

**HIYARDA (*Cucumis sativus* L.) KABAK SARI
MOZAYİK VİRÜSÜ (ZYMV)'NE KARŞI
DAYANIKLILIĞI KONTROL EDEN GENLE
BAĞLANTILI MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİLERİN
BELİRLENMESİ**

Hasan Özgür ŞİĞVA



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HIYARDA (*Cucumis sativus* L.) KABAK SARI MOZAYİK VİRÜSÜ (ZYMV)'NE
KARŞI DAYANIKLILIĞI KONTROL EDEN GENLE
BAĞLANTILI MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİLERİN BELİRLENMESİ**

Hasan Özgür ŞİĞVA

Doç. Dr. Ahmet İPEK
(Danışman)

DOKTORA TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

BURSA-2015
Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Hasan Özgür ŞİĞVA tarafından hazırlanan “Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Bitkisinde Kabak Sarı Mozayik Virüsü (ZYMVV)’ne Karşı Dayanıklılığı Kontrol Eden Genin Genetik Haritasının Moleküler İşaretleyiciler Kullanılarak Oluşturulması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Ahmet İPEK

Başkan :	Doç. Dr. Ahmet İPEK Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı	İmza
Üye :	Prof. Dr. Hatice GÜLEN Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı	İmza
Üye :	Doç. Dr. Himmet TEZCAN Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı	İmza
Üye :	Prof. Dr. Önder TÜRKMEN Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı	İmza
Üye :	Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı	İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım
Prof. Dr. Ali Osman DEMİR
Enstitü Müdürü
.././....(Tarih)

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

18/03/2015

İmza

Hasan Özgür ŞİĞVA

ÖZET

Doktora Tezi

HIYARDA (*Cucumis sativus* L.) KABAK SARI MOZAYİK VİRÜSÜ (ZYMV)'NE KARŞI DAYANIKLILIĞI KONTROL EDEN GENLE BAĞLANTILI MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİLERİN BELİRLENMESİ

Hasan Özgür ŞİĞVA

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ahmet İPEK

Bu doktora tezi çalışmasında, hıyar (*Cucumis sativus* L.)'da önemli bir virütik hastalık etmeni olan Kabak Sarı Mozaik Virüsü (ZYMV)'ne karşı dayanıklılık sağlayan gene bağlantılı moleküler işaretleyicilerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla daha önceden bu hastalığa karşı belirlenen homozigot dayanıklı ve homozigot hassas iki hıyar çeşidi kullanılmıştır. Bu ebeveynler bire bir melezlenerek F₁ hibritleri elde edilmiştir. Elde edilen F₁ populasyonundan rastgele seçilen 5 adet birey, kendilenecek 5 adet F₂ populasyonu oluşturulmuştur. Elde edilen 5 adet F₂ populasyonundan 1 tanesi seçilmiş ve bu populasyon bireylerinin her biri ekilerek F₃ aşamasına gidilmiştir. F₃ aşamasında elde edilen bireylerden 10 ar adet tohum alınarak bu bireylerde patojenisite testi yapılmıştır. Yapılan patojenisite testi sonucunda dayanıklı, hassas ve heterozigot gruplar belirlenmiştir.

Yapılan her bir kademede bitkiler 3-4 gerçek yaprak aşamasına geldiğinde bu bitkilerden tek tek yaprak numuneleri alınarak DNA izolasyonları yapılmıştır. F₃ aşamasında yapılan patojenisite testi sonrasında belirlenen gruplar göz önünde alınarak hassas ana, dayanıklı baba, dayanıklı grup-1, dayanıklı grup-2, hassas grup-1, hassas grup-2 ve negatif kontrol (su) olmak üzere 8 grup belirlenmiştir. Bu grupların (negatif kontrol hariç) DNA ları alınarak, moleküler işaretleyiciler ile taramaları yapılmıştır. Moleküler işaretleyici taramalarında 170 adet SRAP, 586 adet SSR, 11 adet InDel ve 308 adet AFLP primer kombinasyonları kullanılmıştır. Yapılan moleküler tarama sonuçlarına göre, 170 adet SRAP primer kombinasyonlarından 760 DNA bandı elde edilmiştir. Elde edilen bu DNA bandlarından 68 tanesi ilgili DNA larda polimorfizm göstermiş olup, polimorfizm oranı % 8,95' tir. 586 adet SSR primerlerinden 52 tanesi ilgili DNAlarda polimorfizm göstermiş olup, polimorfizm oranı % 8,87' dir. 11 adet InDel primerlerinden 32 adet DNA bandı elde edilmiş, elde edilen bu bantlardan 4 tanesi polimorfizm göstermiş olup polimorfizm oranı % 12,5'tir. Toplamda 308 adet AFLP kombinasyonu denenmiştir. Yapılan bu çalışmaların sonucunda E-ACA/MCA, EACA/M-CC, E/ACA/M-CT, E-AAC/M-CA, EAAC/M-CC, EAAC/M-CT, E-AAT/M-CAC, E-AAT/M-CAG, E-ACT/M-CAA primer kombinasyonları, daha önceden oluşturduğumuz ana, baba, F₁ ve bulk gruplar üzerinde doğru açılımı verdiği gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hıyar, ZYMV, SSR, SRAP, InDel, AFLP, moleküler markırlar
2015, ix, 98 sayfa

