %35-40 oranında protein içerdeği, ayrıca Ca, K, P, Mg, Fe ve Zn yönünden de zengin olduğu bilinmektedir. Kabak tohumları B vitaminleri yönünden zengin olup, ayrıca da riboflavin, tiamin ve niacin içermektedir (Düzeltir 2004). Kavrulmuş kabak çekirdekleri, salata, çorba ve çeşitli et yemeklerine lezzet artırıcı olarak katılmakta ve sos yapımında da kullanılmaktadır.

Çerezlik ve sanayide kullanılan kabaklar, kabukluluk durumuna göre kabuklu, zar gibi ince kabuklu ve kabuksuz olarak 3 gruba ayrılmaktadır. Ülkemizde daha çok kabuklu tipler çerezlik olarak kullanılmakta ise de, sanayide kabuksuz tipler tercih edilmektedir (Yanmaz ve

Düzeltir 2003). 1977 yılında kabuksuz tohuma sahip kabaklar üzerinde yapılan genetik ve yetiştirme çalışmaları sonucunda çerezlik çekirdek endüstrisini destekleyici bir yüksek tohumlu ürün ırkı geliştirme teşebbüslerine başlanmıştır (Loy 2006). Kabuksuz bir kabak çekirdeği olan Styria çeşidi Avusturya'nın güney bölgelerinde, Slovenya ve Macaristan'da da yetiştirilmektedir. Günümüzde kabuksuz kabak çekirdeği Türkiye'de Ankara'nın Nallıhan bölgesinde de yetiştirilmektedir (Sacilik 2006, El-Adawy ve Taha 2001).

Ülkemizde çerezlik olarak kullanılan kabaklar, sakız kabağı (*Cucurbita pepo*), helvacı kabağı (*C. maxima*), bal kabağı (*C. moschata*) türleridir. Bu üç türün çekirdeklerinin her biri çerezlik olarak yetiştirilir ancak en fazla tercih edilen sakız kabağı olarak bilinen türün çekirdekleridir. Ülkemizde yemeklik olarak kullanılan yazlık kabak üretimi son yıllarda örtü altında yapılan yetiştiricilik ile kış ayları da dahil olmak üzere bütün yıl boyunca yapılmaktadır. Yıllık toplam kabak üretimimiz 400-500 bin ton civarındadır (Anonim 2004).

Yazlık kabak çeşitlerinin meyve rengi beyaz gri (sakız), sarı, turuncu, yeşil ve koyu yeşildir. Sakız ve Girit kabağı gibi yazlık kabakların tohumları genellikle beyazdır. 1000 tohum ağırlığı 200-400 g arasındadır. 1 kg'da 2500-5000 adet tohum bulunur. Hasat olgunluğuna gelmiş kabaklar bitki üzerinde yapraklar sararıp kuruyuncaya kadar bekletilir (Anonim 2006a). Çekirdek kabaklarında meyve hasadı, tohumların irileşip olgunlaşması için tam olgunluk döneminde yapılmaktadır. Ülkemizde kabak hasat dönemi ağustos sonu ve eylül aylarıdır (Yanmaz ve Düzeltir 2003). Yazlık kabak çeşitlerinden ortalama dekardan 40-50 kg tohum alınabilmektedir. Meyve başına ortalama tohum verimi 30-100 g arasında değişmektedir (Abak ve ark. 1990).

2004 yılına kadar çerezlik kabak üretimi ile ilgili istatistik bir değer verilmezken 2004 yılı itibarıyla belirtilen istatistik verilerine göre Türkiye'de toplamda yaklaşık 370.000 ton olan kabak üretimi içerisinde çerezlik kabak üretim miktarı 10.500 tondur (Anonim 2004). Dünyada ve ülkemizde değişik amaçlarla üretilen ve çeşitli türleri olan kabakta, 2005 yılı verilerine göre, dünya ekim alanı yaklaşık 1.5 milyon ha, üretim ise yaklaşık 20 milyon tondur. Dünyada ilk 10-15 ülke arasında yer alan Türkiye'nin ekim alanı 22.000 ha, üretimi ise, taze kabak olarak 376.000 ton dur.

Dünyadaki kabak üretiminin %29.1' ini Çin, %17.7' sini Hindistan, %5.4' ünü Ukrayna, %2.8' ini de Meksika üretmektedir. Bu sıralamada Türkiye, Arjantin ve Japonya ile birlikte

yaklaşık %4' lük üretimi sağlamaktadır (Anonim 2006a). Ancak dünyada çerezlik kabak açısından bir istatistik söz konusu değildir. Ülkemizde taze tüketim ve bal kabağının genelde bahçelerde ve dar alanlarda ekilmesi nedeniyle, Türkiye'de ekilen toplam alanın yarısı kadar miktarının (10.000 ha) çerezlik amaçla ekildiği, üretimin ise, ortalama 60-80 kg/da verim üzerinden 6-8 bin ton civarında olduğu tahmin edilmektedir. Üretimin en yoğun olduğu il Nevşehir olup, yaklaşık ekim alanı 2.400 ha, üretim ise 1.000 ton civarındadır (Anonim 2005).

Çerezlik kabak tohumlarının Yunanistan'dan Trakya Bölgesine girdiği, burada üreticiler tarafından benimsenerek yetiştiriciliğinin yaygınlaştığı ve bu yörede çerezlik kabak yetiştiriciliğinin yaklaşık 20-25 sene öncesine dayandığı bildirilmektedir (Sakin 1985). Her ne kadar elimizde istatistiki veriler olmasa da, bu konuda yapılan birkaç araştırma sonucuna göre, çekirdek kabağı olarak bilinen çerezlik kabak yetiştiriciliği ülkemizde en fazla Kırıkkale'nin Lüleburgaz, Babaeski; Tekirdağ'ın Çorlu; Edirne'nin Merkez ve Uzunköprü ilçeleriyle, Adapazarı ve Nevşehir, Kayseri, Aksaray, Antakya yörelerinde yapılmaktadır (Düzeltir 2004).

Ülkemizin değişik yörelerinde başarıyla yetiştirilen çerezlik kabakta daha çok yörelere ve tane tipine göre isimlendirilen köy çeşitleri kullanılmaktadır. Nevşehir, Nevşehir sivrisi, Hanım Tırnağı, Geniş çekirdek, Kabuksuz, Boncuk ve Kara Kabak gibi isimlerle tarımı yapılan bu köy populasyonlarının sertifikalı ve tescilli bir üretimi olmayıp, çerezlik kabakta gerek ıslah, gerekse adaptasyon ve yetiştirme tekniği konusunda yürütülmüş çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (Düzeltir 2004). Bununla ilgili ulaşılabilen en eski çalışmada 1993-1997 yılları arasında çerezlik kullanıma uygun çeşitlerin oluşturulması amacıyla seleksiyon çalışması yürütülmüştür (Toprakkarıştıran 1997).

Çerezlik kabak yetiştiriciliğine olan ilgi son yıllarda artış göstermiştir. Yemeklik kabak yetiştiriciliği özellikle iç bölgelerde ekonomik olmamaktadır. Çünkü yemeklik kabak yetiştiriciliği yapmak isteyen üreticiler tohum ekimini nisan sonu-mayıs başında yapmakta, hasadın yapıldığı haziran ayı ortalarında ise piyasada kabak bol olduğu için, kabak fiyatları diğer bölgelerden gelen ürün nedeniyle düşmekte ve bunun sonucu olarak da üreticinin gelir düzeyi azalmaktadır.

Oysa çerezlik kabak yetiştiriciliğinde, üretilen tohumları satma yönünde bir risk bulunmamakta ve ürün daha yüksek fiyatlara satıldığı için daha ekonomik olmaktadır (Yanmaz ve Düzeltir 2003).

Ülkemizin Trakya illeri ve Nevşehir başta olmak üzere birçok yöresinde ekilen çerezlik kabakta, sertifikalı ve kaliteli bir tohumluk kullanılmaması nedeniyle verim ve kalite yönünden sıkıntı yaşanmaktadır. Bu sorunlar arasında aynı kalitede yeterli ürün bulunamaması, verimliliğin düşük olması nedeniyle ürün kayıpları sayılabilir. Ülkemizde ve dünya pazarında yoğun bir talebin görüldüğü, çerezlik kabak üretimi ülkemizde önemli bir sektör olmasına karşılık çerezlik kabakta karşılaşılan sorunların çözümüne yönelik sınırlı sayıda araştırmanın yapıldığı dikkati çekmektedir. Sektörün gelişebilmesi için özellikle çeşit geliştirme çalışmalarına ağırlık verilmesi gerekmektedir. Bu araştırma ile çeşitlerin genetik özellikleri belirlendiğinden, ileride yapılacak olan ıslah çalışmalarında ıslah süresinin kısalmasına katkıda bulunulacaktır.

Genetik karakterizasyonun dışında kabak çekirdeğinin fiziksel ve kimyasal standardizasyonu, örneğin dış görünüşü ve çıtlama özelliği bitkiden bitkiye değişim göstermektedir. Kimyasal içeriğindeki farklılıklar da raf ömrü ve tadı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bu sebeple bu çalışmada çeşitlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri araştırılmıştır.

Tarımsal üretimde ve sanayide sürdürülebilirliğin en önemli unsurlarından biri de gen kaynaklarıdır. Ancak bugüne kadar sahip olduğumuz kaynakların genetik potansiyeli ortaya çıkarılmamış ve bu kaynaklar korunmamıştır. Bu çalışma ile bugüne kadar çeşitli ıslah yollarıyla veya doğal olarak günümüze kadar gelmiş çeşitlerin kalite özellikleri incelenmiş ve çerezlik tüketime uygun çeşitler belirlenmiştir. Aynı zamanda söz konusu çeşitlerin moleküler karakterizasyonu yapıp, akrabalıkları incelenmiş bu sayede ortaya çıkan çeşit özelliklerinin yeni çeşitlerin geliştirilmesi konusunda yol gösterici olması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bitki ıslahı ve çeşit geliştirilmesi çalışmalarında kullanılan genetik materyalin ismine doğru olması ve aralarındaki genetik ilişkilerin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Çok uzun zaman ve masraf gerektiren çeşit ıslahı çalışmalarında materyal seçimi oldukça önemlidir. Yeni çeşitlere patent hakkının alınabilmesi ve yasaların yaptırım gücünün olabilmesi için çeşitleri birbirinden kesin olarak ayırt edebilecek yöntemler kullanılmalıdır.

Çeşit tanımlama çalışmalarında başlangıçta morfolojik özelliklerden yararlanılmıştır. Ancak morfolojik özelliklerin çevre şartlarından etkilenmeleri ve subjektif verilere dayalı olması morfolojik markırların kullanımını sınırlandırmıştır. Yine çeşit tanımlaması amacıyla biyokimyasal yöntemlerden izoenzim ve flavanoid markırları da kullanılmıştır. Biyokimyasal yöntemlerde kullanılabilen markır sayısının sınırlı olması ve biyokimyasal analizlerin ancak belli dokularda ve belli dönemlerde yapılabilmesi bu yöntemlerin kullanımını sınırlandırmaktadır (Todorovic 1989, Rovira ve ark. 1993).

Ticari gen kaynaklarının sertifikasyonu için kültür çeşitlerinin tanımlanması, doğru kültürel uygulamalar ve bitki patent haklarının korunması bakımından DNA markırlarının kullanımı büyük önem taşımaktadır (Kaçar 2001). Moleküler markırlar konusundaki gelişmeler bu konuda oldukça kolaylık sağlamaktadır. Son yirmi yıl içerisinde hızla gelişen moleküler markır teknolojisi çeşitlerin birbiri arasındaki genetik farklılığın belirlenmesi, kromozom haritalamaları, gen kaynaklarının karakterize edilmesi çalışmalarında yeni yöntemler ortaya koymuştur. Klasik yöntemlere göre büyük avantajlar sağlayan bu yeni yöntemler zaman ve iş gücü gereksinimini azaltarak çalışmaların daha kısa sürede sonuçlanmasını sağlamaktadır.

Ayrıca moleküler markırlar kullanılarak bitki gen kaynaklarının araştırılması tür ve çeşit tanımlamasının yapılması aynı zamanda kalıtım markırları üzerinde çalışılması tarımsal açıdan önemli olan karakterlerin ortaya çıkmasını sağlamaktadır. DNA markırlarının devreye girmesi birçok bitki türünde olduğu gibi meyve tür ve çeşitlerinin tanımlanmasında da bir dönüm noktası oluşturmuştur. Bu amaçla kullanılan DNA markırları; hibridizasyona dayalı markırlar (RFLP) ve PCR'a dayalı markırlar (RAPD, SSR, AFLP vb.) şeklinde iki gruba

ayrılırken günümüzde PCR'a dayalı markırların kullanımı ön plana çıkmıştır. Bu tekniklerle genetik materyalde DNA düzeyindeki en küçük değişiklikler bile belirlenebilir.

Genotiplerin moleküler düzeyde incelenmesi amacıyla DNA parmak izlerinin çıkarılması gerekmektedir (Williams ve ark. 1990). İlk DNA markör sisteminin uygulanması RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) analizleri ile olmuştur (Botstein ve ark., 1980). Polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) keşfinden sonra RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA), SSR (Simple Sequence Repeat), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), markör sistemleri ortaya konulmuştur.

Özellikle daha hızlı ve ucuz olan "RAPD" tekniği, genetik materyalin izlenmesinde önemli gelişmeler sağlamıştır (Özcan ve ark. 2001). RAPD tekniğinin tür ve çeşitlerin tanımlanmasında, SSR tekniğinin hibrit bitki tanısında, tür ve çeşitlerin ekolojik dağılım-genetik ilişkilerinin incelenmesinde, AFLP tekniğinin ise çok yakın bireylerin tanımlanmasında daha etkili sonuç verdiği saptanmıştır (Ergül 2000, Yıldırım ve Kandemir 2001).

2.1. Markır Tipleri

Markır destekli seleksiyonda kullanılan markır tipleri morfolojik, biyokimyasal (protein) ve moleküler olmak üzere üç ana gruba ayrılmaktadır.

2.1.1. Morfolojik markırlar

Morfolojik belirleyiciler (markırlar); çiçek rengi ve tohum şekli gibi görsel olarak karakterize edilebilen analizleri oldukça kolay olan fenotipik karakterlerdir (Yıldırım ve Kandemir 2001). Ancak sayılarının az olusu yanında çevreden ve diğer lokuslardan etkilenmeleri nedeniyle günümüzde fazla kullanılmamaktadırlar. Bunların yanı sıra birbirine oldukça yakın genotipler arasında sınırlı düzeyde polimorfizm göstermeleri ve dominant özellikte olmalarından dolayı sadece dominant fenotipi (AA ve Aa) resesif fenotipten (aa) ayırmaları da morfolojik markörlerin diğer dezavantajlarıdır (Mohan ve ark. 2009).

2.1.2 Biyokimyasal markırlar

Biyokimyasal markırlar genlerin ürettikleri proteinlerdir. İzoenzimler farklı olarak yüklenmiş proteinlerdir. Elektroforez tekniği kullanılarak kolayca ayrılabilirler. Enzimler spesifik biyokimyasal reaksiyonları katalizler. Belirli enzimlerin substrat ve kofaktörleri eklenerek jel üzerinde görülmesi sağlanır ve enzimatik reaksiyonların ürünleri renkli olarak üretilir. Renkli ürünler jel üzerinde görülür bantlar oluşturur. Bu bantlar genetik temellere sahiptir ve kodominant markır olarak genetik bilgi sağlar. Bununla birlikte morfolojik karakterlere göre çok daha yaygın kullanılmakla birlikte izoenzim lokuslarının azlığı ve bazı enzim sistemlerinin çevre koşullarından etkileniyor olması kullanımlarını sınırlar (Aka-Kaçar 2001).

2.1.3. Moleküler markırlar

Moleküler belirleyiciler diğer belirleyicilere göre daha güvenilir olmaları, çevreden etkilenmemeleri, bitkilerin gelişmelerinin her aşamasında kullanılabilmesi, bitkinin olgunlaşmasının beklenmesine gereksinim olmaması ve geniş bir varyasyon göstermeleri gibi avantajları nedeniyle son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu belirleyiciler farklı genotiplere ait DNA nükleik asit diziliş farklılığını çeşitli şekillerde ortaya koyarlar. Ayrıca bu belirleyicilerin DNA polimorfizmi klasik morfolojik veya biyokimyasal belirleyicilerden çok daha fazladır (Özcan ve ark. 2001).

Moleküler markırların genel olarak ıslahta kullanım alanları; genetik kaynakların karakterizasyonu, çeşitler arasındaki benzerlik ve farklılıkların belirlenmesi, ıslah programlarında kullanılacak ebeveynlerin belirlenmesi, yeni geliştirilen çeşitlerin koruma altına alınması, bilinmeyen çeşit ve genotiplerin tanımlanması, evrimsel gelişmeler ve kromozomlarda oluşan yapısal değişmelerin belirlenmesi ve kalitatif ve kantitatif lokusların belirlenmesidir. Moleküler markörlerin kaynağı ürettikleri bitkilerin DNA'larıdır. Bundan dolayı bitki popülasyonundaki çeşitlilik veya o popülasyon içindeki bitki genotipleri arasındaki ilişkilerin tespitinde %100'e yakın güvenilirlikle sonuç verirler (Gülşen ve Mutlu 2005). Dolayısıyla bitki ıslahında moleküler düzeyde çalışmak zaman ve güvenilirlik bakımından önemlidir.

Moleküler markırlar ıslah programlarının daha iyi planlanmasını ve daha az maliyetle yapılmasını, geliştirilen markör meyve ve çiçek özellikleriyle ilgiliyse ve özellikle çok yıllık bitkilerde bitki meyve verinceye kadar, 2–10 yıl beklemeden erken seleksiyonu sağlar. Analizi uzun ve pahalı olan karakterler için zaman ve ekonomik kazanç sağlar. Erken seleksiyon sonucu deneme alanından ve işgücünden kazanç, daha fazla bitkiyle çalışabilme olanağı ve daha kısa sürede ana hedefe ulaşma imkanı sağlar (Gülşen ve Mutlu 2005).

Moleküler belirleyiciler, ayrıca bitkilerin DNA parmak izlerinin çıkarılması ve çeşit tanımlamasında da yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Parmak izi analizleri kullanılarak tescile sunulan çeşit adaylarının genetik özellikleri belirlenebildiği gibi çeşit adayının elde edilmesinde kullanılan anaçlar da saptanabilmektedir. Bu durum, ekonomik açıdan önemli genetik kaynakların belirlenmesi ve Türkiye gibi birçok bitkinin gen merkezi durumunda olan ülkelerde, yabancı gen kaynaklarının korunması açısından son derece önemlidir. Moleküler markörler agronomik olarak önem arz eden tek (major) bir genin geri melezleme yöntemiyle hızlı ve etkin bir şekilde aktarımını sağlarlar. Geri melezleme ıslahında tekrarlanan anacın mümkün olan en yüksek oranda tekrar geri elde edilmesinde de kullanılırlar. Fenotipik gözleme gerek kalmaksızın geni taşıyan geri melez hatlarının doğru seleksiyonunda moleküler markörler oldukça etkilidirler. Ayrıca farklı karakterlere etki eden birden fazla genin es zamanlı aktarılmasını da mümkün kılarlar (Yıldırım 2008).

Moleküler markırların özellikleri

Moleküler markırların yararlılığı, morfolojik markırlardan kendilerini ayrı kılan beş özellikten kaynaklanmaktadır (Khan ve Spoor 2001).

1. Pek çok morfolojik markırın fenotipi, yalnızca tüm bitki seviyesinde teşhis edilebilir. Oysa moleküler lokuslar, tüm bitki, doku ve hücre seviyesinde denenebilirler.
2. Allel frekansı, morfolojik markırlarla karşılaştırıldığında moleküler lokuslarda daha yüksek olma eğilimindedir.
3. Morfolojik mutantlar, istenilmeyen fenolojik etkilerle bir arada olmaya meyillidirler.
4. Morfolojik lokustaki alleller, heterozigot genotiplerin tanımlanmasını sınırlayan bir dominant –resesif tarzında birbirini etkiler.

5. Moleküler lokuslar, bir açılım populasyonundaki bireylerin genotiplerinin belirlenmesine izin veren bir ko-dominant tarz sergilerler. Tek bir moleküler markır, bütün bu ihtiyaçları karşılayamamaktadır. Çeşitli moleküler markırlar DNA seviyesinde polimorfizmi ortaya çıkartmaya elverişlidirler.

DNA markırında bulunması istenen özellikler:

1. Güvenilir olması,
2. Ko-dominant olması,
3. Yüksek polimorfizim göstermesi,
4. Birçok bilgi içermesi,
5. Sonuçların tekrarlanabilir olması,
6. Analizinin kolay ve basit olması,
7. Otomasyona uygun olmasıdır.

Polimorfizim (Farklılık gösterme): Kullanılan bir markırın farklı genotipleri ayırt edebilme yeteneğidir. Markırların farklılık gösterme oranları markır tipine ve bitki türüne göre büyük ölçüde değişmektedir (Yıldırım ve ark. 2001). Polimorfizim, 300 ile 500 nükleotide bir oluşan varyasyonlardır. Ekzon bölgelerinde gözlenen varyasyonlar morfolojik düzeyde gözlenebilirken (Tohum rengi, bitki boyu vb.), intron bölgelerindeki varyasyonlar morfolojik düzeyde gözlenmemektedir.

Güvenilirlik: Aynı genetik materyal üzerinde yapılan bir markır analizinin her zaman ve her koşulda aynı sonuçları vermesidir. Güvenilirlik, markır tipine göre değişmektedir (Yıldırım ve ark. 2001).

Eşbaskınlık (ko-dominantlık): Markırların eşbaskın olması, yani her iki allelinde ayırt edilebilmesidir. Bu durum bize ebeveynler hakkında sağlıklı bilgiler vermektedir.

Moleküler markırların uygulama alanları:

- Genotipik tanımlama,
- Çeşit tescili,
- Islah hatlarının tanımlanması ve tohum saflık testleri,

- Hibrit çeşit saflık testleri,
- Cinsiyet belirleme, genetik çeşitliliğin belirlenmesi,
- Gen kaynaklarının genetik kökeninin belirlenmesidir.

Gen kaynaklarının genetik kökeninin belirlenmesi,

- Genetik kaynağın yapısını anlamak,
- Duplike olan genotipleri belirlenmek,
- Orjini bilinmeyen genetik materyalleri belirlenmek,
- İslah programında kullanılacak ebeveynleri belirlemek amacıyla kullanılır.

Moleküler markırlardan en önemlilerini hibridizasyona dayalı olan restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP) belirleyicileri ile Polimeraz Zincir Reaksiyonuna (PCR) dayalı olan rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD), basit dizilim DNA tekrarları (SSR), çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP) gibi belirleyiciler oluşturmaktadır (Kaçar-Aka 2001).

2.2. Moleküler Çalışmalarda Kullanılan Teknikler

1982 yılında Saiki ve ark. tarafından geliştirilen PCR tekniğinin nispeten daha ekonomik olması ve daha yüksek polimorfizm sağlaması, günümüzde PCR'a bağlı tekniklerin büyük oranda tercih edilmelerini sağlamıştır. Yüksek ortam sıcaklığına dayanıklı DNA polimeraz enzimlerinin geliştirilmesi sayesinde bazı DNA kısımlarının *in vitro* ortamlarda çoğaltılması sağlanmış ve bu gelişmeler günümüz modern moleküler markör çalışmalarının temelini oluşturmuştur. Günümüzde uygulandığı ve temel prensipleri bakımından çok çeşitli moleküler markör teknikleri mevcut olmakla birlikte araştırmalarda kullanılan başlıca tekniklere aşağıda kısaca değinilmiştir.

2.2.1 RFLP tekniği:

Hibridizasyon temeline dayalı olarak kullanılan RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) tekniği, genomik DNA'nın belirli nükleotid dizilerinden (*restriction site*) özel enzimlerle (*restriction enzymes*) kesilerek çeşitli moleküler büyüklüklerde DNA parçaları elde edilmesi temel prensibine dayanmaktadır. Güvenilirliği ve tekrarlanabilirliği yüksek olan

tekniklerdendir. Ancak, çok miktarda temiz DNA gerekliliği ve maliyetinin nispeten yüksek olması bu tekniğin kullanımını sınırlandıran başlıca faktörlerdir.

2.2.2 RAPD tekniği:

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Williams ve ark. (1990) tarafından geliştirilen RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) tekniği basit ve kısa oligonükleotid primerler kullanılarak genomik DNA'nın rastgele bölgelerinin çoğaltılmasıdır (Kaçar 2001). RAPD markırları RFLP'nin tersine düşük kalitede ve miktarda DNA'ya gereksinim duyulması, zaman ve maliyet yönünden olumlu olmasına rağmen dominant markır (Corazza-Nunes ve ark. 2002) olmaları nedeni ile yorumlanmasının zorluğu, güvenilirliğinin çok sınırlı olması, tekrarlanamaması olumsuz yönleridir (Lavi ve ark. 1994). Tekniğin diğer dezavantajlarının arasında dominant özellikte markır verilmesi ve bu yolla elde edilen markırların diğer haritalara transfer edilememesi gelmektedir (Walton 1993).

2.2.3. SSR tekniği:

SSR (Simple Sequence Repeat) "mikrosatellit" olarak adlandırılan 1-6 baz uzunluğuunda kısa tekrar dizileri (A, AT, ATC, ATCG gibi) olup canlı genomu üzerinde rastgele dağılmıştır. Bu dizilerin kullanıldığı tekniklerden olan SSR, son yıllarda yaygın bir şekilde kullanılan markör tekniklerinden biri olmuştur. Mikrosatellitleri çevreleyen DNA dizileri genellikle aynı türün bireyleri arasında korunmuş olduklarından farklı genotiplerde çakışan SSR bölgeleri PCR'da primerler ile çoğaltılarak seçilebilmektedir. Ardışık SSR tekrarlarının sayısındaki farklılık PCR sonucu farklı uzunlukta DNA parçalarının (bant) oluşmasına neden olmaktadır. Bu tekrarlar çok yakın tür ve çeşitler arasında yüksek polimorfizm göstermektedir. Bu markör sisteminde SSR'ları çevreleyen korunmuş DNA dizileri primer olarak kullanılarak PCR işleminde sonucunda bir lokustaki farklı alleller tespit edilebilmektedir (Yıldırım ve Kandemir, 2001). SSR yöntemi güvenilir, polimorfizm oranı yüksek, eşbaskın (kodominant), nispeten kolay ve tekrarlanabilirliği çok yüksek bir markör yöntemidir. Bitkilerde oldukça fazla bilgi verme özelliğindedir. Ayrıca PCR'a dayalı olması nedeni ile çok az miktarda DNA'ya ihtiyaç duyması ve akraba bitki türlerinde geliştirilmiş olan SSR primerlerinin kullanımına olanak sağlaması en önemli avantajlarından biridir. Bu tekniğin en önemli dezavantajı ise yeni markör (primer) geliştirilmesinin zorluğudur (Kaçar 2001, Yıldırım ve Kandemir 2001).

2.2.4. ISSR tekniği:

Uygulanışı bakımından RAPD tekniğine benzemekle birlikte ISSR (*Inter- Simple Sequence Repeats*) tekniği, kullanılan primerlerin mikrosatellit bölgelerinden çoğaltılmış olmaları ve “annealing” (primerin kalıp DNA’ya yapışması) sıcaklıklarının yüksek olması ile RAPD tekniğinden ayrılır. ISSR tekniği ile ilgili çalışmalar 1994 yılında başlamış (Zietkiewicz ve ark. 1994, Gupta ve ark. 2000) ve sonraki çalışmalarda bu tekniğin bitki türlerindeki varyasyonu belirlemede yüksek etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

2.2.5. AFLP tekniği:

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) çoğaltılan parça uzunluğu farklılığını esas alan bir yöntem olup, RAPD yönteminin olumsuz yönlerini gidermek üzere Vos ve ark.(1995) tarafından geliştirilmiştir. Genomik DNA’nın endonükleaz enzimleriyle kesilerek kesim uçlarına adaptör eklenmesi, kesilen parçaların çoğaltılması ve bu parçaların elektroforezle görüntülenmesi aşamalarından oluşmaktadır (Yıldırım ve Kandemir 2001, Sabır 2008). AFLP tekniğinin polimorfizm oranı çok yüksek olup çok sayıda lokusu aynı anda ve etkili bir şekilde taraması nedeni ile parmak izi analizine çok uygundur. AFLP analizleri ile heterozigot ve homozigot bireyler arasındaki farklılıklar saptanabilmektedir. Çoğunlukla dominant markörler vermesi ve farklı genetik haritalar arasında transferinin güç olması AFLP tekniğinin en önemli dezavantajlarından (Kaçar 2001, Yıldırım ve Kandemir 2001).

2.2.6. STS tekniği:

STS tekniği (dizini etiketlenmiş alanlar) RFLP güvenilirliğini ve PCR kolaylığını bir araya getiren bir tekniktir. Nükleotid dizilişı bilinen az kopyalı RFLP problemlerinden yeterli uzunlukta (16-24 nükleotid) başlatıcı DNA’lar geliştirilmektedir. Başlatıcı DNA’lar ile genomik DNA üzerinde çok spesifik şartlarda DNA üretimi yapılması ile RFLP probunun temsil ettiği lokus çoğaltılmaktadır. Farklı genotiplerden üretilen DNA’ların 4 nükleotid taşıyan bir seri kesim enzimi ile kesilmesi sonucu üretilen parçaların içindeki tek nükleotid değişikliği bile tanımlanabilmektedir.

2.2.7. SCAR

SCAR (dizin karakterli çoğaltılmış bölgeler), bir polimorfik RFLP veya RAPD klonlanır ve dizi analizi yapılır. Bu spesifik fragmente göre 2-24 nükleotidlik PCR primeri sentezlenir. PCR'da çoğaltılmış spesifik primerleri bir kesim enzimleri ile kesilir. Sonuçta DNA'daki büyüklük değişimi tespit edilir.

2.2.8. SSCP tekniği:

SSCP (tek parçalı kontrol edilen polimorfizm) tek zincirli DNA'nın molekül içi etkileşimi sonucu her zincirin farklı formda katlanıp kıvrılmasıyla değişik konformasyonların oluşmasına ve poliakrilamid jelde farklı hızda hareket etmesi üzerine kurulmuş bir yöntemdir. Mutasyon içeren DNA molekülü tek baz bile farklı olsa normal dizide değişik bir yapı oluşturacağından farklı yerlerde bantlaşma gözlenmektedir. Normal ve incelenen örnek arasında fark olması mutasyonun varlığını göstermektedir.

2.3. DNA Dizisinin Belirlenmesi

PCR tekniğinin 1990'larda bulunmasından bu yana DNA'yı moleküler düzeyde incelememizi sağlayan birçok markır sistemi ortaya çıkmıştır. Bu sistemlerle genom haritaları oluşturulmuş ve birçok hastalığın nedeni ortaya çıkartılmıştır.

Tüm yüksek yapılı organizmaların genomlarındaki bir veya daha fazla özelliğin karakterizasyonu DNA bantlarının ortaya koyulmasıyla olur. Farklı büyüklükteki ve farklı sayıdaki DNA bantlarının ortaya koyulması ile her birey için DNA parmak izi elde edilmiş olur.

DNA profilinin çıkarılması ve spesifik DNA parmak izlerinin elde edilmesinde izlenen yollar aşağıdaki gibidir.

- Bitkisel materyalin sağlanması,
- Bitkisel materyallerden DNA izolasyonu,
- Kullanılacak yönteme göre, genetik materyalin çoğaltılması ve ortaya koyulması (PCR),

- Bireyler arasındaki polimorfizimin farklı moleküler markır teknikleri ile belirlenmesi (RFLP, RAPD, AFLP, ISSR),
- DNA profilinin spesifik bir programda analiz edilmesidir (Aka Kaçar 2001).

2.3.1. Bitkisel materyalin sağlanması ve DNA izolasyonu

Bitki dokularından saf DNA izolasyonu oldukça zordur. Bitki dokularının polisakkaritler, polifenoller ve karbonhidratlarca zengin olması DNA izolasyonunu güçleştirir. DNA yeterince saf değilse PCR sonucunda amplifikasyon gerçekleşmez (Luro ve ark. 1992).

Bu sorunun üstesinden gelmek için alternatif ekstraksiyon bufferı kullanılmaktadır. Ekstraksiyon bufferları hücre içindeki DNA dışındaki bileşiklerin uzaklaştırılması esasına dayanmaktadır. Ekstraksiyon bufferı'nın pH'sı ve spesifik koruyucu maddeler veya deterjanlar belirli türler için optimize edilmelidir. Özellikle DNA'yı parçalayan enzimler için optimum olan pH düzeyinden kaçınılmalıdır. Örneğin DNazların çalışma pH'sı 7.0 civarındadır (Dunham ve Brayant 1983). Bu durumda DNazların çalışmasını ve DNA'yı parçalamasını önlemek için bitki ekstraksiyon bufferının pH 8.0 hatta pH 9.0 civarında olması gerekmektedir. Fenolik bileşiklerden tamamen temizlenmemiş DNA'da kahverengileşme meydana gelmektedir. Bunu önlemek için 5-10 mM β -mercaptoethanol (BME) kullanılmaktadır (Deng ve ark. 1995). Orijinal dokunun toplanması ve ekstraksiyondan önce korunması DNA'nın kalite ve kantitesini çok etkiler. Genel olarak en iyi doku taze olan dokudur. Çünkü taze dokularda yaşlı dokularda gözlenen fenolik bileşik oluşumu gözlenmemektedir. Bu durumun en önemli nedeni bitkinin dinlenme zamanlarında fenolik bileşik üretmesidir. Fenolik bileşik oluşumu saf DNA elde etmemizi zorlaştırabileceğinden bitkinin aktif olduğu sürgünlerin oluşum dönemlerinde bitki materyalinin toplanması tercih edilmelidir. Toplanan yaprak örnekleri canlılıklarını korumalarını sağlamak amacıyla soğuk ve nemli bir ortamda saklanmalıdır. Bitkisel materyalin en iyi şekilde saklanması dondurularak ya da kurutularak olur (Liston ve ark. 1990). Bitkilerden DNA izolasyonunda başarıda, DNA'nın miktarı, kalitesi ve kullanışlılığı önemlidir. DNA hücrede serbest bir molekül halinde değildir. Bazı proteinler (histonlar, histon olmayan proteinler, HMG proteinleri) RNA ile bir kompleks halinde bulunur. İyi bir DNA izolasyonu gerçekleştirmek için hücre içinde hücre duvarının parçalanması, proteinlerin ve RNA'nın uzaklaştırılması

gerekmektedir. DNA izolasyonu değişik organizma gruplarında farklılık gösterse de temelde hepsinde aynı aşamalar meydana gelir (Göksel 1999).

Başarılı bir DNA izolasyonu için aşağıdaki koşulların gerçekleşmesi gerekmektedir;

- İlk olarak hücre duvarı parçalanmalıdır. Bu amaçla bitki materyali sıvı azot, kuru buz ya da sıcak ekstraksiyon bufferi içerisinde öğütülür.
- Hücre membranı parçalanır; bitki materyali CTAB adı verilen ekstraksiyon bufferi ile muamele edilir. CTAB çözeltisi içinde bulunan SDS protein yapılarını bozar, NaCl polisakkaritleri ortadan kaldırır, PVP polifenollerini ortadan kaldırır, EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) DNA'yı ribonükleaz aktivitesinden korur, β mercaptaethanol proteinleri denatüre eder, böylece hücre zarı parçalanmış olur.
- Ayrıca buffer/doku karışımına kloroform ve/veya fenol karışımı eklenerek DNA'dan proteinlerin ayrılması sağlanır, temiz DNA elde etmek için kloroformla yıkama aşaması iki kez tekrarlanabilir.
- Son olarak yıkaması gerçekleştirilen DNA'yı çöktürmek için izopropanol kullanılır. Dondurulmuş dokunun öğütülmesi ile ekstraksiyon bufferi ile muamelesi arasındaki süre DNA'nın nükleotik degregasyonunu engellemek amacıyla en aza indirilmelidir (Aka Kaçar 2001).

2.3.2. DNA'nın analizi

Nükleik asitlerin nanogram veya mikrogram düzeyindeki miktarının belirlenmesi, moleküler biyoloji alanında çalışan araştırmacılar için temel noktalardan biridir. Genellikle izole edilen DNA'ların miktar tayininde absorpsiyon temeline dayanan spektrofotometrik yöntemler kullanılır (Temizkan ve Arda 2004).

2.3.3. Spektral yöntemler

Nükleotidlerin heterosiklik halkaları 260 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon özelliği gösterir. Bu nedenle 260 nm'de ölçülen absorpsiyon değerleri (A₂₆₀) oldukça saf olarak izole edilen nükleik asitlerin mikrogram düzeyinde miktarının belirlenmesinde kullanılır. Çift zincirli DNA molekülleri için, 1 optik dansitenin (OD) 50 µg/ml'ye karşılık

geldiği bilinmektedir. Buna göre çift zincirli DNA için miktar belirlenmesinde aşağıdaki formül kullanılır: $\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = \text{A260} \times \text{sulandırma oranı} \times 50$ A260'daki değerler DNA ve RNA'yı birbirinden tam olarak ayırt etmeye yetmez. Bununla beraber 260 ve 280 nm dalga boylarında okunan değerler arasındaki oran nükleik asitlerin saflığı hakkında bilgi vermektedir. Saflaştırılmış DNA'da A260/A280 oranı yaklaşık 1.75-1.82 arasında olmalıdır. 325 nm'de ölçülen değer DNA çözeltisinde partikül bulunduğunu veya ölçümde kullanılan küvetin kirli olduğunu; 230 nm'deki değer ise nükleik asit çözeltisinde peptitlerin veya fenolün bulunduğunu gösterir (Temizkan ve Arda 2004).

2.3.4. Agaroz jel elektroforezi

Agaroz, bir kırmızı alg türü olan Agar Agar'dan izole edilen doğrusal bir polisakkarittir. Agaroz sıcak suda çözünür ve soğutulduğu zaman polimerde karşılıklı hidrojen bağlarının oluşumu ile jel yapısı oluşur. Bu oluşum geri dönüşümlüdür. Agaroz konsantrasyonu % 0.5-1.5 arasında değiştirilerek jelin por çapı ayarlanabilir. Böylece küçük DNA fragmentleri için yüksek, büyük DNA fragmentleri için düşük agaroz konsantrasyonu kullanılarak DNA'nın jelde en uygun şekilde yürümesi sağlanır. DNA'nın jelde görünür hale gelmesi için ethidium bromidin DNA bağları arasına bağlanarak 300-360 nm dalga boyunda ışığı absorbe etmesi sonucu floresan etki göstermesi ile olur. İzole edilen DNA genomik DNA ise keskin bir bant ve yukarı doğru biraz yayılan bir görüntü verir (Temizkan ve Arda 2004).

2.3.5. PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu)

PCR'da genetik materyalin çoğaltılması ve ortaya koyulması esastır. DNA'nın istenilen bir parçasının *in vitro* koşullarda 15-20 nükleotit uzunluktaki oligonükleotit dizileri kullanılarak, sıcaklığa dayanıklı *Taq* DNA polimeraz enzimi yardımıyla çoğaltılmasına dayanan bir yöntemdir.

2.4. Kabakgil Türlerinde Moleküler Düzeyde Yapılan Çalışmalar

Kabakgillerdeki moleküler karakterizasyon çalışmalarına ilk olarak 1994 yılında başlanmıştır. Bu çalışmada, Zhang ve ark. (1994), karpuz genotipleri arasındaki polimorfizmi RAPD yöntemi ile araştırmışlardır. Bitkisel materyal olarak, erkek kısır 617AB,

Dixilee, *Fusarium solgunluğunun* 1 ve 2 no'lu ırklarına dayanıklı PI 296341 ve tüm ırklarına karşı duyarlı New Hampshire Midget (NHM), 8 genotip ve NHM x PI 296341 melezi kullanılmıştır. Test edilen 53 primerden 3'ü (% 5,6) amplifikasyon sağlayamazken, 14 primer (% 26,4) bazı genotiplerde başarılı olabilmektedir. Genotiplerin tamamında amplifikasyonu sağlayan 36 primer, toplam 159 adet bant oluşturmuştur. Bu bantların % 56,0'ı 4 genotipte, % 51,6'sı NHM ve PI 296341 de ve % 10,1'i de sadece 3 genotipte polimorfik bulunmuştur.

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

Jarret ve ark. (1997), Afrika, Avrupa, Asya ve Meksika kökenli, morfolojik olarak birbirinden farklı 33 adet karpuz genotipi arasındaki genetik çeşitliliği SSR markörleri ile değerlendirmişlerdir. Kullanılan 8 adet SSR primerinden 7'si başarıyla amplifikasyon vermiş ve elde edilen allel sayısı 3-7 arasında değişmiştir. Kümeleme (cluster) analizleri sonucunda *Citrullus* genotiplerinin çoğunun birbirinden ayrıldığı tespit edilmiş ve % 25 genetik benzerlik seviyesinde 4 grup oluşmuştur. En büyük grup *C. lanatus* var. *lanatus* genotiplerini içermektedir ve kendi içerisinde 4 alt gruba ayrılmıştır. Genetik benzerlik bakımından birbirine en yakın genotipler bu grupta yer almakla birlikte, genotiplerin coğrafi kökeni veya meyve et rengi gibi özellikler ile alt grupların oluşması arasında herhangi bir korelasyon bulunmamıştır. Çalışmada yer alan 3 adet egusi tipi genotip de *C. lanatus* var. *lanatus* genotipleri ile birlikte gruplanmıştır. Bu genotiplerin meyve eti açık renkli olup, tohumları tipik bir şekilde yuvarlak ve ten rengidir. Kümeleme analizlerinde egusi tipi karpuzların *Citrullus lanatus* var. *lanatus* genotipleri ile birlikte gruplanması, egusi tipine özel morfolojik karakterlerin ifadesinde az sayıda genin rol aldığı düşüncesini ortaya koymaktadır. İkinci büyük grup ise "citron" olarak da adlandırılan *C. lanatus* var. *citroides* alt türünün yabani ve kültüre alınmış genotiplerinden oluşmaktadır. Bu grupta yer alan genotiplerin tamamı Güney

Afrika kökenli olup, meyve etleri açık (beyaz veya sarı) renklidir ve bazıları karpuz hastalıklarına dayanıklıdır. Dördüncü grup da *C. colocynthis* türüne ait tek bir genotipten oluşmaktadır.

Garcia ve ark. (1998), 7 kavun çeşidine ait 32 hat arasındaki genetik akrabalıkları belirlemek için RAPD markörleri ve tarımsal özellikleri kullanmışlardır. Çalışmada İspanya'da en çok yetiştirilen çeşitlerden Galia ve Piel de Sapo genotipleri de yer almıştır. Araştırmacılar, genetik farklılığın hesaplanması ve kümeleme analizleri için 24 tarımsal özellik ve 43 primerden toplam 115 güvenilir bant skorlamışlardır. Hatlar arası genetik akrabalıklar değerlendirildiğinde, tarımsal özellikler ve RAPD arasında uyum olduğu gözlenmiştir.

Garcia-Mas ve ark. (2000), çalışmalarında kavunda genetik çeşitliliğin belirlenmesinde RAPD, RFLP ve AFLP markörlerinin karşılaştırmasını yapmışlardır. Moleküler markörlerin 3 farklı tipi olan RAPD, RFLP ve AFLP'yi kavunun (*Cucumis melo* L.) 6 genotipi arasında genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanmışlardır. Her hat farklı bir kavun genotipi ile temsil edilmiş olup, bunlar; Piel de Sapo, Ogen, PI 161375, PI 414723, *Agrestis* ve C105'dir. Polimorfik RAPD, RFLP ve AFLP bantlarını bütün materyaller için skorlamışlardır. Elde edilen verilerden 3 markör sisteminin de eşit seviyede bilgi verici olduğu, AFLP'nin ise polimorfizm belirlemede en etkili yöntem olduğu belirlenmiştir. Lopez-Sese ve ark. (2002), çoğunluğu *inodorus* grubundan olan 15 İspanyol kavun çeşidinin populasyon yapısını 12 SSR lokusu allelik varyasyonu ve 36 primer tarafından üretilen 100 RAPD bandı kullanılarak değerlendirmişlerdir. Sonuçta RAPD markörleri kullanılarak oldukça yüksek düzeyde polimorfizm elde edilmiş ve 8 SSR lokusunun da, çeşitleri ayırmada yararlı olduğu bulunmuştur. Araştırmacılar oldukça yüksek düzeyde heterojenite elde etmişlerdir. Bununla beraber denenen İspanyol kavunlarının oldukça geniş bir genetik temele sahip oldukları tespit edilmiştir.