ABSTRACT
PhD Thesis

**DETERMINATION of MOLECULAR MARKERS LINKED to the
RESISTANCY CONTROL GENE TOWARDS ZUCCHINI YELLOW MOSAIC
VIRUS (ZYMV) in CUCUMBER (*Cucumis sativus* L.)**

Hasan Özgür ŞİĞVA

Uludağ University

Graduate School of Natural and Applied Science

Department of Horticulture

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ahmet İPEK

In greenhouse cucumber (*Cucumis sativus* L.) cultivation, it is suggested that using of resistant variety is the most important method for battling to virus diseases. In this PhD thesis, we aimed that to determine of the genetic mapping via molecular markers of the resistancy toward Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV) in cucumber (*Cucumis sativus* L.). In view of this aim, we determined two parental lines that are resistant and susceptible to ZYMV. These parental lines were crossed in order to get F₁ population. After we developed to F₁ population, we selected 5 F₁s randomly to get F₂ populations. After developed 5 F₂ populations, we selected only 1 F₂ population and all of F₂ progenies were selfed to get F₃. In F₃ stage, we selected randomly 10 F₃ plants to do pathogenisity test. After pathogenisty test, we determined to resistant, susceptible and heterozygot plants in F₂ population.

All of these stages, we collected to fresh leaf samples in order to do DNA isolation. We determined to 8 groups that were bulk groups (resistant group-1, resistant group-2, susceptible group-1, susceptible group-2) with susceptible mother, resistant father and negative control (water). We screened all of these group with 170 SRAP, 586 SSR, 11 InDel and 308 AFLP primer combinations. According to molecular screening results, there were acquired 760 DNA bands from 170 SRAP primer combinations. Within 760 DNA bands, only 68 DNA band patterns showed polymorphism and the ratio of polymorphism was 8,95 %. Within 586 SSR markers, only 52 SSRs showed polymorphism and the ratio of polymorphism was 8,87 %. From 11 InDel markers, tehere were acquired 32 DNA band patterns, within 32 DNA band patterns, only 4 showed polymorphism and the ratio of polymorphism was 12,5 %. Within 308 AFLP primer combinations were done and *E-ACA/MCA*, *EACA/M-CC*, *E/ACA/M-CT*, *E-AAC/M-CA*, *EAAC/M-CC*, *EAAC/M-CT*, *E-AAT/M-CAC*, *E-AAT/M-CAG*, *E-ACT/M-CAA* primer combinations showed correct segregation on our parental lines, F₁s and bulk groups.

Key Words: Cucumber, ZYMV, SSR, SRAP, InDel, AFLP, Molecular markers

2015, ix, 98 pages

TEŞEKKÜR

Yapmış olduğum doktora tez çalışmamın her aşamasında engin bilgi ve deneyimlerini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ahmet İPEK'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın her aşaması ile yakından ilgilenen, vermiş oldukları bilgi, görüş ve önerileri ile tezimin daha hızlı yürütmesinde doğrudan katkı sağlayan çok değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Vedat ŞENİZ'e, Sayın Prof. Dr. Hatice GÜLEN'e, Sayın Doç. Dr. Himmet TEZCAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımın her aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Meryem İPEK'e ve değerli çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

3120013 nolu proje ile bu tez çalışmasının maddi anlamda desteklenmesini sağlayan TÜBİTAK-TEYDEP'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışması esnasında her türlü imkanlarını sunan MAY Agro Tohumculuk San. Tic. A.Ş.'ye teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca beni her anlamda destekleyen, her zaman yanımda olan anne ve babama, gösterdiği sabır ve anlayışından dolayı eşim Zeynep Özlem DOĞAN ŞİĞVA'ya ve varlığıyla hayatımızı anlamlandıran neşe kaynağım, sevgili kızım Yağmur ŞİĞVA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Hasan Özgür ŞİĞVA
18/03/2015