Katzir ve ark. (2000), *Cucurbita pepo*'da yaptıkları çalışmalarında ISSR yöntemiyle 90 polimorfik bantta, SSR yöntemiyle 50 bantta 28 farklı genotipin birbirinden farklılıklarını cluster analizi ile belirlemişlerdir. *Cucurbita pepo*'nun 28 farklı örneği üzerinde yapılan bu çalışmada kavuna ait 50 SSR primerinden yedisi (%14) fonksiyonel ve polimorfik bulunmuştur. Bu yedi primerden dördü (CMGA15, CSGA057, GMTC51 ve CMTG17) hiç allel vermezken, bir primer (CMCT160a) iki allel ve diğer iki primer (CMAG59 ve CSCTTT15a) üç allel vermiştir ISSR'da ise, 90 polimorfik bant değerlendirilmiş ve en bilgi

verici ISSR primerlerin 841 ve 842 no'lu primerler olduğu anlaşılmıştır (sırasıyla 20 ve 21. polimorfik bantlar). Bu çalışmaların sonucunda SSR primerlerinin *Cucurbita pepo*'nun akrabalık ilişkilerini belirlemede çok daha iyi bir markır sistemi olduğu anlaşılmıştır.

Paris (2001), İsrail'deki New Ya'ar Araştırma Merkezi'ndeki yazlık kabak (*Cucurbita pepo*) koleksiyonunda 320 adet genotipin yer aldığını bildirmektedir. Genotiplerin 133 adeti hibrit, 187 adeti açık tozlanan ticari çeşitlerden, yöresel genotiplerden ve yabani formlardan oluşmaktadır. Genotiplere ait bitkilerde gövde rengi, yaprak şekli ve rengi, yapraklarda gümüşlenme, gelişme tabiatı, meyve şekli, meyve rengi ve diğere bazı karakterlerin gözlemleri yapılmıştır. Bu gözlemler sonucunda genotipler alt türlerine ve çeşit gruplarına göre sınıflandırılmıştır.

Danin-Poleg ve ark. (2001), tarafından genetik çeşitlilik çalışmalarında kullanılmak üzere *Cucumis* türlerinde toplam 61 SSR markörü geliştirilmiştir. Bunların 46 adedi kavun genomik kütüphanesinden elde edilmiştir. Karakterize edilen markörlerin 40'ı (30 kavun ve 10 hıyar SSR'ı), 13 kavun ve 11 hıyar (*Cucumis sativus* L.) genotipinde polimorfizmin tespiti için kullanılmıştır. Primer başına kavunlarda en fazla 6, hıyarlarda ise 5 adet allel belirlenmiş, genetik uzaklık değerleri de kavun için 0.52 ve hıyar için 0.28 bulunmuştur. Değerler arasındaki bu fark, hıyarın dar olarak bilinen genetik temeliyle uyumludur. 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.

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

arasında yüksek korelasyonlar elde edilmiştir ($p < 0.01$). Araştırmacıların bu çalışmaları sonucunda *Cucurbita pepo* içindeki üç alt türün (*fraterna*, *texana*, ve *pepo*) morfolojik özellikleri ile moleküler bulgular arasında uygunluk tespit edilmiştir. *Cucurbita pepo* subsp. *fraterna*, *C. pepo* subsp. *texana*'ya daha yakın, *C. pepo* subsp. *pepo*'ya daha uzak bulunmuştur. *Cucurbita pepo*'daki DNA polimorfizmi iki yüksek poligenik karakter olan meyve boyutu ve meyve şekli için fenotipik varyasyonla oldukça uyumlu çıkmıştır.

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

Zhuang ve ark. (2004), farklı *Cucumis* türleri (*C. sativus* var. *sativus* L., *C. sativus* var. *hardwickii* (R.) Alef., *C. hystrix*, *C. hystrix* Chen & Kirkbride, *C. Melo* ve *C. Metuliferus* Meyer and Naudin) arasındaki genetik ilişkileri belirlemek için RAPD ve SSR markörlerini kullanmışlardır. 31 RAPD primerinden 200-3200 bp aralığında % 96'sı polimorfik toplam 398 bant elde edilmiştir. SSR analizlerinde ise 15 SSR primeri 109 bant üretmiştir. Bu primerlerden 14'ü *C. sativus* var. *sativus*'da amplifiye olmuş ve 9'u (% 64) polimorfik olarak belirlenmiştir. Her bir SSR'dan 1 ile 8 arasında olmak üzere toplam 55 allel elde edilirken, *C. s. var. hardwickii*'de 41 allel, *C. hystrix*'de 53 allel elde edilmiştir. *C. hystrix*'de 15 primerin 12'si (% 80) amplifiye olmuş ve 31 adet allel üretmiştir. *C. melo*'da ise primerlerin % 57'si polimorfik olup, toplam 53 allel tespit edilmiştir. *C. melo* var. *conomon*, *C. melo* var. *agrestis* ve *C. metuliferus* türlerinde ise sırasıyla 38, 35 ve 29 adet allel amplifiye olmuştur. Araştırma

sonucunda, SSR ve RAPD markörleri kullanılarak belirlenen genetik ilişkiler yüksek oranda uyumlu ($r=0.94$) bulunmuştur. SSR ve RAPD analizleri 22 adet genotipi CS ve CM olarak iki ayırmıştır. CS grubu; 11 adet *C. sativus* genotipi ile *C. hytivus* ve *C. hystrix* genotipleri, diğer grup CM ise 6 adet *C. melo* genotipi ile *C. metuliferus*'u içermektedir. SSR ve RAPD markörleri ile *C. hystrix* ve *C. sativus* arasındaki genetik farklılıklar sırasıyla 0.59 ve 0.57, *C. Hystrix* ve *C. melo* arasında ise 0.87 ve 0.70 olarak tespit edilmiştir.

Paris (2004), son çalışmalarında AFLP, ISSR ve SSR markörlerini kullanarak özellikle kültür formların ağırlıklı olarak yer aldığı, *Cucurbita pepo* içindeki 45 genotipin genetik ilişkilerini tayin etmeye çalışmışlardır. Araştırmacılar bu çalışmalarında 14 AFLP primer kombinasyonundan 18 ile 55 arasında bant elde etmişler ve bunlardan 10 ile 32 kadarını polimorfik bulmuşlardır. Elde edilen toplam 448 kolay skorlanabilir banttın 280'si (%63) polimorfik bulunmuştur. Altı SSR primerinin kullanılmasıyla üretilen sırasıyla 16 ile 30 arasındaki güvenilir şekilde skorlanabilen bantların sayısından 15 ile 23 arası polimorfik bant bulunmuştur. Araştırmacılar toplam 147 ISSR bantının 108'ini (%74) polimorfik bulmuşlardır. Bu çalışmada yedi *Cucumis* SSR primeri amplifiye edilmiş toplam 20 polimorfik, farklı, skorlanabilir bant elde edilmiştir. Böylece, sonuçta temel veriler büyük sayıdaki AFLP bantı, orta sayıda ISSR bantı ve göreceli olarak az sayıda SSR bantından oluşturulmuştur. AFLP, ISSR ve SSR verilerinden elde edilen dendogramlar ve genetik uzaklık matrisleri benzer bulunmuştur. Uygulanan Mantel testlerin korelasyon katsayıları AFLP ve ISSR arasında 0.95, AFLP ve SSR arasında 0.78 ve ISSRs ile SSRs arasında 0.77 bulunmuş ve bu üçünün de istatistiksel önemi ve güvenilirliği yüksek ($P<0,000001$) çıkmıştır. Sonuç olarak bu çalışmada yüksek derecede poligenik karakter olan meyve büyüklüğü, AFLP ve SSR markörlerinden elde edilen sonuçlarla yenilebilir meyveli formların, büyük meyveliler; pumpkin ve squash, süs ve yabani formlardan, küçük meyveliler; gourd olarak ayrıldığı görülebilmektedir. Ayrıca diğer bir yüksek derecede poligenik karakter olan meyve şekli bakımından, *Cucurbita pepo* 'nun yenilebilir meyveli formları sekiz çeşit- grubu ayrımı da (Paris, 1986) , üç DNA markör tipiyle alınan sonuçlara yansımıştır.

Düzeltir (2004), çekirdek kabaklarında (*Cucurbita pepo* L.) 2003 ve 2004 yıllarında ilk yıl 20 ve ikinci yıl 9 olmak üzere toplam 29 kendilenmiş çekirdek kabağı hattında morfolojik özelliklere göre tanımlama ve seleksiyon çalışmaları yapmıştır. Araştırmacı daha önceki çalışmalarda umutvar olarak belirlenmiş hatlarda çeşit tanımlamaya yönelik bitki, yaprak, çiçek, genç meyve olgun meyve, tohumluk meyve ve tohum özellikleri belirlemeye ve

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

Nakata ve ark. (2005), beş tohum firmasından temin ettikleri 67 kavun (*Cucumis melo* L.) çeşidi arasındaki genetik çeşitliliği 25 RAPD primeri kullanarak değerlendirmişlerdir. Bu genotipler 8 market sınıfından oluşan 3 varyeteye (var. *cantalupensis* market sınıfları Earl's, House, Galia, Charentais, ve Ogen, var. *inodorus* Honeydew ve Casaba melons, var. *conomon* market sınıfı Oriental) aittir. Bu genotipler arasındaki genetik çeşitliliği referans çeşitlerle karşılaştırarak belirlemeye çalışmışlardır. 15 Japon oryantal kavun çeşidinden 11'i Güney Afrika referans çeşitleriyle birlikte aynı grupta yer almıştır. Japon *conomon* genotipleri Casaba ve Honeydew çeşitleriyle birlikte gruplanmıştır. Sonuç olarak yabani türlerden kültüre alınan kavun tipleri arasında genetik farklılıklar tespit edilmiştir.

Sensoy ve ark. (2007), tarafından yapılan bir çalışmada, Türkiye'nin değişik bölgelerinden toplanmış olan toplam 56 kavun genotipi ve toplam 23 yerli ve yabancı genotip, hem fenotipik hem de moleküler özelliklerine bakılarak incelenmiş ve kavunların genetik akrabalık düzeyleri araştırılmıştır. Fenotipik yöntemde, kavun genotiplerine ait toplam 61 adet ölçüm veya gözlemden yararlanılmış; moleküler yöntemde ise 33 primerden elde edilen 109 adet polimorfik RAPD markörü kullanılmıştır. Kavun genotipleri arasındaki genetik akrabalık dereceleri, fenotipik ve moleküler veriler kullanılarak elde edilen değişik matrislerden dendrogramlar oluşturularak incelenmiştir.

Sarı ve ark. (2007), 134 adedi Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan, 172 adedi Menemen Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan ve yabani türlerin de ABD'den (USDA) temin edildiği toplam 326 karpuz genotipinde RAPD markörleriyle genetik karakterizasyon yapmışlardır. Çalışmada 22 adet RAPD primeri kullanılmış, bunlardan büyüklükleri 250-2200 bp arasında değişen toplam 241 adet bant elde edilmiş ve polimorfizm oranı % 60.6 bulunmuştur. Kümeleme (Cluster) analizi sonuçlarına göre yabani türlere ait

genotipler ayrı bir grup oluştururken, diğer genotiplerin çoğu birlikte gruplanmış ve genetik olarak birbirlerine yakın bulunmuşlardır.

Gülşen ve ark. (2007), yaptıkları çalışmalarında SRAP ve fenotipik markır kullanarak Türk bamyaya gen kaynaklarında genetik farklılık ve akrabalıkları belirlemeye çalışmışlardır. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışmada 21 Türk orijinli ve ikisi rastgele seçilmiş ABD orijinli olmak üzere toplam 23 genotip kullanmışlardır. SRAP tekniğini kullanarak yaptıkları araştırmada ileri ve geri olmak üzere 39 primer kombinasyonu kullanarak 97 skorlanabilir markır elde etmişlerdir. Bu markırların %50' si 23 genotipin tümü için polimorfik bulunmuştur. 23 genotipte 17 genotip dışındaki genotipler diğer her bir genotipten 0.93 benzerlik oranıyla ayrılmıştır. Fenotipik markır olarak 33 kalıtlanabilir özellik arazide 10 replikasyon ile değerlendirmiş ve bunların 28'i polimorfik bulunmuştur. Araştırmacılar 33 fenotipik markır ile yaptıkları UPGMA analizi sonucunda hazırladıkları dendogramda tüm genotipleri ayırabilmişler ancak bamyaya genotipleri arasında coğrafik ilişkilerin çok net ayrılmadığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak SRAP tekniğinin markır yardımcı seleksiyonda, genetik haritalamada ve evrim çalışmalarında çok yararlı bir teknik olduğunu bildirmişlerdir.

Gong ve ark. (2008), kabaklarda (*Cucurbita*) mikrosatellit (SSR) markörleri geliştirmiş ve bunların türler arası kullanım olanaklarını araştırmışlardır. Bu amaçla *C. pepo* subsp. *pepo* çeşidi Ölkürbis'in ve *C. moschata* çeşidi Solar'ın SSR'lerle zengin kısmi genomik kütüphaneleri oluşturulmuş ve 2400 klon sekanslanmıştır. Bu sekansların 1058 adedi (% 44) SSR içermiş ve 532 SSR primeri dizayn edilmiştir. Primerlerden toplam 500 adet (193 adet *C. pepo*, 307 adedi *C. moschata*) allel elde edilmiştir. Geliştirilen SSR markörlerinin türler arası aktarılabilişliğini araştırmak için 3 adet *C. moschata*, 1 adet *C. ecuadorensis* ve 8 çeşit grubunu temsil eden 8 adet *C. pepo* genotipinden oluşan toplam 12 genotip kullanılmıştır. *C. pepo*'dan geliştirilen 193 primerin 155 adedi (% 80.3) polimorfik olup, 2-9 arasında allel üretirken, *C. moschata*'dan geliştirilen 307 primerin 250 adedi (% 81.4) polimorfik olarak tespit edilmiş ve 2-7 arasında allel oluşturmuştur. Her iki türde lokus başına düşen ortalama allel sayısı 3.3'dür. Toplamda geliştirilen 500 primerin 405'i (% 81) polimorfik bulunmuştur. Geliştirilen 193 *C. pepo* SSR markörünün 147'si (% 76.2), 307 *C. moschata* SSR markörünün 215'i (% 70) *C. ecuadorensis* türüne aktarılabiliş ve çoğu durumda sadece tek bir allel elde edilirken SSR'lerin *C. pepo* *C. moschata* arasında transferi daha yüksek oranlarda bulunmuştur. *C. Pepo* SSR'lerinin % 88'i *C. moschata*'da kullanılabiliş olup, bunların % 30.1'i 3 adet *C. moschata* genotipi arasında polimorfik

bulunmuştur. *C. moschata*'dan elde edilen SSR'ların ise % 87.3'ü *C. pepo*'da kullanılabilir olup, % 50.5'i 8 adet *C. Pepo* genotipinde polimorfizm üretmiştir. Sonuç olarak geliştirilen SSR'ların türler arasında yüksek oranda transfer olabileceği ortaya konmuştur.

2.5. Kabak Çekirdeğinin Kalite Özellikleri

2.5.1. Kabak çekirdeği besin öğeleri

Yağlı tohumlardan olan kabak çekirdeği diyet için gerekli olan besin ve kalori değerlerine büyük oranda sahiptir. Yağlar ürünü hem aroma hem de doyuruculuk açısından daha tatmin edici hale getirir. Yapılan çalışmalarda kabak çekirdeğinin % 25,2–37,0 protein ve % 37,8–45,4 oranında yağ içerdiği tespit edilmiştir (Sacilik 2006, El-Adawy ve Taha 2001). Yapılan sınırlı çalışmalar göstermektedir ki kabak çekirdeği yağı yüksek miktarda doymamış ve yarı-kuru bir yağdır. Yüksek protein ve enerji kaynağı olması açısından konsantre bir besin kaynağı olarak kabak çekirdeğinin kullanılabilmesi belirtilmektedir. Kabak çekirdeği çoğu ülkede kavrulduktan sonra tuzlanarak çerezlik olarak tüketilmektedir. Kabuksuz kabak tohumlarından çıkarılan yağ ise salata yağı olarak kullanılmaktadır (Sacilik 2006). Kabak çekirdeği proteinleri nötr bölgede asidik bölgeye göre daha kolay çözünebilir. Bu sebeple bu tohumlar bisküvi, ekmek ve et ürünleri gibi gıdaların formülasyonlarına rahatlıkla katılabilir (Olaofe 1994).

Kabak çekirdeği tohumları birçok mineral, vitamin, yağ ve antioksidan içeren çok önemli bir besin kaynağıdır. 34,5 g kabak çekirdeği tavsiye edilen günlük E vitamini ihtiyacının yaklaşık 1/3'ini karşılamaktadır. İçerdiği besin öğeleri bakımından Mg, Mn ve P için çok iyi; Fe, Cu, protein, tekli doymamış yağ ve çinko açısından kabak çekirdeği iyi bir kaynaktır (Çizelge 2.1). 34,5g kabak çekirdeği ile günlük Mg ihtiyacının %46,1'i, Fe ihtiyacının %28,7'si, Mn'in %52'si, Cu'nun %24'ü, E vitamininin %30,8'i, proteinin %16,9'u, tekli doymamış yağların %19,7'si ve çinkonun da %17,1'ini karşılanabilmektedir. Diyet lifi açısından da zengin olmakla beraber arginin ve glutamik asit gibi amino asitleri yüksek oranda ihtiva etmektedir. Kabak çekirdeği diğer yağlı tohumlarla karşılaştırıldığında K vitamini, E vitamini, magnezyum, fosfor, çinko ve potasyum içeriği açısından oldukça zengindir (Çizelge 2.1). Kabak çekirdeği bu özelliklerinden dolayı fırın ürünleri ile et yemeklerinde sıklıkla kullanılmaktadır.

Çizelge 2.1. Kabak çekirdeğinin (34,5 g) besin içeriği ve günlük ihtiyacı karşılama oranları (% DV -Daily Value- Günlük kalori ihtiyacı 2000 kalori referans alınarak hesaplanmıştır) (Anonim 2006b)

	Miktar	%DV		Miktar	% DV
Kalori	186,7 kcal	9,3	Folik Asit	19,8 µg	5
Toplam Karbonhidrat	6,1 g	2	Pantotenik Asit	0,1 mg	1,2
Diyet Lifi	1,35 g	5,4	Kalsiyum	14,8 mg	1,5
Toplam Yağ	15,8 g	24,2	Demir	5,2 mg	28,7
Doymamış Yağ	3 g	15	Magnezyum	184,6 mg	46,2
Protein	8,47 g	17	Fosfor	405 mg	40,5
Vitamin A	131,1 mg	2,6	Potasyum	278,5 mg	8
Vitamin C	0,7 mg	1,1	Sodyum	6,21 mg	0,3
Tiamin (B1)	0,1 mg	4,7	Çinko	2,6 mg	17,1
Riboflavin (B2)	0,1 mg	6,5	Bakır	0,5 mg	24
Niasin (B3)	0,6 mg	3	Mangan	1 mg	52
Vitamin K	17,7 µg	22,3	Selenyum	1,9 µg	2,8
Vitamin B6	0,1 mg	4	Kolesterol	0	-
Vitamin E	4,62 mg	30,8			

Çizelge 2.2. Kabak çekirdeğinin (34,5g) besin içeriklerinin bazı tohum ve cerezlerle karşılaştırılması (Anonim 2006a,b,c,d,e,f,g)

	Kabak Çekirdeği	Ayçiçeği	Fındık	Ceviz	Yer fıstığı	Soya
Vitamin K (µg)	17,7	0,9	4,9	0,9	-	12,8
Vitamin E (mg)	4,62	9,0	5,3	8,1	2,9	-
Selenyum (µg)	1,9	27,5	0,8	1,7	2,5	6,7
Demir (mg)	5,2	1,4	1,62	1,0	1,6	6,9
Magnezyum (mg)	184,6	44,5	56,2	54,1	58,0	78,6
Fosfor (mg)	405	398,4	100	152,1	129,7	223,9
Çinko (mg)	2,6	1,9	0,8	1,1	1,1	1,7
Bakır (mg)	0,5	0,6	0,6	0,6	0,4	0,4
Mangan (mg)	1	0,7	2,1	1,2	0,7	0,8
Potasyum (mg)	278,5	293,3	234,6	152,1	243,2	470,6

Kabak çekirdeği yağı antioksidanlar, esansiyel yağ asitleri gibi yararlı besin öğeleri, β -karoten, lutein, α , β ve γ -tokoferol, fitositeroller ve selenyum içermektedir (Zuhair ve ark. 1997). Kabak çekirdeğinin E vitamini bileşiminde γ -tokoferol miktarı α -tokoferole göre 2-10 kat daha fazladır (Murkoviç ve Prannhauser 2000). Yapılan çalışmalarda kabak çekirdeği yağının yenilebilir yağlar içinde en yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. Bu durum daha çok tokoferol gibi klasik antioksidan içeren yağlardan ziyade yağın kutupsal fraksiyonundan kaynaklanmaktadır. γ -tokoferol α -tokoferole göre % 37 daha yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir. Bunun sebebi γ -tokoferolün birincil oksidasyon ürünlerine rağmen antioksidan özelliği gösterirken α -tokoferolün gösterememesidir. Kabak çekirdeği yağında antioksidan kapasitenin % 59'u kutupsal fenoliklerden gelirken % 41'i tokoferollerden kaynaklanmaktadır (Fruhworth ve ark. 2003).