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	10
2.1. Markır Sistemleri	10
2.1.1. Morfolojik Markırlar	10
2.1.2. Moleküler Temelli Markırlar	11
2.1.2.1. Protein Temelli Moleküler Markır Sistemleri.....	12
2.1.2.1.1. İzozimler (İzoenzimler).....	13
2.1.2.2. Hibridizasyon Temelli Moleküler Markır Sistemleri.....	14
2.1.2.2.1. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms; Sınırlayıcı Enzim Parça Uzunluk Çeşitliliği)	14
2.1.2.3. PCR (Polymerase Chain Reaction; Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Temelli Moleküler Markır Sistemleri	15
2.1.2.3.1. RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA; Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA).....	16
2.1.2.3.2. SCARs (Sequence Characterized Amplified Regions; Sekansı Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler)	17
2.1.2.3.3. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism; Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi)	17
2.1.2.3.4. SSRs (Simple Sequence Repeats; Basit Dizi Tekrarları).....	18
2.1.2.4. Sekans Temelli Moleküler Markır Sistemleri	19
2.1.2.4.1. SNP (Single Nucleotide Polymorphism; Tek Nükleotid Polimorfizmi).....	19
2.2. Hıyar'da (<i>Cucumis sativus</i> L.) Moleküler Markırlar	20
2.3. Kabak Sarı Mozayik Virüsü.....	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM	26
3.1. MATERYAL	26
3.2. YÖNTEM.....	26
3.2.1. Haritalama Populasyonunun Oluşturulması.....	26

3.2.1.1. Ebeveyn Temini	26
3.2.1.2. F ₁ Populasyonlarının Oluşturulması	26
3.2.1.3. F ₂ Populasyonlarının Oluşturulması	27
3.2.1.4. F ₃ Populasyonun Oluşturulması.....	27
3.2.2. Patojenisite Testlerinin Yapılması	28
3.2.2.1. Virüs İnokulumunun Hazırlanması ve Bitkilere Aşılması	28
3.2.2.2. Hıyarlar'da in vivo virüs testlemeleri	28
3.2.2.3. Serolojik Çalışmalar ile Dayanıklılığın Kontrol Edilmesi.....	29
3.2.3. Genetik Haritalama Çalışmaları	31
3.2.3.1. DNA İzolasyonu.....	31
3.2.3.2. DNA Miktar ve Kalite Ölçümü.....	32
3.2.3.3. Moleküler Markırlar ve PCR İşlemleri	33
3.2.3.3.1. SSR (Simple Sequence Repeats; Basit Dizi Tekrarları) Moleküler Yöntemi	33
3.2.3.3.2. SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism; Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm) Moleküler Yöntemi	34
3.2.3.3.3. InDEL (Insertion-Deletion Polymorphisms; Eklenme ve Silinme Polimorfizmi)	36
3.2.3.3.4. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism; Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi)	37
3.2.3.4. BSA (Bulk Segregant Analizi).....	38
4. BULGULAR	40
4.1. F ₁ , F ₂ ve F ₃ Populasyonlarının Oluşturulması	40
4.2. Patojenisite Testleri.....	40
4.3. Genetik Haritalama Çalışmaları.....	42
4.3.1. DNA İzolasyonu.....	42
4.3.2. DNA Miktar ve Kalite Ölçümü.....	43
4.4. PCR ve Moleküler Markır Analizleri.....	44
4.4.1. SSR (Simple Sequence Repeats; Basit Dizi Tekrarları)	44
4.4.2. SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism)	45
4.4.3. InDEL (Insertion-Deletion Polymorphisms).....	46
4.4.4. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).....	47
4.6. Haritalama Populasyonunun Test Edilmesi	48
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	50
KAYNAKLAR	53
EKLER.....	62
ÖZGEÇMİŞ	98

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C	Santigrad derece
kDa	Kilodalton
lux	Birim yüzeye düşen ışık akısı (Luminous flux)
mg	Miligram
mM	Milimolar
ml	Mililitre
ng	Nanogram
nm	Nanometre
pH	Hidrojenin gücü (Power of Hydrogen)
rpm	Dakikada dönme sayısı (Revolutions per minute)
U	Birim (Unit)
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

Kısaltmalar

AFLP	Açıklama Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism)
AP-PCR	Rastgele Seçilmiş Primerin Polimeraz Zincir Reaksiyonu(Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction)
BSA	Bulk Segreant Analizi
CAPS	Bölünerek Çoğaltılmış Polimorfik DNA (Cleaved Amplified Polymorphic DNA)
CMV	Hıyar Mozaik Virüsü (Cucumber Mosaic Virus)
CVYV	Hıyar Damar Sarılığı Virüsü (Cucumber Vein Yellowing Virus)
DAFs	DNA Parmakizi Çoğaltımı (DNA Amplification Fingerprinting)
DAS-ELISA	(Double-Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay)
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EST	İfade Edilmiş Dizi Etiketleri (Expressed Sequences Tag)
InDEL	Insertion DeletionNucleotide Polymorphism (Eklenme ve Silinme Nükleotid Polimorfizmi)
ISSR	Basit Dizi Tekrarları Arası Polimorfizm (Inter Simple Sequence Repeat)
NTP	Nükleotid 3 Fosfat (Nucleotide Tri Phosphate)
PIC	Polimorfizm Bilgi İçeriği (Polymorphism Information Content)
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
PRSV	Papaya Ring Spot Virus (Papaya Halkalı Leke Virüsü)

RAPD	Rastgele oğaltılmış Polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA)
RFLP	Sınırlayıcı Enzim Para Uzunluk eşitliliği (Restriction Fragment Length Polymorphisms)
RNA	Ribo Nkleik Asit
SCAR	Sekansı Karakterize Edilmiş oğaltılmış Bölgeler (Sequence Characterized Amplified Regions)
SFR	Sper İnce znrlkl (Super Fine Resolution)
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism)
SPAR	Tek Primer oğaltım Reaksiyonu (Single Primer Amplification Reaction)
SqMV	Kabak Mozayik Virüsü (Squash Mosaic Virus)
SSR	Basit Dizi Tekrarları (Simple Sequence Repeats)
STRs	Kısa Bitişik Tekrarlara (Short Tandem Repeats)
STS	Hedef Dizilimli DNA Bölgeleri (Sequence Tagged Site)
UV	Mor tesi (Ultra Violet)
WMV II	Karpuz Mozayik Virüsü II (Watermelon Mosaic Virus II)
ZYMV	Kabak Sarı Mozaik Virüsü (Zucchini Yellow Mosaic Virus)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1. Hıyar bitkisinde virüs inokülasyonu.	28
Şekil 3.2. Hıyar bitkisinde ZYMV hastalığının gösterdiği belirtiler	29
Şekil 3.3. Hıyar bitkisinde DAS-ELISA prosedürü.	30
Şekil 4.1. ZYMV patojenisite testi sonu sonuçlarına.....	41
göre hassas ve dayanıklı çıkan bitki örnekleri	
Şekil 4.2. Bazı SSR primerlerinin genotipleme tarama jel görüntüleri	45
Şekil 4.3. Bazı SRAP primer kombinasyonlarının genotipleme tarama jel görüntüleri.	46
Şekil 4.4. Bazı InDel primerlerinin genotipleme tarama jel görüntüleri	47
Şekil 4.5. Bazı AFLP primer kombinasyonlarının genotipleme tarama jel görüntüleri.	48

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1. Ülkeler bazında toplam sebze üretim miktarları.....	2
Çizelge 1.2. Ülkeler bazında hıyar üretim miktarları.....	3
Çizelge 1.3. Bölgelere göre örtü altı üretim değerleri.....	4
Çizelge 1.4. 100 gr hıyar meyvesinin besin değerleri.....	7
Çizelge 2.1. Hıyar 'da kabak sarı mozaik virüsü hastalığına karşı kullanılan 1-9 skalası.....	11
Çizelge 2.2. Morfolojik ve yaygın olarak kullanılan bazı moleküler markırların polimorfizm seviyesi, dominansi durumu ve PCR temelli olup olmasına göre kıyaslanması	13
Çizelge 2.3. Kabak sarı mozayik virüsünün sınıflandırması.....	25
Çizelge 3.1. SSR master mix protokolü	33
Çizelge 3.2. SSR sıcaklık döngü protokolü	34
Çizelge 3.3. SRAP master mix protokolü	35
Çizelge 3.4. SRAP sıcaklık döngü protokolü	35
Çizelge 3.5. InDel master mix protokolü	36
Çizelge 3.6. InDel sıcaklık döngü protokolü	36
Çizelge 3.7. AFLP selektif amplifikasyon PCR master mix protokolü	38
Çizelge 3.8. AFLP selektif amplifikasyon sıcaklık döngü protokolü	38
Çizelge 4.1. DAS-ELISA sonuçlarına göre $F_{2:3}$ populasyonunun χ^2 testi sonuçları.....	42
Çizelge 4.2. Bulk gruplar ve bitki numaraları.....	42

1. GİRİŞ

Sebze üretimi, ekolojik koşulların uygun olduğu açık alanlar dışında örtü altında da yapıldığından yıl boyunca sürdürülebilen bir üretim faaliyetidir. Ticari anlamda sebze üretimi 19. yüzyılın ikinci yarısından sonra başlamış, sanayinin gelişmesi ile modern alet ve ekipmanların tarıma girmesi, tohum, gübre, ilaç gibi tarımsal girdilerin yaygın olarak kullanılması sonucu sebzecilik sektörü 20. yüzyılda hızla gelişmiştir. Dünya nüfusunun artması ve insanların beslenme alışkanlıklarının değişmesi sektörün gelişmesine katkı sağlamıştır.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations)'nun 2012 yılı istatistiklerine göre Dünya üzerinde toplamda 57 273 114 hektar alanda 1 106 133 866 ton sebze üretilmektedir (www.fao.org). FAO'nun 2012 verilerine göre dünya genelinde 161 793 834 ton üretim ile domates en fazla üretimi yapılan sebze olmakla birlikte bunu 105 372 341 ton ile karpuz, 82 851 732 ton ile kuru soğan, 70 104 972 ton ile lahana ve 65 134 078 ton ile hıyar takip etmektedir.