Yağ asidi kompozisyonu birçok faktöre (tür, yetiştirme bölgesi, iklim, olgunluk durumu) bağlı olarak değişmektedir. Kabak çekirdeği yağı doğal yapısı itibariyle zengin bir doymamış yağ asidi bileşime sahiptir. Bu özelliği ile diğer yemeklik yağlara alternatif olarak kullanımı ümit vaat etmektedir. Doymamış yağ asitlerinin toplam yağ asidi bileşimine oranı %78-79 civarındadır. Bazı çeşitlerde bu oran %81,6-82,7 arasında olmaktadır. Soya yağı için bu oran %75 iken yer fıstığı için %78'dir (Younis ve ark. 2000). Kabak çekirdeği yağında baskın olan dört yağ asidi palmitik (%9,5-14,5), stearik (%3,1-7,4), oleik (%21-46,9) ve linoleik (%35,6-60,8) asittir ve kabak çekirdeğinin toplam yağ asidi bileşiminin %98'ini bu asitler oluşturmaktadır (Çizelge 2.3 Tablo 1.3.). Kabak çekirdeği ve yağının stabilitesini linoleik asit kuvvetli bir şekilde etkilemektedir. Linoleik asit, oksidasyonu hızlandırarak yağın çabuk acılaşmasına ve dolayısıyla raf ömrünün kısalmasına neden olmaktadır. Yağ asidi kompozisyonu içinde linoleik asidin oransal olarak azalması ve oleik asidin buna bağlı olarak artması ile ürünün raf ömründe bir uzama geçekleşmektedir (Younis ve ark. 2000, Murkoviç ve Prannhauser 2000)

Çizelge 2.3. Kabak çekirdeği yağ asidi kompozisyonu (Anonim 2006b)

Yağ asidi	Yağ İçeriğindeki oranı (%)
Palmitik asit	9.5-14.5
Stearik asit	3.1-7.4
Oleik asit	21-46.9
Linoleik asit	35.6-60.8

2.5.2 Kabak çekirdeği tüketiminin sağlık üzerine etkileri

Kabak çekirdeği içerisinde yüksek oranda bulunan K vitamini kanın pıhtılaşması için gerekli olan protrombinin yapımında görevlidir. Ayrıca kemiklerin sağlıklı olması ve kırıkların iyileşmesi için gerekli bir vitamindir (Kümeli 2006, Baysal, 1999).

Kabak çekirdeğinde önemli miktarda bulunan potasyum sinir sistemi ve kasların duyarlılığında spesifik etkiye sahiptir. Potasyum ayrıca intrasellüler basınçtan sorumludur, sinir ve kasların duyarlılığında spesifik etkiye sahiptir ve sodyumla birlikte hücrelerin asit-baz dengesini gerçekleştirmektedir (Damon ve ark. 2005, Demirci 2005).

Kemik oluşumu ve bakımı ile bağ dokuları için oldukça gerekli olan mangan, protein ve genetik malzemelerin sentezine katkıda bulunarak besinlerden enerji üretmeye yardımcı olur (Berdanier 1998). Vücut içerisinde birçok enzimin yapısında bulunması yanında kemik ve kırıldak metabolizmasında da önemli role sahiptir. Ayrıca bağ dokusunun oluşumu, lipit ve karbonhidrat metabolizması için de gereklidir. Mangan içeren süperoksit dismutaz hücreyi kimyasal etkilerden ve radyasyonun oluşturduğu karsinogenesizden korur (Demirci 2005).

Vücudumuz için zorunlu minerallerden biri olan fosfor kemik ve dişlerin oluşumunda büyük rol oynar. Doku tamirinde, büyüme için gerekli olan proteinin sentezinde, karbonhidrat ve yağların vücut tarafından kullanılmasında etkisi vardır, hücre zarının anahtar ögesidir (Demirci 2005). Ayrıca enerjinin depolanması ve kullanılmasında gerekli olan ATP' nin yapı taşıdır. B vitamini ile birlikte çalışır, kas kasılmasına, böbreklerin faaliyetlerine, kalp atımının düzeninin sürdürülmesine ve sinir iletilerine yardımcı olur (Berdanier 1998).

Kabak çekirdeğinin önemli mineral içeriğinden birisi olan demir, birçok enzim için hayati bir bileşendir (Demirci 2005). Hastalıklara direnci artırır, yorgunluğu azaltır ve kanın kırmızı hücrelerinin oksijenlenmesini sağlar. Hemoglobinin bileşiminde bulunan demir, ATP oluşum siteminde ve kaslardaki miyoglobinin yapısında da görev almaktadır (Berdanier 1998). Ayrıca bağışıklık sistemi için de önemli bir mineraldir. Vücut için bu denli önemli olan demir kabak çekirdeğinde bir insanın günlük gereksinmesini karşılayacak düzeyde bulunmaktadır. Kabak çekirdeğindeki önemli minerallerden bakır da vücut için gerekli iz elementlerden birisidir. Sinir sisteminin faaliyetlerinin düzgün devam etmesinde ve enerji

metabolizmasındaki enzimlerin aktivasyonunda görev almaktadır (Baysal 1994, Berdainer 1998).

Kabak çekirdeği özellikle, prostat büyümesinden kaynaklanan idrar zorluğuna karşı kullanılmaktadır. Kabak çekirdeği yapısında, vücut içerisinde testosteronun, kendisinin çok daha güçlü bir formu olan dehidrotestesteron hormonuna dönüşmesini engelleyen kukurbitin adındaki kimyasal bir maddeyi bulundurmaktadır. Bu bileşiğin miktarı türe ve çeşide bağı olarak %0,5 ile %2 arasında değişmektedir (Anonim 2006). Dehidretesteron olmaksızın vücudun testosteron hücrelerini artırması zorlaşmakta, dolayısıyla prostat büyümesi bu sayede engellenmiş olmaktadır. Yapılan birçok araştırmada Prostatik Hiperplasia hastalığına karşı kabak çekirdeği ile çok başarılı sonuçlar elde edildiği belirtilmektedir (Anonim 2006a, Stuart 2006). Yağ eldesi amacıyla kullanılan kabuksuz kabak çekirdeklerinin prostat tedavilerinde kullanılması ile iyi sonuçlar alınmıştır (Sacilik 2006). Kabak çekirdeğinin bu şekilde bir prostat koruyucu role sahip olması, aslında çinko içeriğinin yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Çinko, tıp dünyasında prostat büyüklüğünü azaltmak amacıyla kullanılan bir mineraldir (Anonim 2006a). Ayrıca çinkonun bağışıklık sisteminin düzenli çalışabilmesi için gerekli olduğu ve yaraların iyileşmesinde etkisi olduğu ve insülin hormonunun da yapısında bulunduğu bildirilmektedir (Baysal 1999, Demirci 2005).

Magnezyumun kas ve sinir fonksiyonlarının yürütülmesi, kemiklerin güçlendirilmesi, kalp ritminin düzeninin sağlanmasında önemli bir görev üstlenmektedir. Kemik ve dişlerin yapısında kalsiyum ve fosforla birlikte bulunur. Birçok enzimin çalışması için gerekli bir mineraldir. Kan basıncının düzenlenmesine yardımcıdır (Berdainer 1998, Anonim 2006).

Toplumların yüksek oranda doymuş yağ içeren gıdalar tüketmeleri koroner kalp hastalıklarının artmasına sebep olmaktadır. Epidemolojik çalışmalar göstermiştir ki gıdalarda, linoleik ve oleik asit gibi doymamış yağ asidince zengin yağ kullanımının artması ile koroner damar hastalıklarının azalması arasında doğrusal bir bağıntı bulunmaktadır (Stuart 2006, Zuhair ve ark. 1997). İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda diyetle yüksek miktarda linoleik asit içeren soya yağı kullanımı sonucu koroner damar hastalıklarından ölümlerin kayda değer bir şekilde azaldığı görülmüştür (Younis ve ark. 2000). Damar sertliğini önlemede yardımcı olan linoleik asit de kabak çekirdeğinde yüksek oranda bulunmaktadır (Anonim 2006a).

Güçlü bir antioksidan olan E vitamini, kalp hastalıklarını önlemede etkilidir; kanın damar içinde pıhtılaşmasını engelleyerek, damar sertliğini ve tıkanıklığını önler, kansere karşı koruyucudur, vücudun oksijeni kullanmasına yardım eder, yaraların iyileşmesini hızlandırır ve hücre zarının okside olarak erken bozulmasını engelleyerek hücre zarı ve hücreyi sağlıklı kılar. Son araştırmalar, E vitamininin Alzheimer ve Parkinson hastalıklarına karşı da koruyucu olduğunu ispatlamıştır (Department of Health and Human Services 2005).

Kabak Uygur tıp kitaplarında birçok hastalığa ilaç olarak tavsiye edilmektedir. Ayrıca kansere karşı ilaç elde etmek için de uğraşmaktadır. Çin'de de depresyon tedavisinde kullanılmaktadır. (Loy 2006). Kabak ve çekirdekleri Hindistan ve Meksika gibi çoğu ülkede uzun yıllardır geleneksel bir ilaç olarak kabul edilmekte ve bağırsak kurtlarına karşı, idrar söktürücü olarak, prostat büyümesini ve kanserini engellemede, mide kanserine karşı, kadmiyum zehirlenmelerinde, bağırsak yumuşatıcı olarak, akciğer rahatsızlıklarının tedavisinde ve idrar yolu hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Younis 2000, Stuart 2006).

Bitkilerde bulunan ve kolesterole çok benzer yapıda olan fitosterollerin diyetlerde yeterli miktarda bulunması halinde kandaki kolesterol seviyesini düşürdüğüne ve bağışıklık sistemini güçlendirerek çeşitli kanser risklerini azalttığına inanılmaktadır. Kabak çekirdeğinde 265mg / 100g fitesterol bulunmaktadır (Anonim 2006b).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Çerezlik kabak çekirdeği çalışmasında kullanılmış materyaller ülkemizdeki çekirdek kabağı yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Nevşehir ilinden ve Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü arazisinde yetiştirilen genotiplerden sağlanmıştır. Çizelge 3.1’de çalışmada kullanılan bitkisel materyaller verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bitkisel materyal

No	Kod	Materyalin sağlandığı yer
1	PG 1208	Nevşehir
2	PG 1209	Nevşehir
3	PG 1210	Nevşehir
4	PG 1211	Nevşehir
5	PG 1212	Nevşehir
6	PG 1213	Nevşehir
7	PG 1214	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü
8	PG 1215	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü
9	PG 1216	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü
10	PG 1217	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü

3.2 Yöntem

Araştırmada kullanılan materyallerin kalite özelliklerine etki eden faktörlerin araştırılması amacıyla fiziksel ve kimyasal özellikleri (nem miktarı, yağ miktarı, protein miktarı ve yağ asidi kompozisyonu) incelenmiştir. Buna ek olarak da moleküler markırlarla (RAPD) genetik uzaklıkları tespit edilerek tüm bu kriterler ışığında çeşitlerin moleküler karakterizasyonu yapılmış, genetik uzaklıklarının kalite unsurları üzerine etkisi araştırılmıştır. Yapılan tüm çalışmalar aşağıda verilmiştir.

3.2.1 Kalite özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan metotlar

Kabak çekirdeklerinin kalite özelliklerinin tespiti için analizler Palancı Gıda Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.1. Kabak çekirdeklerinde fiziksel özelliklerin tespiti

Seçilen kabak çekirdeklerinde aşağıda belirtilen fiziksel analizler yapılarak çerezlik tüketim için uygun olanlar belirlenmiştir.

➤ Nem miktarı:

Analiz edilen kabak çekirdeklerinin nem miktarı AOAC 925.40 metoduyla nem tayin cihazı kullanılarak tespit edilmiştir.

➤ Kabuk/iç oranı

Kabak çekirdeğinin kabuk/iç oranı ürünün tüketimi sırasında beğeniye etkileyen önemli faktörlerden birisidir. Araştırma kapsamında yapılmış olan karakterizasyonda çerezlik kabak çekirdeğinin bu özelliğinin belirlenmesi tamamlayıcı etkiye sahip olması açısından önemlidir. Bunu tespit amacıyla kabuk/iç oranı ve kabuk kalınlığı kriterleri incelenmiştir. Bu amaçla hektolitre ve dijital mikrometre cihazları kullanılmıştır.

➤ 1000 tane ağırlığı

1000 tane ağırlığı kabak çekirdeğinin tane iriliği ve doluluğuyla doğru orantılı olarak artar. Bu amaçla yapılan analizler araştırma amacına uygun olarak yüksek bin tane ağırlığını hedeflemektedir. Kabak çekirdekleri elek sarsma makinesi ile değişik ölçülerdeki elekler yardımıyla standardize edilmiş ve sayılarak tartımı yapılmıştır.

➤ Tohum büyüklüğü

Analiz edilmek istenen kabak çekirdeği taneleri elek sarsma makinesi ile standart elek çaplarına sahip eleklerden geçirildikten sonra en, boy ve kalınlıkları ölçülmüştür.

3.2.1.2. Kabak çekirdeklerinde kimyasal özelliklerin tespiti

Kabak çekirdeklerinde aşağıda belirtilen kimyasal analizler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar diğer analiz sonuçları ile birlikte değerlendirilerek çerezlik tüketime uygun olan çeşitler seçilebilmiştir.

➤ **Yağ tayini:**

Kabak çekirdeklerinin yağ miktarını tespiti için AOAC 948.22 analiz metodu ile soxhlet prensibiyle çalışan yağ tayin cihazı kullanılmıştır. 40–60 °C kaynama sıcaklığına sahip çözügenle örneklerin muamele edilmesi ve yapıdaki yağın bu şekilde uzaklaştırılması ile solvent ekstraksiyonu uygulanmıştır.

➤ **Yağ asitleri kompozisyonunun belirlenmesi:**

Yağ asidi kompozisyonunun belirlenmesi ve özellikle yüksek oleik asit içeren genotiplerin saptanması için öncelikle örnekten bir uygun solvent yardımıyla ekstrakte edilen yağlar AOAC 969.33 metoduyla türevlendirilmiştir. Ardından AOAC 963.22 metodu ile standartlar kullanılarak gaz kromatografisi ile yağ asidi kompozisyonu belirlenmiştir. FID dedektörlü, otomatik enjektörlü ve uygun programla çalışan bir bilgisayara bağlı, gaz kromatografi cihazı kullanılmıştır.

➤ **Mineral tayini:**

Araştırma kapsamında analizi yapılan genotiplerin bakır, demir ve çinko minerallerinin tayini AAS, ICP-OES ve ICP MS metodu ile yapılmıştır.

3.2.2 Moleküler Karakterizasyon

Çalışmanın bu kısımda genotiplerin rastgele seçilmiş bölgelerinin PCR metoduyla çoğaltılması ile genotiplerin bu bölgeleri arasında nükleotid dizilişi bakımından farklılıklardan yararlanarak genetik uzaklıkları belirlenmiştir. Bu amaca ulaşabilmek için PCR ürünleri agaroz jel üzerinde yürütülerek çoğaltılmış bölgelerin oluşturduğu bantların molekül ağırlığındaki farklılıklardan yararlanarak genotiplerin DNA dizilişlerindeki farklılık belirlenmiştir. Eğer genotipler bir birleri ile yakın ilişkili ise, daha fazla bantı ortak olarak paylaşmış olup, birbirleri ile nispeten daha uzak akraba olan genotipler ise, daha az sayıda bantı ortak olarak paylaşmışlardır. Tüm bu genetik çalışmalar, bölümümüzde bu tür analizleri yapmak mümkün olmadığı için Tübitağın Gebze’de bulunan Marmara Araştırma Merkezi’nin, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü, Bitki Gen Teknolojileri Laboratuvar’ından hizmet satın alınarak yapılmıştır.

3.2.2.1 Bitkisel materyalin sağlanması

Kabak çekirdeği tohumları 23.06.2011 tarihinde 45 gözlü viyollere 5'er adet olacak şekilde torf ortamına ekilmiştir. Ekilen tohumlar gün ışığında her gün sulanarak ilk gerçek yapraklı olduğu döneme kadar yetiştirilmiş ve yapraklar istenilen boyuta gelince hasat edilerek genetik karakterizasyon analizlerine başlanmıştır. Bitkilerin fide dönemindeki görünüşleri Şekil 3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Bitkilerin fide döneminde görünüşleri

Genomik DNA izolasyonunda her bir genotipi temsilen 3 yaprak dokusu kullanılmıştır. Elde edilen genomik DNA'lar, PCR reaksiyonları için uygun miktarda olacak şekilde sulandırılmış ve yapılan tüm RAPD analizlerinde hazırlanan bu genomik DNA'lar kalıp olarak kullanılmıştır.

Analizi yapılan örnekler aşağıda belirtildiği biçimde kodlanmıştır.

M- DNA size marker (100 bc)

- 1- 1208 no'lu örnek
- 2- 1209 no'lu örnek
- 3- 1210 no'lu örnek
- 4- 1211 no'lu örnek

- 5- 1212 no'lu örnek
- 6- 1213 no'lu örnek
- 7- 1214 no'lu örnek
- 8- 1215 no'lu örnek
- 9- 1216 no'lu örnek
- 10-1217 no'lu örnek

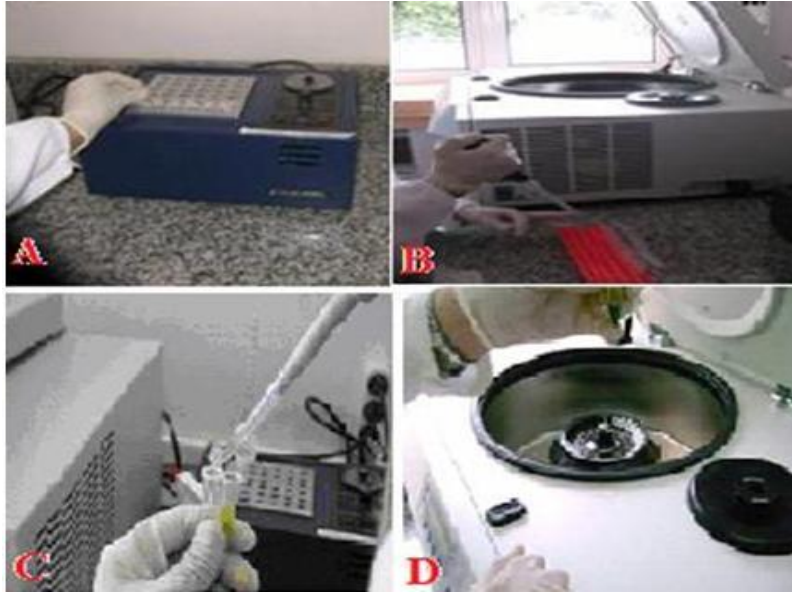
3.2.2.2 DNA izolasyonu

Genomik DNA izolasyonu aşağıdaki prosedüre göre yapılmıştır.

- Taze yapraklardan 0.2 g tartılarak tüplere yerleştirilir ve sıvı azot ile dondurulur. Steril, soğuk havan veya öğütücü cihazlar kullanılarak sıvı azot varlığında toz haline gelene kadar parçalanır.
- Toz haline getirilmiş yaprak dokuları üzerine 0.6 ml ezme tamponu eklenerek tamamen homojen dağılım sağlanana kadar tüpler altüst edilir ve liziz sağlanır. 5 dakika oda sıcaklığında tutularak proteinler, RNA ve diğer moleküllerle kompleks halinde bulunan DNA'nın serbest hale geçmesi sağlanır.
- Üzerine 0.6 ml soğuk fenol eklenen tüpler, birkaç kez tersyüz edilerek iyice karıştırılır. Bu şekilde yıkılan proteinlerin ve hücre atıklarının ölmesi sağlanır.
- Hazırlanan karışım 13000 devir/dakika'da 10 dakika santrifüj edilerek hücre artıkları ve proteinlerin bulunduğu fenollü kısım DNA'nın çözüldüğü sulu fazdan ayrılır.
- Santrifüjün ardından DNA'nın bulunduğu ve tüpün üst kısmında bulunan sıvı kısım pipet yardımı ile dikkatlice alınarak temiz bir tüpe aktarılır.
- Burada bir eksiklik var mı eklenip tüpler tersyüz edilerek iyice karıştırılır.
- 13000 devir/dakika'da 10 dakikalık santrifüj işleminden sonra üst fazı oluşturan ve DNA'yı içeren sulu faz yine pipet yardımıyla yeni bir tüpe aktarılır.
- Üzerine 50 µl 3 M soğuk sodyum asetat ve 1 ml soğuk saf etanol (EtOH) eklenen üst sıvı birkaç kere yavaşça karıştırıldıktan sonra DNA'nın çöktürülmesi amacıyla -70 °C'de 30 dakika bekletilir.

- Süre sonunda 13000 devir/dakika'da 20 dakikalık santrifüj işleminden sonra çöken DNA moleküllerinin tüpün dibinde pellet oluşturduğu gözlenir. Üst sıvı atılarak dipte kalan çökelti 1 ml %75'lik soğuk saf etanol ile 1 defa yıkanır.
- Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra üst sıvısı atılan tüpler temiz bir kaba filtre kağıdının üzerine ters çevirilerek oda sıcaklığında kurumaya bırakılır.
- Kuruyan DNA çökeltisi 50-100 µl steril distile suda ve TE buffer ile çözündürülür. Bu aşamada, elde edilen DNA saf değildir. Bol miktarda RNA'da bulunur. RNA'ların yıkılarak uzaklaştırılması amacıyla 2 µl (2U) RNaz A eklenerek tüpler 37⁰C'de 30 dakika inkübe edilir.
- RNase inaktivasyonu için örnekler 65⁰C'de 10 dakika inkübe edilir.
- İzole edilen DNA'nın miktarının belirlenmesi amacıyla 1/200 oranında distile su ile sulandırılarak spektrofotometrede, 260 nm dala boyunda ölçüm yapılır.

DNA izolasyon işlemi Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. DNA izolasyonu

3.2.2.3 DNA konsantrasyonunun belirlenmesi

Yaprak dokularından izole edilmiş olan DNA'ların konsantrasyonları eşit olmayacağından bundan kaynaklanan problemleri önlemek amacıyla PCR işleminden önce

izole edilmiş olan DNAların konsantrasyonu ölçülerek belirlenmeli ve sonra birbirlerine eşitlenmelidir. Bu amaçla spektrofotometre kullanılmıştır.

Spektrofotometrik DNA analizi aşağıdaki gibi yapılmıştır.