Ülkemizde tropik bitkiler hariç pek çok sebze türü yetiştirilebilmektedir. FAO'nun 2012 yılı verilerine göre 1 111 702 hektar alanda 27 818 918 ton sebze üretilmiş olup, toplam bitkisel üretim değerinin %25'ini oluşturmuştur. Türkiye sebze üretimi bakımından Dünyada Çin, Hindistan ve ABD'nin ardından dördüncü sırada bulunurken, Avrupa'da ise ilk sırada yer almaktadır (www.fao.org). Dünya sebze üretimi bakımından en çok üretim yapılan 10 ülke ve üretim miktarları Çizelge 1.1.'de verilmiştir.

Sebze üretiminin en fazla yapıldığı Ege, Akdeniz ve Marmara bölgeleri tür ve çeşit yönünden de zengindir. Bu bölgeleri Marmara ve Orta Anadolu'nun kuzeyi, Karadeniz, Güneydoğu Anadolu, Orta Anadolu'nun Doğusu, Orta Anadolu'nun güneyi ve Doğu Anadolu'nun kuzeyi izlemektedir. Bölgeler içerisinde verimlilik bakımından Akdeniz Bölgesi ilk sırada olup, ardından sırasıyla Ege, Marmara ve Karadeniz Bölgeleri gelmektedir. Türkiye'de üretilen sebzenin %82'si açıkta, %18'i örtü altında yetiştirilmektedir. Sebze üretim miktarında 1990'lı yıllardan bu yana önemli gelişmeler yaşanmıştır. Türkiye, sera alanları bakımından Akdeniz ülkeleri içerisinde üçüncü sırada yer almaktadır. Teknik bilgi gerektirmesi ve üretim maliyetinin yüksek olmasına rağmen örtü altı sebze yetiştiriciliği karlı bir tarımsal üretim biçimidir. Türkiye'de

1940'lı yıllarda Akdeniz sahil kuşağında başlayan örtü altı yetiştiriciliği faaliyetleri, hibrit çeşitlerin de kullanımı ile sebze tarımına önemli katkı sağlamıştır (Abak ve ark. 1994, Sevgican 1999, Karagöz 2003).

Çizelge 1.1. Ülkeler bazında toplam sebze üretim miktarları

Sıra	Ülkeler	Üretim (mt)
1	Çin Halk Cumhuriyeti	573 935 000
2	Hindistan	109 140 990
3	Amerika Birleşik Devletleri	35 947 720
4	Türkiye	27 818 918
5	İran	23 485 675
6	Mısır	19 825 388
7	Rusya Federasyonu	16 084 372
8	Meksika	13 599 497
9	İspanya	12 531 000
10	İtalya	12 297 645

Örtü altı yetiştiriciliğindeki hızlı gelişme 1980'li yılların sonunda hibrit tohum ithalinin başlanması ve ihracat şansının artmasıyla başlamıştır. Örtü altı yetiştiriciliği, iklimin uygun olduğu Akdeniz, Ege ve Marmara kıyıları ile mikro klima alanlarında yaygınlaşmıştır. Örtü altı sebze yetiştiriciliği, yıl boyu üretim sağlanabilmesi, ihracat imkânı olması ve istihdama katkısı nedeniyle önemli bir üretim şeklidir. Türkiye'nin örtü altı üretim alanı 2005 yılı verilerine göre 469 bin dekadır. Bu alanın %14'ü cam, %86'sı plastik örtülerden oluşmaktadır (Tüzel 2001, Karagöz 2003).

Hıyar (*Cucumis sativus* L.), Cucurbitales takımından Cucurbitaceae (Kabakgiller) familyasından, tek yıllık, 2n=14 kromozoma sahip, sarılcı bir kültür bitkisi olup, 2 metreye kadar boylanabilmektedir (Seçmen ve ark. 1997). Genom uzunluğu yaklaşık olarak 367 Mb olmakla birlikte Cucurbitaceae familyası üyelerinin içinde en küçük genoma sahiptir (Han ve ark. 2008, Ren ve ark. 2009). Sıcak iklim kaynaklı olan bu familya üyeleri genel olarak toplam sıcaklık isteklerinin yüksek olmalarından dolayı yazlık sebzeler grubunda yer alırlar. Hıyar en eski kültüre alınan bitkilerden biridir.

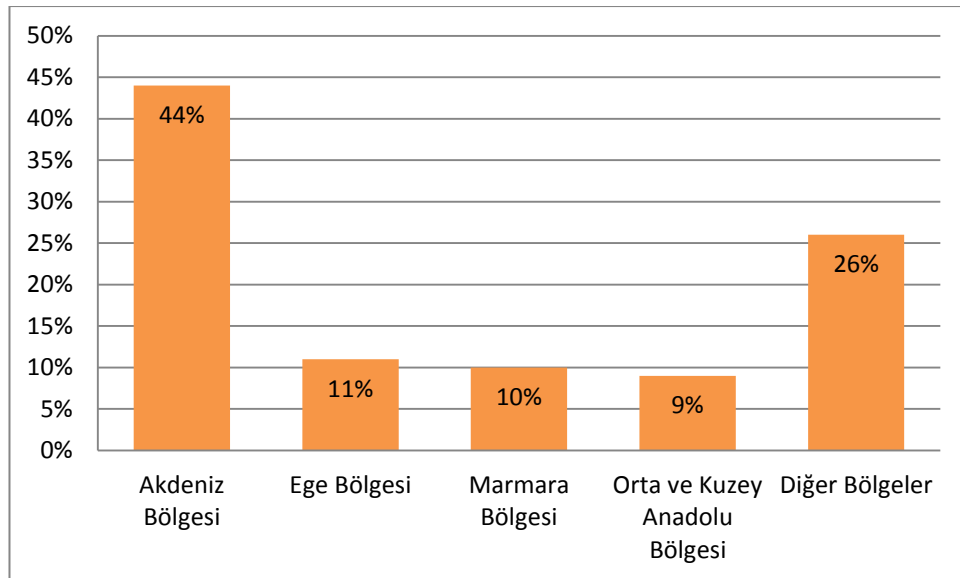
Hıyar bitkisinin tarihte 5000 yıldır var olduğu ve ana vatanının Hindistan olduğu çeşitli kaynaklarda gösterilmektedir (Kirkbride, 1993). Hindistan'dan Çin'in doğusuna, Asya'nın batısına, Kuzey Afrika ve Güney Avrupa'ya yayılmıştır. Yazılı kaynaklara göre ilk defa 1494 yılında Haiti'de kültüre alınarak dünyaya tanıtılmıştır. 2012 FAO verilerine göre, ülkemiz hıyar yetiştiriciliğinde 1 741 878 mt ile dünyada Çin'den sonra 2. sırada gelmektedir. Türkiye'yi İran, Rusya, Ukrayna ve ABD takip etmektedir. Dünya hıyar üretimi bakımından en çok üretim yapılan 15 ülke ve üretim miktarları Çizelge 1.2.'de verilmiştir. Ülkemizde her bölgede üretimi yapılan bir sebze olmakla birlikte toplam üretimin %44'ü Akdeniz bölgesinden elde edilmektedir. Bu bölgeyi sırasıyla %11 Ege, %9,8 Marmara, %9 Orta kuzey bölgesi izlemektedir. Hıyar üretimi, toplam sebze üretimimiz içerisinde %5' lik bir paya sahiptir. İlgili üretimlerin bölgelere göre payları Çizelge 1.3.'te verilmiştir.

Çizelge 1.2. Ülkeler bazında hıyar üretim miktarları (www.fao.org)

Sıra	Ülkeler	Üretim (mt)
1	Çin	48 000 000
2	Türkiye	1 741 878
3	İran İslam Cumhuriyeti	1 600 000
4	Rusya Federasyonu	1 281 788
5	Ukrayna	1 020 600
6	Amerika Birleşik Devletleri	901 060
7	İspanya	713 200
8	Meksika	640 508
9	Mısır	613 880
10	Japonya	586 500
11	Polonya	520 868
12	Endonezya	511 525
13	Irak	505 000
14	Özbekistan	435 000
15	Hollanda	410 000

Hıyar (*Cucumis sativus* L.) bitkisinin morfolojisi, ana kök kazık köklü olup 5-10 cm uzunluğa kadar uzayabilir. Ana kök ve yan kökler toprak altında çok fazla derine gitmezler ve toprağın üst tabakalarında bitkinin gelişim durumuna göre 50-100 cm kadar yanlara yayılabilirler. Hıyar bitkisinin toprak nemine karşı afinitesi oldukça yüksektir. Bu sebepten dolayı kökler genellikle yüzeysel büyür ve uygun çevresel koşullarda ortalama 20-25 cm derinliğe kadar gelişebilir. Ana kökten oluşan yan köklerin büyümesi ve dallanmasıyla kök saçak kök görünümü alır. Özellikle çok fazla su tutan ve drenajı kötü olan topraklarda ana ve yan kök gelişimi iyi olmaz. Hıyar bitkisinin morfolojik olarak gelişmesi, tarla koşullarında ana gövde uygun şartlarda ortalama 100-300 cm'ye kadar gelişebilir. Ana gövde vejetatif evrede yeşil-koyu yeşil renkte iken meyve oluşumuyla birlikte renk sarı yeşil, açık sarı ve sarı renge dönüşür. (Robinson ve Decker-Walters 1997, Sevgican 1999, Vural ve ark. 2000).