1. DNA konsantrasyonunun ölçümü için dilüsyon hazırlanır (995 ml TE tamponu +5 ml DNA örneği:1/200 sulandırılır). İzole edilen genomik DNA'nın çözündüğü tampon, dilüsyon tamponu olarak kullanılmalıdır ve bu tampon kullanılarak spektrofotometre sıfırlanmalıdır.

2. Karışımlar vortekslenir.

3. Spektrofotometre TE tamponu kullanılarak sıfırlanır.

4. Dilüsyonun 260 ve 280 nm'deki değerleri ölçülür. DNA miktarı aşağıda verilen formüle göre hesaplanır.

$\text{DNA } (\mu\text{l/ml}) = 260 \text{ nm'deki O.D} \times \text{sulandırım oranı} \times \text{katsayı (50)}$

260 ve 280 nm'deki değerler arasındaki oran (260 / 280 O.D) nükleik asitlerin saflığı hakkında da fikir verir. Bu oran iyi saflaştırılmış DNA'da yaklaşık 1.8, RNA'da ise 2'dir. Eğer ortamda fenol veya protein bulunuyorsa oran bu değerlerden düşük olacaktır.

3.2.2.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

PCR reaksiyonları, 0.5 ml'lik mikrotüpler kullanılarak, 30 μl 'lik toplam reaksiyon hacmine sahip PCR makinesi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, son konsantrasyonları; 1x PCR tamponu (10 mM Tris-HCl pH 8.3, 50 mM KCl, %0.01 jelatin), 100 ng genomik DNA, 0.5 mM dNTP, 25 mM MgCl₂, 50 ng primer, 0.5 U Taq DNA polimeraz (Promega) enzimi olacak şekilde bileşenler mikrotüplerde biraraya getirilmiş, son olarak iyice karıştırılan tüplere eşit hacimde mineral yağ eklenmiş ve tüpler; çift iplikli DNA molekülünde denatürasyonun sağlanması için 94°C, primerlerin genomda kendileriyle tamamlayıcılık özelliği gösteren bölgelere bağlanmaları için 35°C, enzimin reaksiyonu kataliz etmesi için 72°C sabit sıcaklık dereceleri seçilmiştir.

Tüpler; 94°C’de 30 saniye, 35°C’de 1 dakika, 72°C’de 1 dakika 45 saniye olan reaksiyon döngülerinden geçirilerek ve son olarak 72°C’de 8 dakika tutularak toplam 35 döngü sonucunda reaksiyon tamamlanmış ve RAPD ürünleri %1.2’lik agaroz jelde yürütülerek fotoğraflanmıştır.



Şekil 3.3 Çalışmada kullanılan PCR cihazı

3.2.2.5. PCR ürünlerinin jel üzerinde yürütülmesi

PCR metodu ile rastgele çoğaltılan ve elde edilen DNA fragmentlerinin belirlenmesinde tüm laboratuarlarda rutin olarak yararlanılan yöntem jel elektroforezidir. Yöntemin en önemli avantajı basit ve hızlı olmasıdır. U.V ışığı altında floresan etki gösteren etidyum bromür (EtBr) boyasının kullanımı ile çok düşük konsantrasyonlarda (1-10ng) olsa bile DNA’nın jel üzerindeki yerini belirlemek mümkündür. DNA’nın elektroforetik analizinin temeli, bu molekülün elektriksel bir alanda, jel üzerindeki göçüne dayanır. Bu göç hızı molekülün büyüklüğüne, yapısına, jelde kullanılan maddenin konsantrasyonuna, iyonik kuvvete ve uygulanan akıma bağlı olarak değişmektedir.

Jel elektroforezinde kullanılan destekleyici madde (matriks) mekaniksel etkiyi engellemek ve molekülleri büyüklüklerine göre ayırmak için kullanılır. Matriks nişasta,

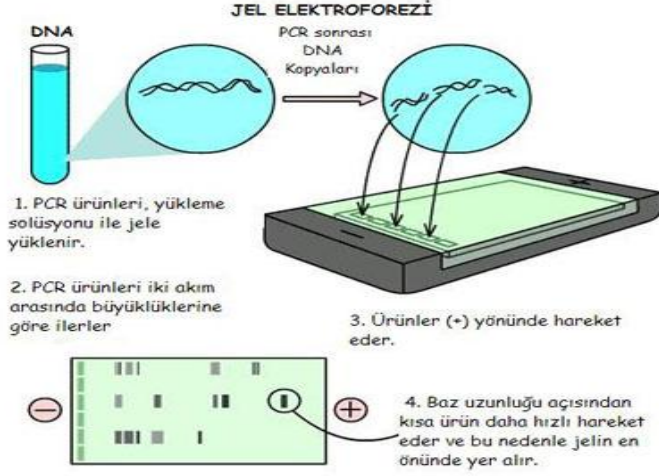
poliakrilamid, agaroz veya agaroz-akrilamid karışımı olabilir. Poliakrilamid jeller genellikle küçük DNA fragmentleri (5-500 baz çifti) ve RNA moleküllerinin ayırımında kullanılır. Bu tip jeller, ayırım güçleri çok fazla olduğundan, boyut bakımından birbirine çok yakın DNA fragmentlerinin analizleri için daha uygundur. Ancak uygulanacak DNA'nın yüksek konsantrasyonda olması gerektiğinden bu tip jellerin kullanılması pratik değildir. Bu nedenle rutin olarak en fazla kullanılan yöntem agaroz jel elektroforezidir.

3.2.2.6 Agaroz jel elektroforezi

Agaroz, bir kırmızı alg türü olan Agar agar'dan izole edilen doğrusal bir polisakkarittir. Agaroz sıcak suda çözünür ve soğutulduğu zaman polimerde karşılıklı hidrojen bağlarının oluşumu ile jel yapısı oluşur. Bu oluşum geri dönüşümlüdür. Ticari olarak üretilen agarozların saflık dereceleri farklı olabilmektedir.

Agaroz konsantrasyonu %0.5-1.5 arasında değiştirilerek jelin por çapı ayarlanabilir. Böylece, küçük DNA fragmentleri için yüksek, büyük DNA fragmentleri için düşük agaroz konsantrasyonu kullanılarak DNA'nın jelde en uygun şekilde yürümesi sağlanabilir. DNA'nın elektrik akımı altında ilerleme hızı kullanılan tamponun kompozisyonuna ve iyonlaşma kapasitesine göre değişir. En sık kullanılan yürütme tamponları TAE (Tris asetat) ve TBE (Tris borat) tamponlarıdır.

DNA'nın jelde görünür hale gelebilmesi için etidyum bromürün DNA bağları arasına bağlanarak 300 veya 360 nm'de ışığı absorblaması sonucu floresan etki göstermesi ile olur. Bu etki DNA konsantrasyonuna bağlı olarak kuvvetli ya da zayıf olabilir. Genomik DNA agaroz jelde keskin bir bant ile bandın aşağı ve yukarı kısmına doğru yayılan bir görüntü verir.



Şekil 3.4. Jel Elektroforezi

3.2.2.7 Sonuçların Değerlendirilmesi

- **Primerlerin polimorfizm oranlarının belirlenmesi**

Çalışmada kullanılan RAPD primerlerinin polimorfizm oranı, primerlerden elde edilen polimorfik bant sayılarının, toplam bant sayısına bölünüp 100 ile çarpılması sonucu aşağıda belirtilen formül ile bulunmuştur.

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

- **Benzerlik İndeksleri ve dendogramları oluşturulması**

RAPD amplifikasyon ürünleri var (1) yada yok (0) şeklinde değerlendirilmiş ve elde edilen veriler NTSYSpc 2.11V (Rohlf, 2004) bilgisayar paket programında analiz edilmiştir. Genetik benzerlik katsayısı Jaccard'a göre hesaplanmış olup, soyağacının elde edilmesinde UPGMA yöntemi kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Fiziksel Özelliklere Ait Bulgular Bulgular

- **Bin tane ağırlığına ilişkin sonuçlar**

On adet çekirdeklik kabak çekirdeği genotipi ile yürütülen çalışmada bin tane ağırlığına ilişkin elde edilen verilerde varyans analizi yapılmış ve elde edilen varyans analiz sonuçları Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Bin tane ağırlığı için varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri	
					5%	1%
Blok	2	250.63	125.32	4.250*	3.55	6.01
Çeşit	9	42742.2	4749.13	161.073**	2.34	3.37
Hata	18	530.72	29.48			
Genel	29	43523.55	1500.81			

Yürütülen bu çalışmada, genotipler arasında bin tane ağırlığı yönünden farklılık istatistik olarak önemli bulunmuştur. Genotipler arasındaki farklılıkları ortaya koymak için Duncan testi yapılmış ve önemlilik grupları ortalama değerler üzerinde gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Bin tane ağırlığı için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	1000 tane ağırlığı (g)
PG 1209	270.75 a
PG 1208	259.10 ab
PG 1210	245.40 b
PG 1212	227.90 c
PG 1213	202.67 d
PG 1211	196.05 d
PG 1217	177.15 e
PG 1214	174.55 e
PG 1216	168.60 ef
PG 1215	162.05 f
Hko=29.484	

Bin tane ağırlığı bakımında genotipler incelendiğinde; bin tane ağırlığı 270.75 g ile 162.05 g arasında değişmiştir. Yapılan önemlilik testi sonucunda en yüksek bin tane ağırlığı PG 1209 ve PG 1208 no’lu genotiplerde bulunmuştur. En düşük bin tane ağırlığı ise, PG 1216 ve PG 1215 no’lu genotiplerde bulunmuştur.

- **Nem değerlerine ait sonuçlar**

Numunelerde yapılan çalışmada nem değerine ilişkin verilerde varyans analizi yapılmış ve varyans analiz sonuçları Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Nem tayini için varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri	
					5%	1%
Blok	2	0.11	0.06	0.899	3.55	6.01
Çeşit	9	3.17	0.35	5.63**	2.34	3.37
Hata	18	1.13	0.06			
Genel	29	4.4	0.15			

Yapılan çalışmada genotipler arasındaki nem değerindeki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Duncan testi ile de genotipler arasındaki farklılıklar ve önemlilikler ortalama değerler üzerinden Çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Nem tayini için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	Nem (%)	
PG 1216	6.81	a
PG 1208	6.65	ab
PG 1212	6.52	ab
PG 1217	6.41	abc
PG 1210	6.28	abc
PG 1211	6.15	bd
PG 1209	5.99	cd
PG 1215	5.98	cd
PG 1214	5.95	cd
PG 1213	5.76	d
Hko=0.062		

Denemeye alınan kabak çekirdeği genotiplerinde nem değeri %6.81 ile %5.76 arasında değişmiştir. Yapılan önemlilik testi sonucunda ise, en yüksek nem değerine sahip genotipler sırasıyla; PG 1216, PG 1208 ve PG 1212 no'lu genotiplerdir. En düşük nem oranına sahip genotip ise, PG 1213 no'lu genotiptir.

- **Tohum eni değerine ilişkin sonuçlar**

Genotipler arasında tohum eni değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.5. Genotiplerin tohum eni için varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri	
					5%	1%
Blok	2	3.3	1.65	0.75	3.55	6.01
Çeşit	9	19	2.11	0.96	2.34	3.37
Hata	18	39.46	2.19			
Genel	29	61.76	2.13			

Yapılan varyans analiz sonuçlarına göre genotipler arasında tohum eni değerleri yönünden farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.6. Tohum eni için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	Tohum eni (mm)
PG 1215	10.76 a
PG 1217	10.04 a
PG 1209	9.84 b
PG 1214	9.63 b
PG 1212	8.94 b
PG 1210	8.78 b
PG 1208	8.68 b
PG 1216	8.64 b
PG 1213	8.48 b
PG 1211	8.08 b
Hko=2.192	

Denemeye alınan kabak çekirdeği genotiplerinde tohum eni değeri 10.76 mm ile 8.08 mm arasında değişmiştir. Yapılan önemlilik testi sonucunda ise, en yüksek tohum eni değerine sahip genotipler sırasıyla; PG 1215, PG 1207 no’lu genotiplerdir.

- **Tohum boyu değerine ilişkin sonuçlar**

Genotipler arasındaki tohum boyu yönünden farklılıkları araştırmak amacıyla elde edilen veriler varyans analizi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Genotiplerin tohum boyu için varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri	
					5%	1%
Blok	2	28.13	14.07	1.12	3.55	6.01
Çeşit	9	241.39	26.82	2.13	2.34	3.37
Hata	18	226.61	12.59			
Genel	29					

Varyans analiz tablosu sonuçlarına göre genotipler arasındaki tohum boyu yönünden farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Genotipler arasındaki farklılıkları ortaya koymak için Duncan testi yapılmış ve önemlilik grupları çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Tohum boyu için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	Tohum boyu (mm)
PG 1217	26.13 a
PG 1208	25.54 a
PG 1209	21.61 ab
PG 1212	20.86 ab
PG 1210	20.70 ab
PG 1211	20.22 ab
PG 1213	19.70 ab
PG 1214	18.17 b
PG 1216	17.66 b
PG 1215	17.54 b
Hko=12.589	

Yapılan araştırmalar ve çıkan sonuçlar neticesinde kabak çekideği genotiplerinin tohum boyu 26.13 mm-17.54 mm arasında değişmiştir. Önemlilik gruplarına bakıldığında ise en yüksek tohum boyu, PG 1217, PG 1208 genotiplerinde bulunurken, en düşük tohum boyu ise, PG 1214, PG 1216 ve PG 1215 genotiplerinde bulunmuştur.

- **Tohum kalınlığına ilişkin analiz sonuçları**

Araştırmada kullanılan on adet kabak çekirdeği tohumunda tohum kalınlığına ilişkin farkları belirlemek amacıyla yapılan analiz sonuçları Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Genotiplerin tohum kalınlığı için varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri	
					5%	1%
Blok	2	0.01	0.01	0.59	3.55	6.01
Çeşit	9	1.47	0.16	22.85 **	2.34	3.37
Hata	18	0.14	0.01			
Genel	29	1.62	0.06			

Yürütülen bu çalışmada, genotipler arasında tohum kalınlığı yönünden farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Genotipler arasındaki farklılıkları ortaya koymak için Duncan testi yapılmış ve önemlilik grupları Çizelge 4.10 üzerinde gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. Tohum kalınlığı için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	Tohum kalınlığı (mm)
PG 1212	2.73 a
PG 1209	2.63 ab
PG 1210	2.62 ab
PG 1208	2.52 bc
PG 1211	2.50 bc
PG 1213	2.40 c
PG 1216	2.38 c
PG 1214	2.17 d
PG 1215	2.11 d
PG 1217	2.06 d
Hko=0.008	

Yapılan önemlilik testi sonucunda tohum kalınlığı yönünden genotipler arasındaki fark 2.73 mm ile 2.06 mm arasında değişmekte olup, en yüksek tohum kalınlığı, PG 1212, PG 1209, PG 1210 genotiplerinde, en düşük tohum kalınlığı ise, PG 1214 ve PG 1215 ve PG 1217 genotiplerinde bulunmuştur.

- **Kabuk iç oranına ilişkin analiz sonuçları**

Kabuk iç oranına ilişkin elde edilen verilerde yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Genotiplerin kabuk iç oranı için varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri	
					5%	1%
Blok	2	0.61	0.31	1.40	3.55	6.01
Çeşit	9	54.84	6.09	27.84**	2.34	3.37
Hata	18	3.94	0.22			
Genel	29	59.39	2.05			

Çizelge 4.11’deki varyans analiz sonuçlarına göre, genotipler arasında kabuk iç oranı değeri yönünden istatistiki olarak önemli farklılıklar ortaya çıkmıştır. Genotipler arasındaki farklılıkları ortaya koymak için Duncan testi yapılarak ve önemlilik gruplarına göre genotipler ayrılmıştır.

Çizelge 4.12. Kabuk iç oranı için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	Kabuk iç oranı (mm)
PG 1210	82.21 a
PG 1212	82.19 a
PG 1211	81.72 ab
PG 1214	81.33 ab
PG 1213	81.29 ab
PG 1209	81.09 b
PG 1208	79.96 c
PG 1216	79.44 c
PG 1215	79.32 c
PG 1217	77.90 d
Hko=0.219	

Yapılan önemlilik testi sonucunda kabuk iç oranı %82.21 mm ile %77.90 mm arasında değişmiş olup, en yüksek kabuk iç oranına sahip genotipler, PG 1210 ve PG 1212, en düşük kabuk iç oranına sahip genotip ise, PG 1217 no’lu genotiptir.

4.2 Kimyasal Özelliklere Ait Bulgular

- **Protein tayinine ilişkin analiz sonuçları**

Genotipler arasındaki protein oranındaki farklılığı belirlemek amacıyla yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14’de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Genotiplerin protein tayini varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri	
					5%	1%
Blok	2	0.41	0.21	1.37	3.55	6.01
Çeşit	9	41.88	4.65	31.15**	2.34	3.37
Hata	18	2.69	0.15			
Genel	29	44.98	1.55			

Yürütülen bu çalışmada, varyans analiz tablosuna göre genotipler arasında protein değeri yönünden farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Genotipler arasındaki farklılıkları ortaya koymak için Duncan testi yapılmış ve önemlilik grupları Çizelge 4.14’te verilmiştir.

Çizelge 4.14. Protein tayini için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	Protein (%)
PG 1212	25.50 a
PG 1208	25.35 a
PG 1213	25.14 ab
PG 1211	25.02 ab
PG 1215	24.47 bc
PG 1216	24.38 bc
PG 1210	24.02 c
PG 1214	23.05 d
PG 1209	22.59 de
PG 1217	21.88 e
Hko=0.149	

Yapılan varyans analiz sonuçlarına göre protein oranı %25.50 ile %21.88 arasında değişmiştir. Önemlilik testine bakıldığında ise, en yüksek protein oranına sahip genotipler, PG 1212 ve PG 1208 no’lu genotipler bulunmuştur. En düşük protein oranına sahip genotip ise, PG 1217 no’lu genotiptir.

- **Yağ tayinine ilişkin analiz sonuçları**

Kaliteye etki eden önemli unsurlardan biri olan yağ değerine ilişkin elde edilen verilere göre varyans analizi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.15 ve Çizelge 4.16’da verilmiştir.

Çizelge 4.15. Genotiplerin yağ tayini varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri	
					5%	1%
Blok	2	0.19	0.09	1.85	3.55	6.01
Çeşit	9	37.86	4.21	8.26**	2.34	3.37
Hata	18	9.17	0.51			
Genel	29	47.22	1.63			

Yapılan araştırmalar neticesinde istatistiki olarak genotiplerin yağ değerleri arasındaki fark önemli bulunmuştur. Çizelge 4.16’da önemlilik grupları verilmiştir.

Çizelge 4.16. Yağ tayini için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	Yağ (%)
PG 1211	40.63 a
PG 1209	40.13 ab
PG 1213	39.43 abc
PG 1214	39.39 abc
PG 1215	38.58 bd
PG 1212	38.13 ce
PG 1210	37.94 ce
PG 1217	37.81 de
PG 1208	37.67 de
PG 1216	36.94 e
Hko=0.509	

Yağ oranının genotipler arasında % 40.63 ile %36.94 değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir. Çizelge 4.16’daki sonuçlara göre, en yüksek yağ değerine sahip genotip PG 1211 bulunmuştur. En düşük toplam yağ oranına sahip genotip ise PG 1216 no’lu genotiptir.

- **Palmitik asit değerine ilişkin analiz sonuçları**

Palmitik asit değerine ilişkin elde edilen verilerde yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.17 ve Çizelge 4.18’de verilmiştir.

Çizelge 4.17. Genotiplerin palmitik asit varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri	
					5%	1%
Blok	2	0.11	0.05	1.27	3.55	6.01
Çeşit	9	23.71	2.63	63.46**	2.34	3.37
Hata	18	0.75	0.04			
Genel	29	24.56	0.85			

Yürütülen bu çalışmada, genotipler arasında palmitik değeri yönünden farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.18. Palmitik asit için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	Palmitik asit (%)
PG 1217	13.43 a
PG 1216	13.05 a
PG 1211	12.39 b
PG 1210	11.93 bc
PG 1214	11.81 cd
PG 1213	11.71 cd
PG 1208	11.42 de
PG 1209	11.01 ef
PG 1212	10.72 f
PG 1215	10.63 f
Hko=0.042	

Tez kapsamında kullanılan kabak çekirdeği genotiplerinde palmitik asit oranı %13.43 ile %10.63 değerleri arasında değişmiştir. Yapılan önemlilik testi sonucunda en yüksek palmitik asit değerine sahip genotipler, PG 1217 ve PG 1216’dır. En düşük palmitik asit değerine sahip genotipler ise PG 1212 ve PG 1215 no’lu genotiplerdir.

- **Steraik asit değerine ilişkin analiz sonuçları**

Steraik asit değerine ilişkin elde edilen verilerde yapılan varyans analiz sonuçları izelge 4.19 ve izelge 4.20’de verilmiştir.

Çizelge 4.19. Genotiplerin steraik asit varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri	
					5%	1%
Blok	2	0	0	0.054	3.55	6.01
eşit	9	7.14	0.79	118.863**	2.34	3.37
Hata	18	0.12	0.01			
Genel	29	7.27	0.25			

Yürütölen bu çalışmada, genotipler arasında steraik asit değeri yönünden farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Genotipler arasındaki farklılıkları ortaya koymak için Duncan testi yapılmış ve önemlilik grupları ortalama değerler üzerinde gösterilmiştir.

Çizelge 4.20. Steraik asit için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	Steraik asit (%)
PG 1211	5.59 a
PG 1213	5.54 a
PG 1212	5.50 ab
PG 1210	5.47 ab
PG 1214	5.35 b
PG 1216	5.12 c
PG 1209	5.09 c
PG 1208	4.89 d
PG 1215	4.22 e
PG 1217	4.22 e
Hko=0.007	

Denemeye alınan kabak çekirdeği genotiplerinde steraik asit oranı %5.59 ile % 4.22 arasında değişmiştir. Yapılan önemlilik testi sonucunda en yüksek steraik asit değerine sahip genotipler, PG 1211 ve PG 1213 no’lu genotiplerdir. En düşük steraik asit sahip genotipler ise, PG 1215 ve PG 1217 no’lu genotiplerdir.