Çizelge 1.3. Bölgelere göre örtü altı üretim değerleri



Hıyar bitkisinin ana gövdesi otsu yapıda olup sürünücü ve tırmanıcı özelliktedir. Genel olarak gövde köşeli ve tüylü yapıdadır. Sürünücü özellikte olduğu için gövde, yan dalları ve meyveleri taşıyacak ve dik duracak güçte değildir. Hıyar bitkisinde yapraklar, ana gövdeye uzun bir sapla bağlı olarak boğumlardan çıkar. Yapraklar çeşit özelliği ve yetiştirme ortamına bağlı olarak farklı büyüklük ve şekillerde olabilir, özellikle nemli ve ılıman ortamlarda 25-30 cm genişliğe kadar ulaşabilirler. Yaprak kenarları düz veya dişli yapıda olabilir, üst yüzeyi düz ve parlak, alt yüzeyleri dalgalı, mat ve tüylüdür.

Yaprak sapı uzun ve ortası oluklu, üzeri tüylü ve dikenlidir. Bitkinin bir yere tutunarak sarılmasını ve böylelikle tırmanıcı özellik kazanmasını sağlayan yapılara sülük adı verilir. Sülükler genel olarak metamorfoza uğramış yapraklar olarak bilinirler. Hıyar bitkisinde çiçekler ise genellikle monoik yani tek evcikli dir. Aynı bitki üzerinde hem erkek hem de dişi çiçekler farklı yaprak koltuklarından çıkar, bu bitkilere monoik yani tek evcikli bitkiler denir. Monoik bitkilerde erkek çiçekler dişi çiçeklerden önce meydana gelir. Erkek ve dişi çiçekler kademeli bir şekilde gövde üzerinde sıralanır ve genellikle dişi çiçekler yan dallar üzerinde meydana gelir. Genel olarak Hıyar bitkisinde dişi çiçeklerin erkek çiçeklere göre bulunma olasılığı daha düşüktür. Erkek çiçeklerin çiçek sapı kısadır. Çiçek tablası üzerinde beş adet sepal (çanak yaprak), beş adet açık sarı renkli petal (taç yaprak) ve beş adet stamen (erkek organ) bulunmaktadır. Hıyar bitkisinde polen taşınımı genellikle arı gibi böceklerle sağlanır. Bunun nedeni hıyarda polenin olgunlaştığında dağılmayıp, jelatinimsi bir madde ile yapışık durumda kalmasıdır. Dişi çiçeklerde çiçek sapı erkek çiçek sapından daha uzundur. Çiçek sapının ucunda meyve taslağı bulunur. Meyve taslağının uç kısmında erkek çiçekte olduğu gibi beş adet sepal, beş adet petal, beş adet kısırlaşmış stamen ve ortada üç karpelli bir pistil bulunur (Sevgican 1999, Vural ve ark. 2000).

Hıyar yetiştiriciliğinde genel olarak, eşit şekil ve büyüklükte meyve alınabilmesi ve yüksek verim değerlerine ulaşılabilmesi için partenokarpik çeşitlere yönelim vardır. Bitkilerde döllenme olmaksızın meyve oluşumuna partenokarpi bu çeşit üremeye ise partenogenez adı verilmektedir (King 1947, Sjut V. ve Bangerth F. 1984.). Örtü altı hıyar yetiştiriciliğinde kullanılan çeşitlerin tamamı %100 dişi çiçek oluşturan ve tozlanma ya da döllenmeye ihtiyaç duymadan meyve tutabilen partenokarpik çeşitlerdir. Hıyar bitkisinde, meyveler çeşit özelliğine bağlı olarak farklı şekillerde olabilmektedir. Uzun yuvarlak, silindirik, kama, tokmak vb. olabilir. Meyvelerin enine kesiti yuvarlak üçgen ve dörtgen olabilmektedir (Robinson ve Decker-Walters 1997, Sevgican 1999, Vural ve ark. 2000)

Hıyar, ılıman iklimlerde yetiştirilen dolayısıyla düşük ve yüksek sıcaklıklardan çok kolay etkilenebilen bir sebzedir. Özellikle soğuklara karşı çok hassas olup sıcaklık sıfırın altına düştüğü durumlarda bitki gelişimi çok etkilenir. Düşük sıcaklıklarda üşüme, yüksek sıcaklıklarda fungal hastalıklar ve aşırı su kaybı nedeniyle bitki gelişimi