- **Oleik asit değerine ilişkin analiz sonuçları**

Kabak ekirdeği genotipler arasındaki oleik asit yönünden farklılığı belirlemek amacıyla yapılan varyans analiz sonuçları izelge 4.21 ve izelge 4.22’de verilmiştir.

Çizelge 4.21. Genotiplerin oleik asit varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri 5%	1%
Blok	2	2.25	1.12	0.77*	3.55	6.01
eşit	9	3520.35	391.15	269.51**	2.34	3.37
Hata	18	26.12	1.45			
Genel	29	3548.72	122.37			

Yapılan çalışmada genotipler arasındaki farklılık oleik asit değeri yönünden istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Duncan testi ile önemlilik grupları oluşturulmuş ve izelge 4.22’de verilmiştir.

Çizelge 4.22. Oleik asit için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	Oleik asit (%)
PG 1215	61.65 a
PG 1216	54.56 b
PG 1214	44.24 c
PG 1212	39.96 d
PG 1213	39.78 d
PG 1217	36.29 e
PG 1210	33.11 f
PG 1211	31.11 fg
PG 1209	29.11 g
PG 1208	25.22 h
Hko=1,451	

Denemeye alınan kabak çekirdeği genotiplerinde oleik asit oranı %61.65 ile % 25.22 değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir. Önemlilik testi sonuçlarına göre en yüksek oleik asit oranına sahip genotip, PG 1215 no’lu genotiptir. En düşük oleik asit oranına sahip genotip ise PG 1208 no’lu genotiptir.

- **Linoleik asit değerine ilişkin analiz sonuçları**

Linoleik asit değerine ilişkin elde edilen verilerde yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.23 ve Çizelge 4.24’de verilmiştir.

Çizelge 4.23. Genotiplerin linoleik asit varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri	
					5%	1%
Blok	2	0.07	0.03	0.44	3.55	6.01
Çeşit	9	3638.99	404.33	5246.68**	2.34	3.37
Hata	18	1.39	0.08			
Genel	29	3640.45	125.53			

Yürütülen bu çalışmada, genotipler arasında linoleik asit değeri yönünden farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Genotipler arasındaki farklılıkları ortaya koymak için Duncan testi yapılmış ve önemlilik grupları çizelge 4.24’te verilmiştir.

Çizelge 4.24. Linoleik asit için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	Linoleik asit (%)
PG 1208	56.65 a
PG 1209	56.45 a
PG 1211	49.99 b
PG 1210	47.97 c
PG 1216	45.74 d
PG 1213	41.25 e
PG 1212	40.53 f
PG 1214	37.21g
PG 1216	26.17 h
PG 1215	21.97 i
Hko=0.077	

Kabak çekirdeği genotiplerinde linoleik asit değeri %56.65 ile %56.45 değerleri arasında değişmiştir. Yapılan önemlilik testi sonucunda en yüksek linoleik asit değerine sahip genotipler, PG 1208 ve PG 1209 nolu genotiplerdir. En düşük linoleik asit değerine sahip genotip ise PG 1215 no’lu genotiptir.

- **Fe minerali değerine ilişkin analiz sonuçları**

Genotipler arasındaki Fe minerali değeri arasındaki farklılığı belirlemek amacıyla elde edilen verilerde yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.25 ve Çizelge 4.26’da verilmiştir.

Çizelge 4.25. Genotiplerin Fe minerali varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri	
					5%	1%
Blok	2	68.93	34.47	1.07	3.55	6.01
Çeşit	9	17741.53	1971.28	61.18**	2.34	3.37
Hata	18	580	32.22			
Genel	29	18390.46	634.15			

Yürütülen bu çalışmada, genotipler arasında Fe minerali değeri yönünden farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Genotipler arasındaki farklılıkları ortaya koymak için Duncan testi yapılmış ve önemlilik grupları ortalama değerler üzerinde gösterilmiştir.

Çizelge 4.26. Fe minerali için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	Fe minerali (mg/kg)
PG 1213	229.14 a
PG 1211	204.23 b
PG 1212	195.42 bc
PG 1217	190.51 cd
PG 1210	180.26 d
PG 1209	167.88 e
PG 1215	162.31 e
PG 1216	161.96 e
PG 1208	160,90 e
PG 1214	142.36 f
Hko=32.222	

Denemeye alınan kabak çekirdeği genotiplerinde Fe minerali değeri 299.14 mg/kg ile 142.36 mg/kg arasında değişmiştir. Yapılan önemlilik testi sonucunda en yüksek Fe değerine sahip genotip PG 1213 no’lu genotiptir. En düşük Fe değerine sahip genotip ise, PG 1214 no’lu genotiptir.

- **Zn minerali değerine ilişkin analiz sonuçları**

Zn minerali değerine ilişkin elde edilen verilerde yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.27 ve Çizelge 4.28’de verilmiştir.

Çizelge 4.27. Genotiplerin Zn minerali varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri	
					5%	1%
Blok	2	1.69	0.85	20.64**	3.55	6.01
Çeşit	9	3432.33	381.37	9294.49**	2.34	3.37
Hata	18	0.74	0.04			
Genel	29	3432.76	118.44			

Yürütülen bu çalışmada, genotipler arasında Zn minerali değeri yönünden farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Genotipler arasındaki farklılıkları ortaya koymak için Duncan testi yapılmış ve önemlilik grupları ortalama değerler üzerinde gösterilmiştir.

Çizelge 4.28. Zn minerali için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	Zn minerali (mg/kg)
PG 1208	105,08 a
PG 1213	88,90 b
PG 1212	88,11 c
PG 1215	85,73 d
PG 1209	85,70 d
PG 1210	84,38 e
PG 1216	81,91 f
PG 1217	80,56 g
PG 1214	70,71 h
PG 1211	62,45 i
Hko=0.041	

Denemeye alınan kabak çekirdeği genotiplerinde kabuk Zn minerali değeri 105.08 mg/kg ile 62.45 mg/kg değerleri arasında değişmiştir. Yapılan önemlilik testi sonucunda en yüksek Zn minerali değerine sahip genotip PG 1208’dir. En düşük Zn minerali değerine sahip genotip ise PG 1211 no’lu genotiptir.

- **Cu minerali değerine ilişkin analiz sonuçları**

On adet çerezlik kabak çekirdeği numunelerinde Cu minerali değerine ilişkin farklılığı belirlemek amacıyla elde edilen verilerde yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.29 ve Çizelge 4.30’da verilmiştir.

Çizelge 4.29. Genotiplerin Cu minerali varyans analiz tablosu

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo F değeri	
					5%	1%
Blok	2	0.18	0.09	3.097	3.55	6.01
Çeşit	9	27.33	3.04	104.22**	2.34	3.37
Hata	18	0.52	0.03			
Genel	29	28.04	0.97			

Yürütülen bu çalışmada, genotipler arasında Cu minerali değeri yönünden farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Genotipler arasındaki farklılıkları ortaya koymak için Duncan testi yapılmış ve önemlilik gruplar ortalama değerler üzerinde gösterilmiştir.

Çizelge 4.30. Cu minerali için genotiplerin önemlilik grupları

Genotipler	Cu minerali (mg/kg)
PG 1209	10.33 a
PG 1215	10.28 a
PG 1216	9.83 b
PG 1217	9.79 bc
PG 1208	9.69 bc
PG 1213	9.43 cd
PG 1210	9.09 de
PG 1212	8.95 e
PG 1211	7.99 f
PG 1214	7.17 g
Hko=0.029	

Denemeye alınan kabak çekirdeği genotiplerinde Cu minerali değeri 10.33 mg/kg ile 7.17 mg/kg değerleri arasında değişmiştir. Yapılan önemlilik testi sonucunda en yüksek Cu minerali değerine sahip genotipler, PG 1209 ve PG 1215’dir. En düşük Cu minerali değerine sahip genotip ise PG 1214 no’lu genotiptir.

4.3 Moleküler Karakterizasyona Ait Bulgular

Çalışmada kullanılan 8 RAPD primeri değerlendirildiğinde; toplam 38 adet bant elde edilmiştir. Bu bantlardan 18 adedi monomorfik bulunurken (%47.37), 20 adedi de polimorfik bulunmuştur (%52.63). Bant sayıları karşılaştırıldığında en yüksek sayıda bandın OPC7 ve OPC8 primerlerinden elde edilirken, en düşük sayıda bandın OPC6 ve OPC15 primerlerinden elde edilmiştir. OPC1 ve OPC5 primerlerinden ise sadece monomorfik bantların elde edildiği gözlenmiştir.

Yapılan değerlendirmeler sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), monomorfik bant sayıları (MBS), bant aralığı (BA), polimorfizm oranı (PO) değerleri toplu şekilde çizelge 4.31’de verilmiştir.

Çizelge 4.31 RAPD primerlerinin amplifikasyonu sonucunda elde edilen toplam bant sayıları (TBS), monomorfik bant sayıları (MBS), polimorfik bant sayıları (PBS), bant aralıkları ve polimorfizm oranları (PO).

Primer Adı	TBS	MBS	PBS	BA (pb)	PO (%)
OPC1	1	1	0	-	0
OPC4	6	3	3	1000-550	50
OPC5	4	4	0	980-550	0
OPC6	3	2	1	785-580	33.3
OPC7	10	3	7	980-500	70
OPC8	7	1	6	920-610	85.71
OPC9	5	3	2	920-500	40
OPC15	2	1	1	700-550	50
Toplam	38	18	20	500-1000	52.63

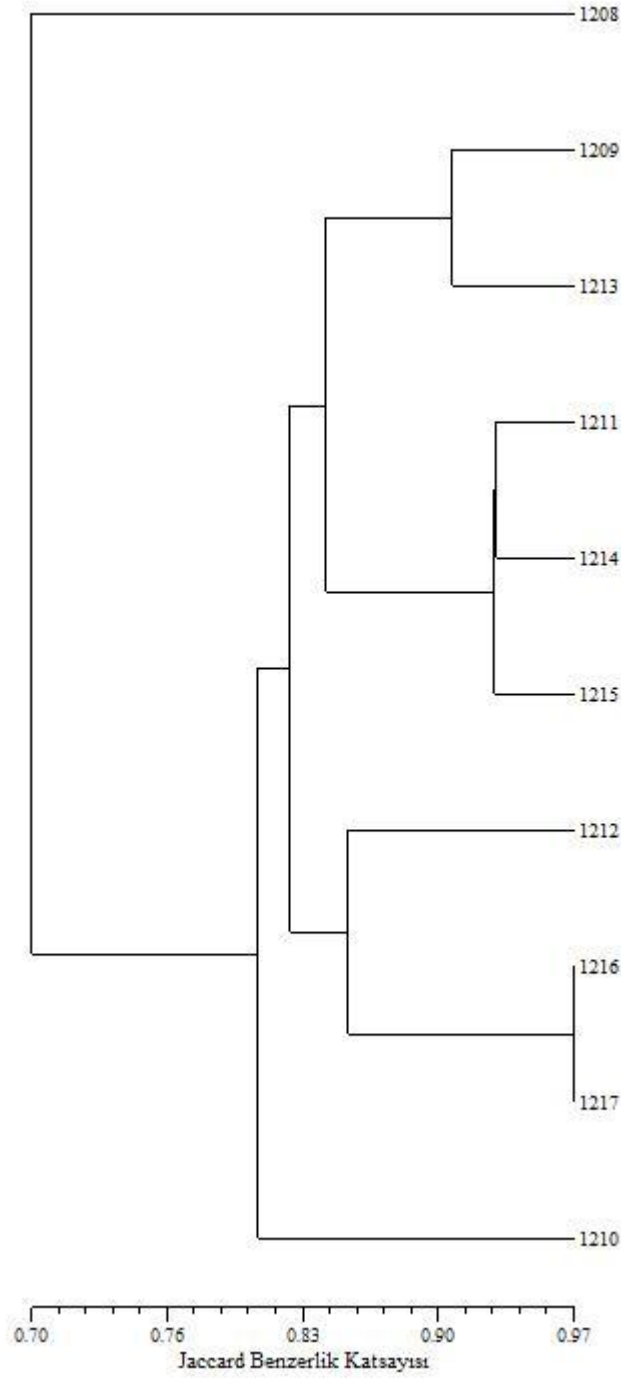
İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, kabak çekirdeği genotipleri arasındaki genetik benzerlik indekslerinin 0.70 ile 0.97 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Araştırmada yer alan tüm kabak genotipleri arasındaki Jaccard genetik benzerlik katsayıları Çizelge 4.32’de verilmiştir.

Çizelge 4.32. Kabak çekirdeği genotipleri arasındaki Jaccard genetik benzerlik katsayıları

Genotip no	1208	1209	1210	1211	1212	1213	1214	1215	1216
1209	0.72								
1210	0.676	0.838							
1211	0.735	0.903	0.862						
1212	0.638	0.843	0.800	0.866					
1213	0.694	0.906	0.750	0.870	0.812				
1214	0.676	0.838	0.793	0.928	0.800	0.806			
1215	0.727	0.838	0.793	0.928	0.800	0.806	0.925		
1216	0.694	0.848	0.806	0.870	0.870	0.875	0.806	0.806	
1217	0.714	0.818	0.833	0.838	0.838	0.843	0.774	0.774	0.966

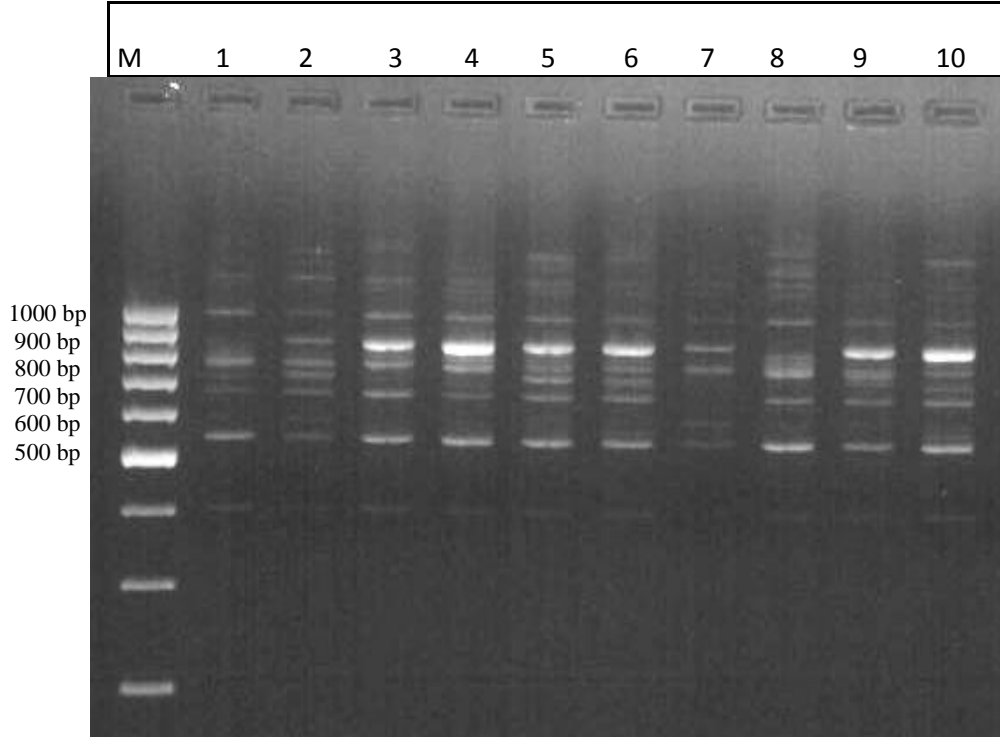
Çerezlik kabak genotiplerine ait genomik DNAların 8 RAPD primeri ile amplifikasyonu sonucunda elde edilen bantlar sayısal değerlere dönüştürülerek (1 ve 0) NTSYS adlı programda benzerlik indeksleri oluşturulmuş ve bu benzerlik indekslerine göre UPGMA yöntemi kullanılarak oluşturulan dendogram Şekil 4.1’de sunulmuştur.

10 adet kabak çekirdeği genotipi genetik benzerlik açısından değerlendirildiğinde genetik olarak birbirine en yakın genotipler sırasıyla 1216 ve 1217 no’lu genotiplerin oldukları anlaşılmaktadır. 1208 no’lu genotipin ise, kullanılan diğer genotiplerden genetik olarak en uzak genotip olduğu anlaşılmaktadır.



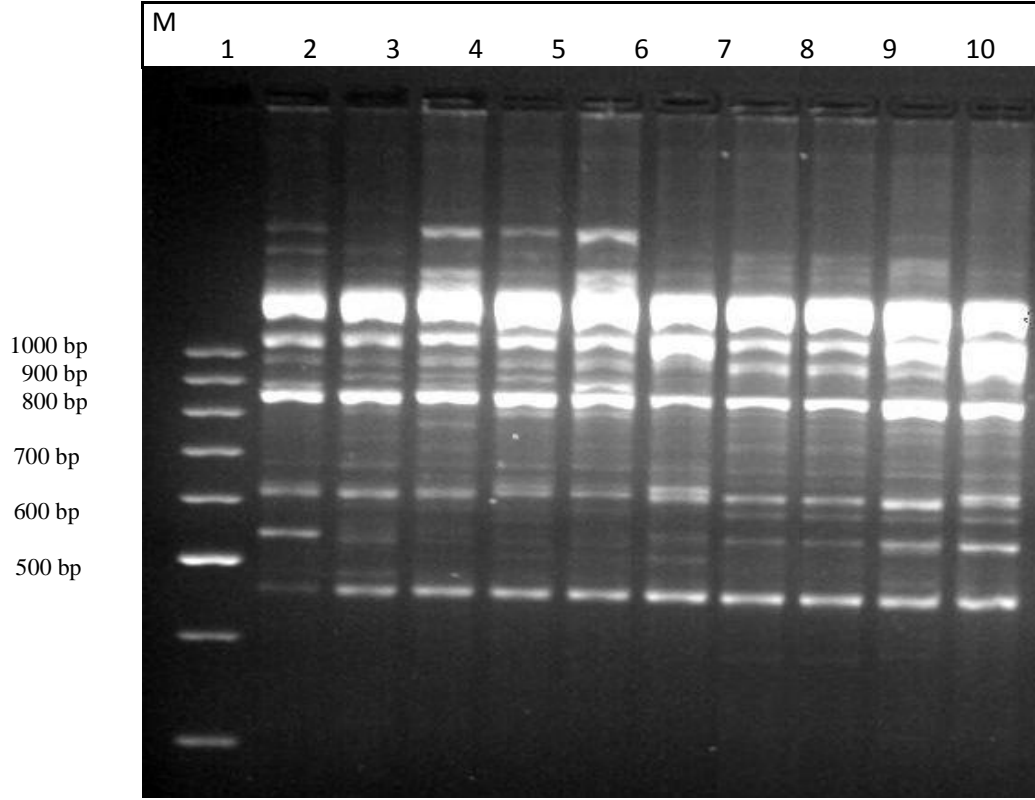
Şekil 4.1. Kabak çekirdeği genotiplerinde RAPD tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen soyağacı

Çalışmada kullanılan 8 adet RAPD primerinin 10 çekirdeklik kabak genotipine uygulanması sonucu elde edilen PCR amplifikasyon ürünlerinin görüntülerine ait resimler Şekil 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8 ve 4.9’da sunulmuştur.



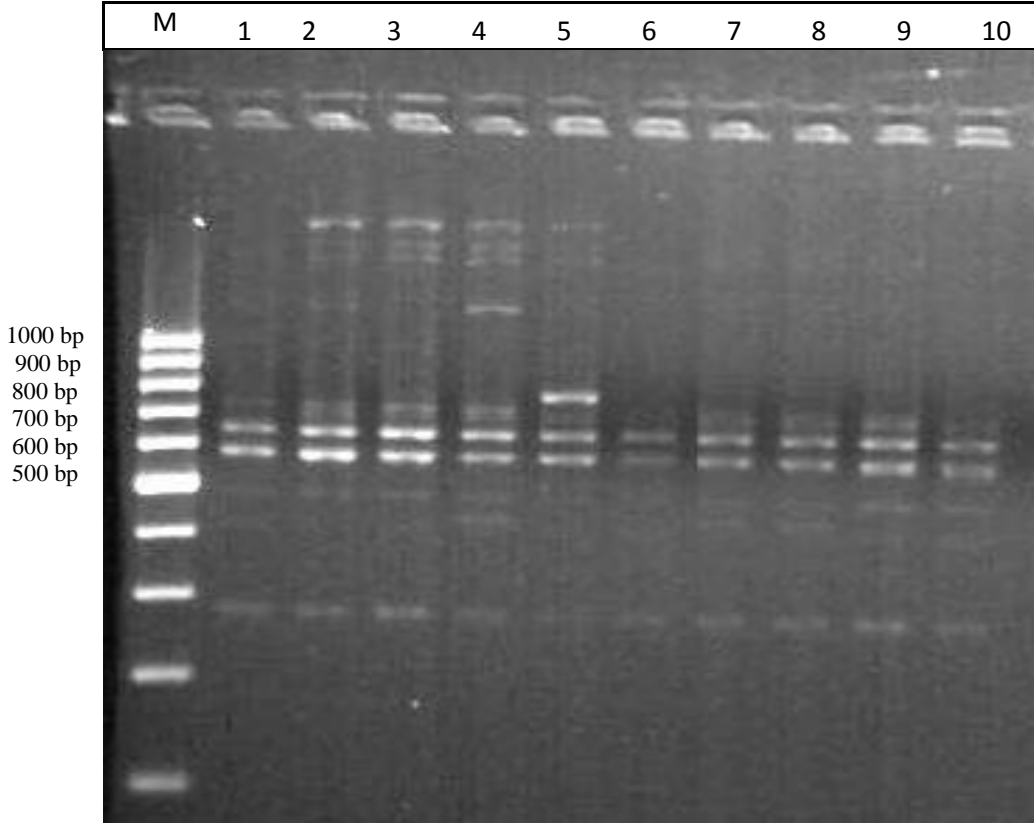
Şekil 4.2. Primer OPC 4

Primer OPC 4 ile yapılan analizde elde edilen bant aralığı 1000 ile 550 bp arasındadır. En belirgin bantlar incelendiğinde 1000, 890, 800, 750, 690, 550 bp olmak üzere 6 adet bant elde edilmiştir. Bu bantlardan 1000, 800 ve 550 bp monomorfik, 890, 750 ve 690 bp ise polimorfiktir.



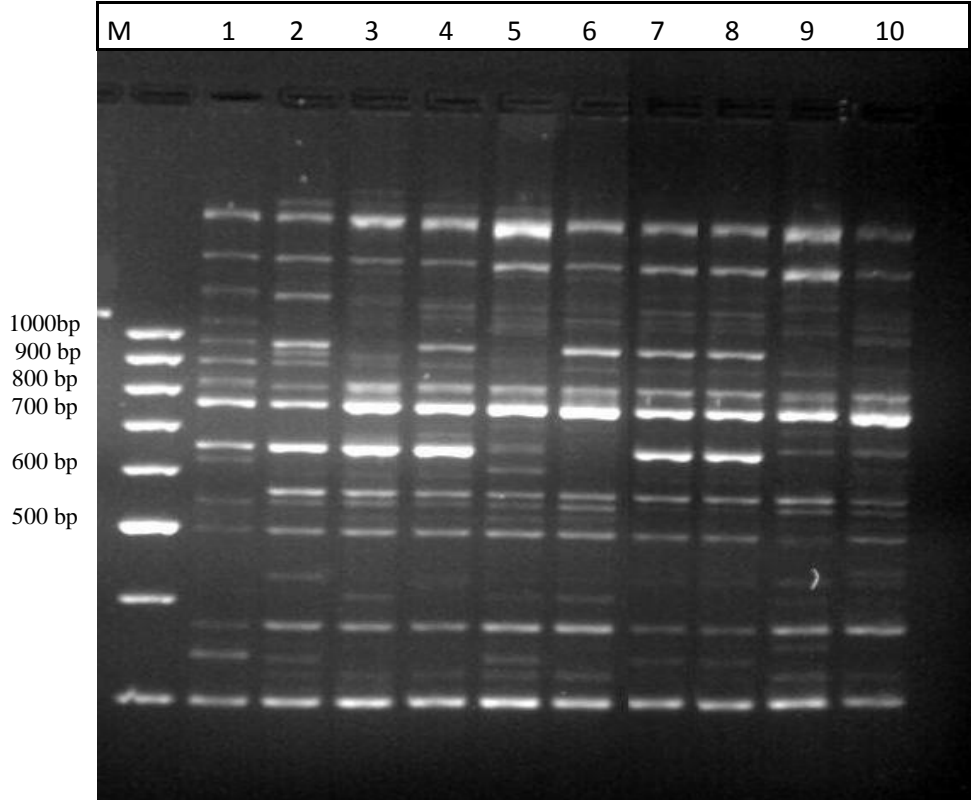
Şekil 4.3. Primer OPC 5

Yapılan değerlendirme sonucu, OPC 5 no'lu RAPD primerinde 980, 850, 800, 620 ve 550 bp olmak üzere 4 adet monomorfik bant elde edilmiştir. Polimorfik bant gözlemlenmemiştir. Elde edilen bant aralığı ise, 980 ile 550 bp arasında değişme göstermiştir.



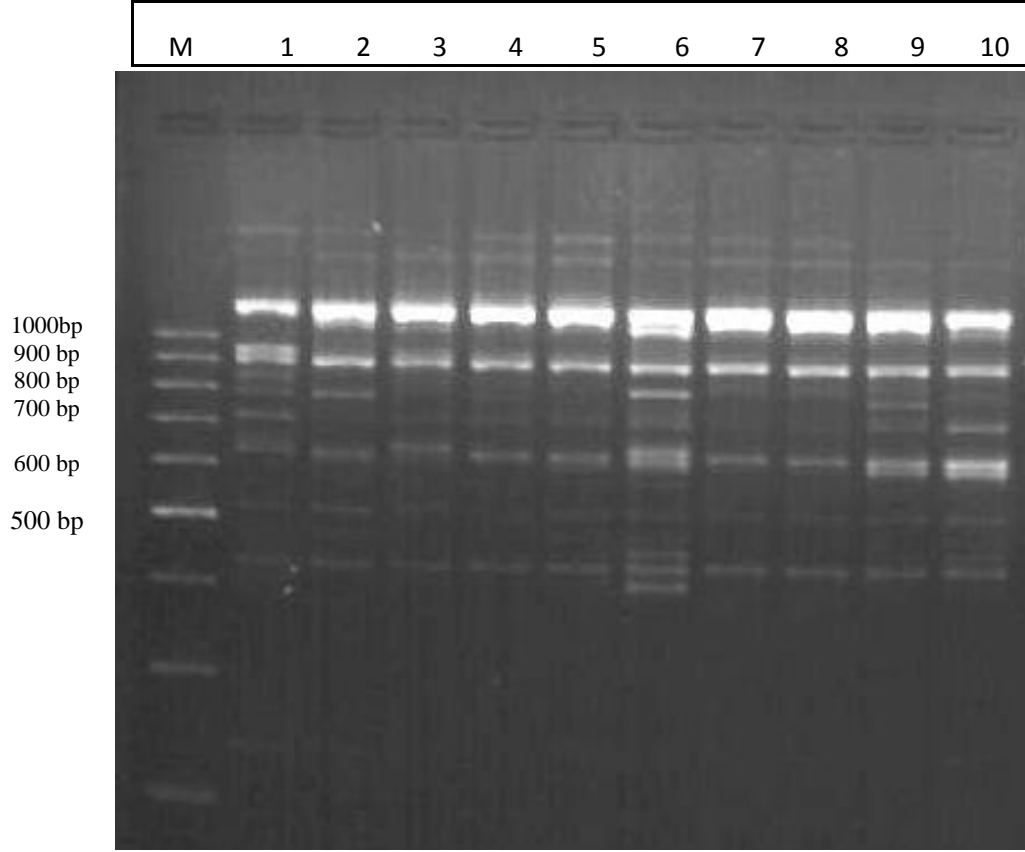
Şekil 4.4. Primer OPC 6

OPC 5 no'lu RAPD primerinde 785, 650 ve 580 bp olmak üzere 3 adet bant elde edilmiştir. Bu bantlardan 650 ve 580 bp monomorfik bulunurken, 785 bp uzunluğundaki bant polimorfik bulunmuştur. Elde edilen bant aralığı 785 ile 580 bp arasında değişme göstermiştir.



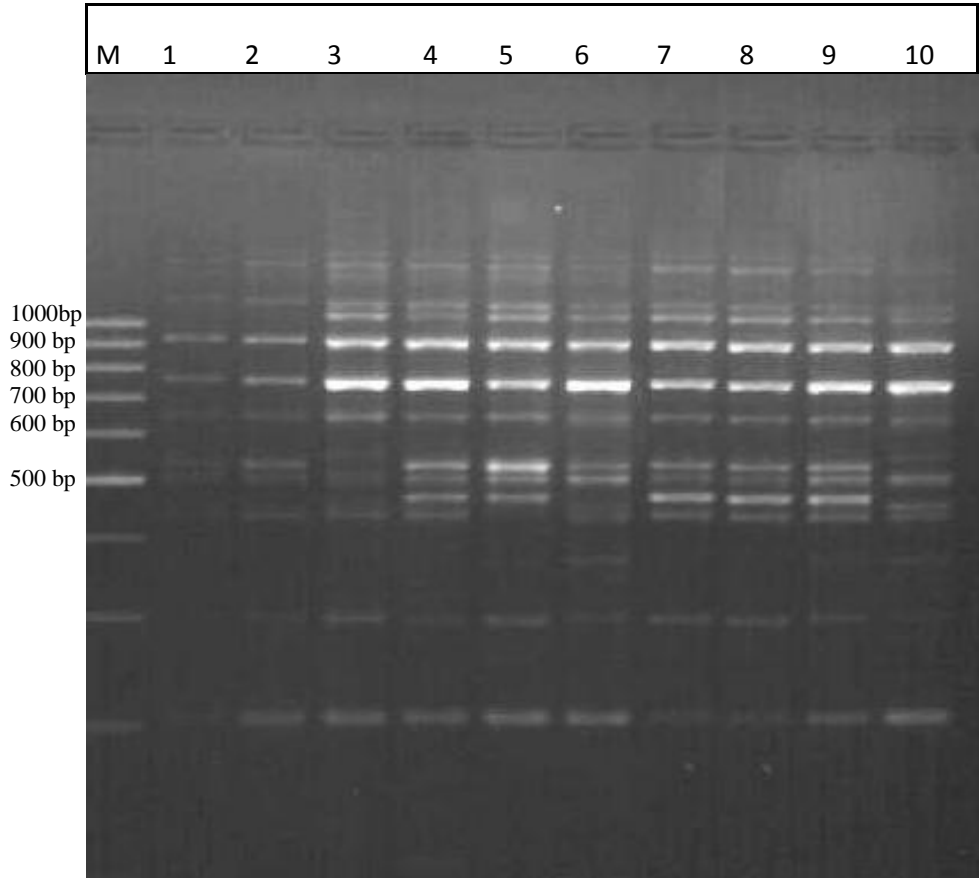
Şekil 4.5. Primer OPC 7

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde en belirgin bantlar değerlendirilmiş ve OPC 7 no'lu primerde 10 adet bant olduğu belirlenmiştir. Bu bant aralıkları 980 ile 500 bp arasında değişme göstermiştir. Monomorfik olan bantlar 820, 780 ve 500 bp uzunluğundaki bantlar olurken, 980, 950, 900, 650, 620, 570, 560 bp uzunluğundaki bantlar ise polimorfik bulunmuştur.



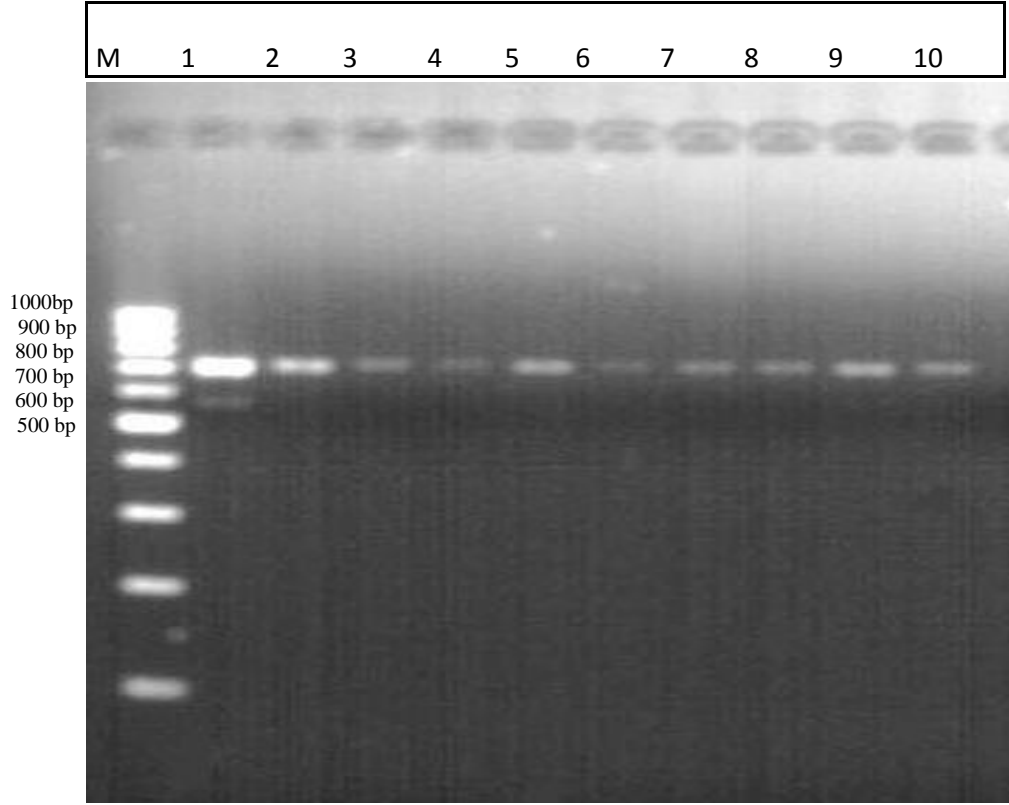
Şekil 4.6. Primer OPC 8

Elde edilen sonuçlara göre en belirgin bantlar dikkate alındığında bant aralığı 920 ile 610 bp arasında değişme göstermiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda OPC 8 no'lu RAPD primerinde 920, 900, 850, 800, 710, 620 ve 610 bp olmak üzere 7 adet bant elde edilmiştir. Bu bantlardan yalnızca 900 bp uzunluğundaki bant monomorfik bulunurken, diğer 6 adet bant polimorfik bulunmuştur.



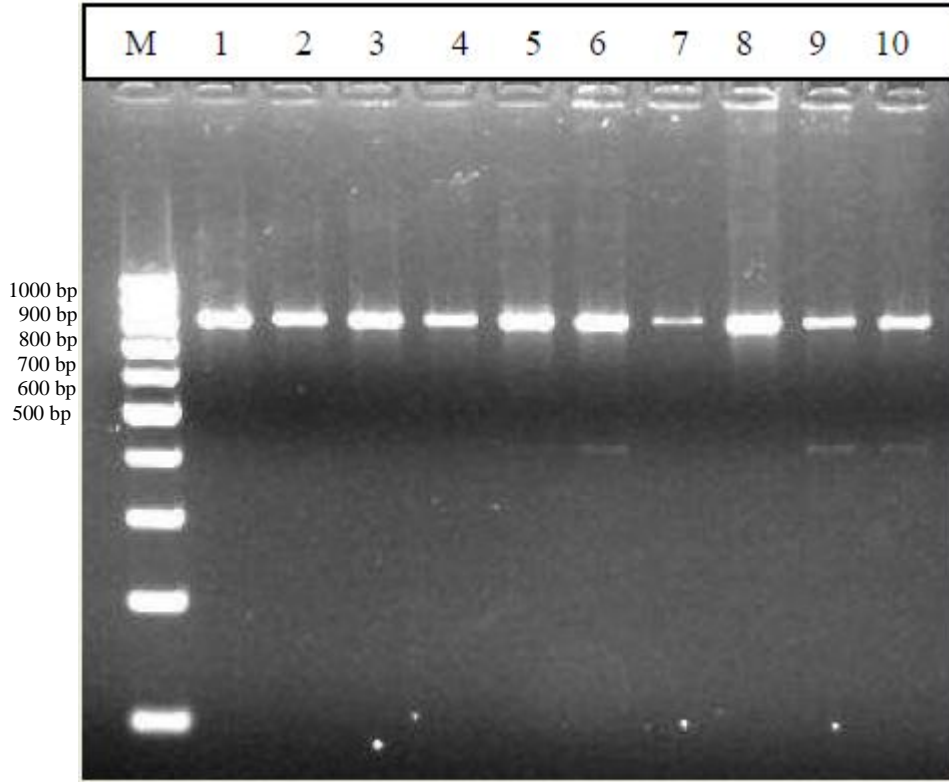
Şekil 4.7. Primer OPC 9

Yapılan değerlendirmeler sonucunda OPC 9 no'lu RAPD primerinde 920, 770, 650, 520 ve 500 bp olmak üzere 5 adet bant elde edilmiştir. Bu bantlardan yalnızca 520 bp uzunluğundaki bant polimorfik bulunurken, diğer 4 adet bant monomorfik bulunmuştur.



Şekil 4.8. Primer OPC 15

Elde edilen sonuçlara göre en belirgin bantlar dikkate alındığında OPC 15 no'lu RAPD primerinde 700 ve 550 bp uzunluğundaki bantların net olarak görülebildiği ortaya çıkmıştır. 700 bp uzunluğundaki bant monomorfik bulunurken, 550 bp uzunluğundaki bant ise polimorfik bulunmuştur.



Şekil 4.9. Primer OPC 1

Elde edilen sonuçlara göre en belirgin bantlar dikkate alındığında OPC 1 no'lu RAPD primerinde yalnızca 1 adet bantın net görülebildiği belirlenmiştir. 810 bp uzunluğundaki bu bant monomorfik bulunmuştur.

5.SONUÇ ve TARTIŞMA

Tez çalışması kapsamında 10 adet çerezlik kabak çekirdeği genotiplerinde fiziksel ve kimyasal analizler yapılmıştır. Yapılan fiziksel analizler neticesinde, bin tane ağırlığı bakımından en yüksek değer, PG 1209 no'lu genotipten alınmış, bunu PG 1208 no'lu genotip izlemiştir. PG 1215 no'lu genotip ise, en düşük bin tane ağırlığı değerini vermiştir. Yanmaz ve Düzeltir (2003)'in bildirdiğine göre, bin tane ağırlığı bakımından kabak çekirdekleri; İri (> 250 g), Orta (200-250 g), Küçük (< 200 g) olacak şekilde sınıflandırılmıştır. Bu değerler doğrultusunda, PG 1209 ve PG 1208 iri sınıfa, PG 1210, PG 1212 ve PG1213 orta sınıfa, PG 1211, PG1217, PG1214, PG1216 ve PG 1215 ise küçük sınıfına girmiştir. Çerezlik kabak çekirdeğinin Kabak çekirdeğinde iri taneli çeşitler tercih edilmektedir. Kabak çekirdeğinin iri olması tüketici açısından beğeniyi arttıracığından bin tane ağırlığı yüksek genotiplerden PG 1209 ve PG 1208 çerezlik olarak önerilebilir. PG1209 ve PG 1208'in genetik akrabalığına bakıldığında ise; aynı grupta olmalarına rağmen, bu genotiplerin 0.72 oranında benzer, yani uzak akraba olduğu sonucuna varılmıştır.

Yürütülen çalışmada, genotipler arasında nem değeri yönünden farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Denemeye alınan kabak çekirdeği genotiplerinde nem değeri %6.81- %5.76 değerleri arasında değişmiştir. Yapılan önemlik testi sonucunda en yüksek nem değerine sahip genotipler sırasıyla; PG 1216, PG 1208 ve PG 1212 no'lu genotiplerdir. En düşük nem oranına sahip genotip ise, PG 1213' no'lu genotiptir. Nem miktarı gıdanın dayanıklılığını etkileyen önemli bir faktördür. Nem miktarı belli bir düzeyin üstüne çıktığında mikroorganizma aktivitesi artar ve küf, kızılaşma, filizlenme, zararlı böcekler ve toksinler gibi istenmeyen durumlar ortaya çıkar. Kuruyemişlerde nem oranı %5-%15 arasında olmalıdır (Anonim, 2011). Bu bilgiler göz önünde bulundurulduğunda nem değeri en düşük olan PG1213 no'lu genotip seçilmelidir.

Yapılan analizler neticesinde tohum eni bakımından çeşitler arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. İstatistiki sonuçlara bakıldığında PG 1215 ve PG 1217 no'lu genotiplerin aynı grupta olduğu, diğer genotiplerin ise başka bir grupta toplandığı sonucuna varılmıştır. PG1215 ve PG 1217 genotiplerinin tohum eni bakımından en yüksek değere sahip olduğu belirlenmiş olup, bu genotiplerin genetik benzerlik oranının 0.77 olduğu sonucuna varılmıştır. Bu genotiplerin çerezlik olarak tüketileceği düşünüldüğünde, geniş

tohum enine sahip çekirdekler çok fazla tercih edilmeyeceğinden PG 1215 ve PG 1217 genotiplerinin dışındaki genotiplerin çerezlik tüketime daha uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

Denemeye alınan kabak çekirdeği genotiplerinde tohum boyuna bakıldığında ise, tohum boylarının 26.13 mm-17.54 mm arasında değiştiği belirlenmiştir. Yapılan önemlik testi sonucunda en yüksek tohum boyu, PG 1217, PG 1208 no'lu genotiplerinde bulunmuştur. Bunları sırasıyla, PG 1209, PG 1212, PG 1210, PG 1211 ve PG 1213 no'lu genotipler takip etmiştir. En düşük tohum boyu ise, PG 1214, PG 1216 ve PG 1215 no'lu genotiplerinde bulunmuştur. Tohum boyu çerezlik kabak çekirdeğinde beğeniye etkileyen en önemli fiziksel unsurlardan biri olduğundan tohum boyu yüksek olan genotiplerden PG 1217 ve PG 1208 genotiplerin çerezlik olarak seçilmesinin daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Bu genotiplerin genetik akrabalıklarına bakıldığında ise, benzerlik katsayısının 0.71 olduğu belirlenmiştir.

Tohum kalınlığı bakımından genotipler arasındaki fark istatisti olarak önemli bulunmuştur. Yapılan önemlik testi sonucunda en yüksek tohum kalınlığı değeri, PG 1212, PG 1209, PG 1210 no'lu genotiplerde bulunmuştur. En düşük tohum kalınlığı ise, PG 1214 ve PG 1215 ve PG 1217 no'lu genotiplerde bulunmuştur. Çerezlik olarak kullanılan kabak çekirdeklerinde tohum kalınlığının az olması istenmektedir. Bu sebeple tohum kalınlığı düşük olan genotiplerden çerezlik olarak, PG 1214 ve PG 1215 ve PG 1217 no'lu genotipler seçilebilir. Bu genotiplerin genetik akrabalıklarına bakıldığında PG 1214 ve PG 1215 no'lu genotiplerin benzerlik oranının yüksek olduğu (0.92) görülmektedir. PG 1217'nin ise bu genotiplere nispeten uzak olduğu söylenebilir.

Kabuk iç oranı olarak genotipler incelendiğinde ise, kabuk iç oranı %82.21 ile %77.90 arasında değişmiştir. Yapılan önemlik testi sonucunda en yüksek kabuk iç oranına sahip genotipler, PG 1210 ve PG 1212 no'lu genotiplerdir. En düşük kabuk iç oranına sahip genotip ise, PG 1217 no'lu genotiptir. Yanmaz ve Düzeltir (2004), yaptıkları çalışmalarda ülkemizde genel olarak tercih edilen kabak çekirdeğinin şekli eliptik, krem renkli, iri veya orta irilikte tohumlara sahip, çitlaması kolay ve içi dolgun olan çeşitler olduğunu saptamışlardır. Bu bu veriler doğrultusunda içi dolgun olan genotiplerin çerezlik tüketime daha uygun olduğu söylenebilir. Bu sebeple, PG 1210 ve PG 1212 no'lu genotipler çerezlik olarak daha uygundur.

ve çerezlik kabak çekirdeği üretimi için seçilebilir. Bu genotiplerin genetik benzerliklerine bakıldığında ise, 0.80 oranında benzer genotipler olduğu anlaşılmıştır.

Kaliteye etki eden önemli unsurlardan protein, yağ ve yağ asitleri analizleri de araştırma kapsamında incelenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda kabak çekirdeğinin % 25.2–37.0 protein içerdiği tespit edilmiştir (Sacilik, 2006; El-Adawy ve Taha, 2001). Yürütülen bu çalışmada, genotipler arasında protein değeri yönünden farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Yapılan analizler sonucunda ise, kabak çekirdeği genotiplerinde protein oranı %25.50 ile %21.88 arasında değişmiştir. Yapılan önemlik testi sonucunda en yüksek protein oranına sahip genotipler, PG 1212, PG 1208, PG 1213 ve PG1211 no'lu genotiplerdir. En düşük protein oranına sahip genotip ise, PG 1217 no'lu genotiptir. PG 1217 ile PG 1216 genotipleri birbirine en yakın genotip oldukları halde farklı grupta yer aldıkları görülmektedir. Besin değeri yönünden protein miktarı önemli bir etken olduğundan çerezlik olarak protein oranı yüksek olan genotiplerden PG 1212, PG 1208, PG 1213 ve PG1211 no'lu genotipler çerezlik kabak çekirdeği üretimi için önerilen genotiplerdir.

Yağ oranında bakıldığında ise, genotipler arasında yağ değeri yönünden farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Analizler neticesinde kabak çekirdeği genotiplerinde toplam yağ oranı % 40.63 ile %36.94 değerleri arasında değişmiştir. Yapılan önemlik testi sonucunda en yüksek yağ değerine sahip genotipler, PG 1211 ve PG 1209 no'lu genotiplerdir. En düşük yağ oranına sahip genotip ise, PG 1216 no'lu genotiptir. Yağlı tohumlardan olan kabak çekirdeği, ürünü hem aroma hem de doyuruculuk açısından daha tatmin edici hale getirir. Yapılan çalışmalarda kabak çekirdeğinin % 37,8–45,4 oranında yağ içerdiği tespit edilmiştir (Sacilik, 2006; El-Adawy ve Taha, 2001). Yapılan araştırmada PG1208 PG1216 no'lu genotiplerin dışındaki tüm genotiplerin yağ değeri ortalama değerin üstündedir. Yağ oranı en yüksek genotiplerden olan PG1211 ve PG 1209 no'lu genotipler çerezlik olarak önerilebilir. Bu genotiplerin genetik akrabalıklarına bakıldığında ise, 0.90 oranında benzer olduğu sonucuna varılmıştır.

Denemeye alınan kabak çekirdeklerinde yağ asitlerinden palmitik asit, steraik asit, oleik asit ve linoleik asit değerleri de incelenmiş ve kabak çekirdeği genotipleri arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Kabak çekirdeği genotiplerinde yapılan analizlerde, oleik asit oranı %61.65 ile % 25.22 değerleri arasında değişmiştir. Yapılan önemlik testi sonucunda ise, en yüksek oleik asit oranına sahip genotip, PG 1215 no'lu

genotiptir. En düşük oleik asit oranına sahip genotip ise PG 1208 nolu genotiptir. Linoleik asit değerine bakıldığında ise, genotiplerin linoleik asit değerleri %56.65 ile %56.45 arasında değişmiştir. Yapılan önemlik testi sonucunda en yüksek linoleik asit değerine sahip genotipler, PG 1208 ve PG 1209 no'lu genotiplerdir. En düşük linoleik asit değerine sahip genotip ise, PG 1215 no'lu genotiptir. Denemeye alınan kabak çekirdeği genotiplerinde steraik asit oranı %5.59 ile % 4.22 arasında değişmiştir. Yapılan önemlik testi sonucunda en yüksek steraik asit değerine sahip genotipler, PG 1211 ve PG 1213' nolu genotiplerdir. En düşük steraik asit sahip genotipler ise, PG 1215 ve PG 1217 no'lu genotiplerdir. Palmitik asit değerime bakıldığında genotipler arasındaki palmitik asit değerleri %13.43 ile %10.63 değerleri arasında değişmiştir. Yapılan önemlik testi sonucunda en yüksek palmitik asit değerine sahip genotipler, PG 1217 ve PG 1216'dır. En düşük palmitik asit değerine sahip genotipler ise, PG 1212 ve PG 1215 no'lu genotiplerdir. Younis ve ark. (2000)'nin yaptıkları çalışmalarda kabak çekirdeği yağının zengin bir doymamış asit bileşimine sahip olduğunu ve yağ asidi kompozisyonunun birçok faktöre (tür, yetiştirme bölgesi, iklim, olgunluk durumu) bağlı olarak değişmekte olduğunu saptamışlardır. Younis ve ark., (2000); Murkoviç ve Prannhauser, (2000)'in yaptıkları araştırmalarda ise, linoleik asidin, oksidasyonu hızlandırarak yağın çabuk acılaştırmasına ve dolayısıyla raf ömrünün kısalmasına neden olduğunu, ayrıca yağ asidi kompozisyonu içinde linoleik asidin oransal olarak azalması ve oleik asidin buna bağlı olarak artması ile ürünün raf ömründe bir uzama gerçekleştirdiğini saptamışlardır. Bu sebeple çerezlik olarak olarak üretilecek kabak çekirdeğinde oleik ve linoleik asit miktarı oldukça önemlidir. Araştırma sonuçlarına göre, linoleik asit miktarı düşük buna karşı, oleik asit miktarı yüksek olan genotiplerden PG 1215 ve PG1216 no'lu genotipler çerezlik kabak çekirdeği üretimi için uygundur.

Tez çalışması kapsamında çerezlik kabak çekirdeği genotipleri Fe, Zn ve Cu mineral değerleri bakımından da incelenmiştir. İnceleme neticesinde, genotipler arasında Fe minerali değeri yönünden farklılık istatistik olarak önemli bulunmuştur. Denemeye alınan kabak çekirdeği genotiplerinde Fe minerali değeri 299.14 mg/kg ile 142.36 mg/kg arasında değişmiştir. Yapılan önemlik testi sonucunda en yüksek Fe değerine sahip genotip PG 1213 no'lu genotiptir. En düşük Fe değerine sahip genotip ise, PG 1214 no'lu genotiptir. Zn minerali değerleri ise, 105.08 mg/kg ile 62.45 mg/kg değerleri arasında değişmiştir. Yapılan önemlik testi sonucunda en yüksek Zn minerali değerine sahip genotip PG 1208'dir. En düşük Zn minerali değerine sahip genotip ise, PG 1211 no'lu genotip bulunmuştur. Cu minerali değeri 10.33 mg/kg ile 7.17 mg/kg değerleri arasında değişmiştir. Yapılan önemlik testi

sonucunda en yüksek Cu minerali değerine sahip genotipler, PG 1209 ve PG 1215 nolu genotiptir. En düşük Cu minerali değerine sahip genotip ise, PG 1214 no'lu genotiptir. Demirci, (2005)'in bildirdiğine göre; kabak çekirdeğinin önemli mineral içeriğinden birisi olan demir, birçok enzim için hayati bir bileşendir. Kabak çekirdeğindeki önemli minerallerden bakır da vücut için gerekli iz elementlerden birisidir. Sinir sisteminin faaliyetlerinin düzgün devam etmesinde ve enerji metabolizmasındaki enzimlerin aktivasyonunda görev almaktadır (Baysal, 1994; Berdainer, 1998). Kabak çekirdeğinin bir prostat koruyucu role sahip olması çinko içeriğinin yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Çinko, tıp dünyasında prostat büyüklüğünü azaltmak amacıyla kullanılan bir mineraldir (Anonim, 2006a). Araştırma kapsamında incelenen Fe, Zn ve Cu mineralleri bakımından en zengin genotip PG 1213 no'lu genotiptir.

8 farklı primer kullanılarak yapılan RAPD analizleri ile ise, kalite özellikleri bakımından farklılık gösteren 1208, 1209, 1210,1211, 1212, 1213, 1214, 1215, 1216 ve 1217 numaralı genotiplerin genetik uzaklıkları incelenmiştir. RAPD analizi sonucunda; 8 primerin 4'ü ile (OPC1, OPC6, OPC15 ve OPC19) yapılan analizlerde genotipler arasında belirgin farklılıklar gözlenmemesine rağmen diğer 4 adet primer kullanılarak yapılan analizler ile çalışmada kullanılan 10 adet kabak çekirdeği genotipi birbirinden ayrılabilmiştir. Bu sonuçlar RAPD tekniğinin çekirdeklik kabak genotiplerini birbirinden ayırma ve mevcut genetik çeşitliliğin saptanmasında kullanılabileceğini göstermektedir. Yapılan daha önceki çalışmalarda da, RAPD tekniğinin tür ve çeşitlerin tanımlanmasında daha etkili sonuç verdiği saptanmıştır (Ergül 2000, Yıldırım ve Kandemir 2001).

RAPD analizi sonuçlarına göre çalışmada kullanılan 10 çekirdeklik kabak genotipinin birbirinden farklı genotipler olduğu anlaşılmıştır. Yapılan araştırma göstermektedir ki; genotiplerin kalite özelliklerine etki eden faktörlerin farklı değerler vermesi bu genotiplerin birbirinden farklı genetik özellikte olmasından kaynaklanmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abak K, Sakin M, Karakullukçu S (1990). Improvement of pumpkin for naked seeds. XXIII. International Horticultural Congress, Italy, Abstracts Book 2, 3074.
- Aka Kaçar Y (2001). Bahçe Bitkileri İslahında Kullanılan Moleküler Teknikler, Yüksek Lisans Ders Notları. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü (yayınlanmamış).
- Anonim (2004). Sebzeleler. T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu. <http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do> (07.2008).
- Anonim (2005). Nevşehir Valiliği II. Çerçeve raporu.
- Anonim (2006a). Kabak yetiştiriciliği. http://www.osmaniyetarim.gov.tr/yetis_detay.asp?islem=0101030236 (07.2009).
- Anonim (2006b). Pumpkin seed kernels. Nutrition facts. <http://www.nutritiondata.com/facts-B00001-01c20nS.html> (07.2006).
- Anonim (2006c). Sunflower seed kernels. Nutrition facts. <http://www.nutritiondata.com/facts-B00001-01c20nd.html> (07.2006).
- Anonim (2006d). Soybeans. Nutrition facts. <http://www.nutritiondata.com/facts-B00001-01c218c.html> (07.2006).
- Anonim (2006e). Huzelnut. The International Tree Nut Council <http://www.treenuts.org/index.php?op=7&fam=235&id=37> (07.2006).
- Anonim (2006f). Walnut. The International Tree Nut Council. <http://www.treenuts.org/index.php?op=7&fam=235&id=42> (07.2006).
- Anonim (2006g). Pine nute. The International Tree Nut Council. <http://www.treenuts.org/index.php?op=7&fam=235&id=127> (07.2006).
- Anonim (2011). Gıdalarda Nem ve Toplam Kuru Madde Tayini. http://www.cygm.meb.gov.tr/gidalarda_nemvetoplam_kuru_madde.pdf
- Baysal A (1999). Beslenme, 8. Baskı. Hacette Üniversitesi Sağlık Teknolojileri Yüksek Okulu Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Hatipoğlu Yayınları, Ankara 106-246 s.
- Berdaniner CD (1998). Advanced Nutrition Micronutrients. Universty of Georgia Athents, Giorgia.
- Corazza-Nunes MC, Machado MA, Nunes WMC , Cristofani M, Targon M L P N, (2002). Assessment of genetic variability in grapefruits (*Citrus paradisi* Macf.) and pummelos (*C. maxima* (Burm.) Merr.) using RAPD and SSR markers. *Euphytica*, 126: 169-176.

- Damon M, Zhang NZ, Haytowitz DB, Booh SL (2005). Phylloquinone (vitamin K₁) content of vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis* 18: 751-758 s.
- Danin-Poleg Y, Reis N, Tzuri G, Katzir N (2001). Development and Characterization of Microsatellite Markers in *Cucumis*. *Theor. Appl. Genet.*, 102: 61-72.
- Demirci M (2005). Beslenme, İkinci Basım. Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Tekirdağ. 95-134 s.
- Deng ZN, Gentile A, Nicolasi E, Domina F, Vardi A, Tribulato E (1995). Identification of *in vivo* and Lemon Mutants by RAPD Markers. *Journal of Horticultural Science*. 70(1): 117-125.
- Dunham VL, Bryant JA (1983). In isolation of membrans and organelles from plant cell (ed. J. L. Hall and A. L. Moore), p.237. Academic Pres, London.
- Düzeltir B (2004). Çekirdek kabağı (*Cucurbita pepo* L.) hatlarında morfolojik özelliklere göre tanımlama ve seleksiyon çalışmaları. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 76.
- El-Adawy TA, Taha KM (2001). Characteristics and composition of different seed oil an flours. *Food Chemistry* 74: 47-54 s.
- Ergül A (2000). Asmalarda (*Vitis vinifera* L. cvs.) Genomik DNA Parmak İzi Analizi ile Moleküler Karakterizasyon. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Ens. Doktora Tezi, 86 s.
- Ferriol M, Pico B, Nuez F (2003). Genetic divercity of agermplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 107:271-282 s.
- Fruhworth GO, Wenzl T, El-Toukhy R, Wagner FS, Hermetter A (2003). Fluorescence screening of antioxidant capacity in pupmkin seed oil and natural oils. *Europen Journal of Lipid Science Technology* 105: 266-274 s.
- Garcia E, Jamilena M, Alvarez JI, Arnedo T, Oliver JL, Lazano R (1998). Genetic relationships among melon breeding lines revealed by RAPD markers and agronomic traits. *Theor. Appl. Genet.*, 96: 878-885 s.
- Garcia-Mas J, Oliver M, Gomez-Paniagua H, De Vicente MC, (2000). Comparing AFLP, RAPD and RFLP markers for measuring genetic diversity in melon. *Theor. Appl. Genet.*, 101: 860-864 s.
- Gupta PK, Varshney RK (2000). The Development and Use of Microsatellite Markers for Genetic Analysis and Plant Breeding with Emphasis on Bread Wheat. *Euphytica*, 163-185 s.
- Gong L, Stift G, Kofler R, Panchner M, Lelley T (2008). Microsatellites for the Genus *Cucurbita* and an SSR-Based Genetic Linkage Map of *Cucurbita pepo* L. *Theor. Appl. Genet.*, 117: 37-48.

- Göksel Ç (1999). RAPD Markerleriyle Bazı Mandarin Çeşitlerinin Tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi (Yayınlanmamış).
- Gülşen O, Mutlu N (2005). Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları. Alatarım 4 (2): 27–37 s.
- Gülşen O, Karagül S, Abak K (2007). Diverstiy and relationship among Turkish okra germplasm by SRAP and phenotypic marker polymorphism. Section Cellular and Molecular Biology, Bratislava, 62/1:41-42.
- Jarret RL, Merrick LC, Holms T, Evans J, Aradhya M K (1997). Simple Sequence Repeats in Watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai). Genome, 40(4): 433-441.
- Kaçay YA (2001). Türkiye’de Yetiştirilen Önemli Kiraz (*Prunus avium* L.) ve Vişne (*Prunus cerasus* L.) Çeşit ve Tiplerinin DNA Parmakizi Yöntemi ile Sınıflandırılması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 190 s.
- Katzir N, Danin-Poleg Y, Tzuri G, Karchi Z, Lavi U, Cregan PB, (1996). Length polymorphism and homologies of microsatellites in several Cucurbitaceae species. Theor. Appl. Genet. 93:1282-1290.
- Katzir N, Tadmor Y, Tzuri G, Leshzehen E, Mozes-Daube N, Denin-Levi A, Thomas CE, Keinath AP, Wehner TC (2000). Estimation of Genetic Diversity Among *Citrullus* accessions Using RAPD Markers. Acta Hort. 510: 385-390.
- Khan S, Spor W (2001). Use of molecular and morphological markers as a quality control in plant tissue culture. Pakistan Journal of Biological Sciences 4(4):479-482.
- Kümeli T (2006). Kan pıhtısı ve K vitamini tedavisi.
<http://www.milliyet.com.tr/extra/venus/vitamin/vit001/vitamin77.html> (07.2009).
- Lavi U, Cregan P, Schap T, Milel J (1994). Amplification and breeding of perennial fruit crops. In J. Janick (ed) Plant Breeding Reviews. John Wiley Sons, Inc: NY Vol:397-401.
- Liston A, Rieseberg L H, Adams R P, Do N (1990). Ann. Missouri Bot. Garden 77:859.
- Loy JB (2006). Hull-less seeded pumpkins a new edible snackseed crop.
<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1990/v1-403.html> (07.2006).
- Luro F, Laigret F, Bove JM, Ollitrault P (1992). Application of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) to Citrus Genetics and Taxonomy. Proc. Int Soc. Citriculture, 1: 225-228.
- Mohan M, Nair S, Bhagwat A, Krishna TG, Yano M, Bhatia IA, and Monforte AJ, Fatihi A, Kypriotakis A, Iacovides TA, Ioannides IM, Kalaitz P (2009). Genetic Diversity and Population Structure of Traditional Greek and Cypriot Melon Cultigens

- (*Cucumis melo* L.) Based on Simple Sequence Repeat Variability. HortScience, 44(7): 1820-1824.
- Murkoviç M, Pranhauser W (2000). Stability of pumpkin seed oil. European Journal of Lipid Science Technology 102: 607-611.
- Nakata E, Staub JE, Lopez-Sese AI, Katzir N (2005). Genetic diversity of Japanese cultivars (*Cucumis melo* L.) as assessed by random amplified polymorphic DNA and simple sequence repeat markers. Genetic Resources and Crop Evolution, 52: 405-419.
- Olaofe O (1994). Amino acid and mineral compositions and functional properties of some oilseeds. Journal of Agriculture and Food Chemistry 42: 878-881.
- Özcan S, Gürel E ve Babaoğlu M (2001). Bitki Biyoteknolojisi II. Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları, Konya.
- Paris HS (2001). Characterization of the *Cucurbita pepo* collection at the Newe Ya'ar Research Center, Israel. Plant Genet Res Squash. J Hered 77:403-409.
- Paris HS, Yonah N, Portnoy V, Mozes-Daube N, Tzuri N, Katzir N (2003). Assessment of genetic relationships in *Cucurbita pepo* (*Cucurbitaceae*) using DNA markers. Theor. Appl. Genet. 106:971-978
- Paris HS (2004). AFLP, ISSR, and SSR polymorphisms are in accordance with botanical and Cultivated plant taxonomies of the highly polymorphic *Cucurbita pepo*. Acta Hort. 634:167-171.
- Rovira M, Aleta N, Germain E, Arus P (1993). Inheritance and Linkage Relationships of Ten Isozyme Genes in Hazelnut. Theor. Appl. Genet.86: 322-328.
- Sabır A (2008). Bazı Üzüm Çeşit ve Anaçlarının Ampelografik ve Moleküler Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 154.
- Sacilik K (2006). Effect of drying methods on thin-layer drying characteristics of hull-less seed pumpkin (*Cucurbita pepo* L.). Journal of Food Engineering 74: 1-8.
- Sakin M (1985). Trakya'da *Cucurbitaceae* familyası sebze türleri tarımı, sorunları ve bunların çözüm yolları. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 116 s.
- Sarı N, Aka-Kaçar Y, Yalçın-Mendi Y, Solmaz İ, Aktaş H (2007). Karpuz Genetik Kaynaklarının Morfolojik ve Genetik Karakterizasyonu. TÜBİTAK, Proje No: 104O073 Sonuç Raporu.
- Stuart AG (2006). Pumpkin seeds.
<http://www.herbalsafety.utep.edu/herbs-pdfs/pumpkin.pdf> (07.2009).
- Stuart A (2006). Pumpkin seeds.
<http://www.herbalsafety.utep.edu/herbs-pdfs/pumpkin.pdf> (07.2009).

- Şensoy 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: 1351-1365
- Temizkan G, Arda N (2004). *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*. ISBN: 975-420-347-4.
- Todoroviç T (1989). Investigation of filbert (*Corylus* L.) isozymes. *Adv. Hort. Sci.* 3:38-39
- Toprakkarıştıran G (1997). Çekirdek Kabaklarında Seleksiyon Islahı: 1. Döl Kademesinin Elde Edilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 34 s.
- Yanmaz R, Düzeltir B (2003). Çekirdek kabağı yetiştiriciliği. Türk-Koop Ekin, Tarım Kredi Kooperatifi Merkez Bilgi Yayınları 26: 22-24.
- Yıldırım A, Kendemir G (2001). Genetik Markörler ve Analiz Metodları. Bitki Biyoteknolojisi II – Genetik Mühendisliğ ve 106 Uygulamaları, Ed: Özcan S, Gürel E, Babaoğlu M., Selçuk Üniversitesi Basımevi.
- Yıldırım A (2008). Bitki Islahında Markörler Yardımıyla Seleksiyon. (googlepages.com/AY-MarkörlerYardımiylaSeleksiyon.pdf).
- Younis YMH, Ghirmay S, Al-Shihry SS (2000). African *Cucurbita pepo* L. : Properties of seed and variability in fatty acid composition of seed oil. *Phytochemistry* 54: 71-75.
- Zietkiewicz, Rafalski A, Labuda D (1994). Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics*, 20: 176-183.
- Zhang XP, Rhodes BB, Skorupska H (1994). RAPD Molecular Markersin Watermelon. *Cucurbits Genetics Cooperative Report*, 17: 116-119.
- Zhuang FY, Chen JF, Staub JE, Qian CT (2004). Assesment of Genetic Relationships Among *Cucumis* spp. by SSR and RAPD Marker Analysis. *Plant Breeding*, 123: 167-172
- Zuhair-Al H, El-Fettah AAA, El-Latif H AA (1997). Efficacy of simvastatin and pumpkin-seed oil in the management of Dietary-Indicuced Hypercholesterolemia. *Pharmacological Research*, 35: 403-408.
- Walton M (1993). Moleculer markers: which ones to use *Seed World*, July 1993, p: 23-29.
- Williams JGK, Kuelik AR , Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV (1990). DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. *Nuc. Acids Res.*, 18:6531 – 6535.