yavaşlar. Tohumların iyi bir çimlenme gösterebilmesi için toprak sıcaklığının minimum 11 °C olması gerekir. Çimlenme için en elverişli toprak sıcaklığı ise 11-18 °C arasındadır. Toprak sıcaklığının artmasına paralel olarak tohum çimlenme hızı da artar. Özellikle yaz dönemlerinde, hava sıcaklıklarının yüksek ve nispi nemin düşük olduğu koşullarda, normal sulamaya ek olarak sulama yapılarak bitki su düzenin uygun koşullar altında tutulması sağlanır. Bunun yapılamadığı durumlarda bitkide metabolik gelişim yavaşlayarak verim kalitesinde azalmalara ve dolayısıyla verim kayıplarına yol açabilir. Bu sorunla karşılaşmamak için ekim tarihlerine özen göstererek, özellikle ilkbaharda don tehlikesinin geçmesine müteakip ekimlerin yapılması gerekmektedir. Gün ışığından dolayı olarak faydalanır, burada en önemli unsur, hıyar bitkisi gün ışığının miktar ve zaman oranına bağlı olarak erkek çiçek oluşumunun değişmesidir. Özellikle 6000-8000 lux aralığındaki bir ışıktanma miktarı ile 12 saat ışıktanma süresi erkek/dişi çiçek oluşum oranının sınırındadır. Bu değerlerin üzerinde çıkıldığında bitkide dişi çiçek oranı artarken, altındaki değerlerde erkek çiçek oluşumuna yönlendiği gözlemlenmiştir (Robinson ve Decker-Walters 1997, Sevgican 1999, Vural ve ark. 2000).

Toprak isteği bakımından oldukça seçici olan hıyar özellikle organik maddelerce zengin, tuz konsantrasyonu düşük, su tutma kapasitesi yüksek ve kireç içermeyen topraklarda daha iyi gelişim göstermektedir. Özellikle ağır bünyeli, nem miktarı fazla, soğuk ve kurak topraklarda yetiştirilen hıyar bitkilerinde, toprak özelliklerinden kaynaklanan verim kayıpları gözlemlenmiştir. Özellikle ağır bünyeli topraklarda çiçek oluşumunun gecikmesine bağlı verim kayıpları gözlemlenmiştir. Bunlara ek olarak, abiyotik stres koşullarından dolayı köklerde çürümeler, köklerin patojenlere karşı korumasız kalması ve bu sebeplerden dolayı da bitki gelişim bozukluklarında gözlemlenen bir diğer önemli noktadır. Hafif yapılı topraklarda uygun gübrelemenin yapılması ve organik madde ilavesi gibi bazı uygulamalar yapılması durumunda hıyar yetiştiriciliğinde kullanılabilir. Hıyar yetiştiriciliğinde toprak pH'sı diğer bir önemli kriterdir. Özellikle pH değerinin asidik karakterde olması istenir. En uygun pH değerleri 5,5-5,8 arasındadır. Daha yüksek asiditeye sahip topraklarda bitki Mg elementini bünyesine alamaz ve bitkide Mg eksikliği meydana gelir (Sevgican 1999, Vural ve ark. 2000).

Hıyar bitkisinin besin değerlerine bakılacak olursa 100 gr hıyar meyvesi 12 kalori içermektedir. 100 g meyvede; 96 g su, 0,6 g protein, 0,1 g yağ, 2,2 g karbohidrat, 45 U

Vitamin A, 0,03 mg vitamin B₁, 0,02 mg. Vitamin B₂, 0,3 mg Niacin, 12 mg Vitamin C, 12 mg Kalsiyum, 0,3 mg Demir, 15 mg Magnezyum ve 24 mg Fosfor bulunmaktadır. İlgili değerler Çizelge 1.4.'te verilmiştir (Anonim, 2012)

Çizelge 1.4. 100 gr hıyar meyvesinin besin değerleri

	Besin Maddesi	Miktar
1	Kalori	12 cal
2	Su	96 g
3	Protein	0,6 g
4	Yağ	0,1 g
5	Karbohidrat	2,2 g
6	A Vitamini	45 IU
7	B1 Vitamini	0,03 mg
8	B2 Vitamini	0,02 mg
9	Niacin	12 mg
10	C Vitamini	12 mg
11	Kalsiyum	0,3 mg
12	Demir	15 mg
13	Magnezyum	24 mg
14	Fosfor	24 mg

Türkiye'de örtü altı tarımda kullanılan tohumluğun parasal değeri yaklaşık 100 milyon dolar olup, bunun yaklaşık %40'lık kısmı yerli tohum firmalarının ıslah ederek geliştirdikleri çeşitlerden karşılanabilmektedir. Örtü altı tarımında kullanılan tohumluğun tamamına yakını F1 hibrit çeşitlerden oluşmaktadır. Hıyar, özellikle örtü altı yetiştiriciliğinde domates ve karpuzdan sonra en önemli tarımsal ürünlerden birisidir. Yılda yaklaşık 150 milyon adet hıyar tohumu kullanılmakta olup, bunun %80'i yurtdışından ithalatla karşılanmaktadır (Abul-Hayja ve Al-Shahwan 1991, Robinson ve Decker-Walters 1997).

Virüslerin neden olduğu hastalıkları ülkemizdeki örtü altı hıyar yetiştiriciliğinin en önemli sorunlarından biridir. Önemli bir verim ve kalite kaybına yol açan virüs

hastalıklarının herhangi bir kimyasal yöntemle mücadelesi yoktur. Virüsle mücadelede izlenebilen iki yol vardır. Bunlar, dayanıklı çeşit kullanmak ya da virüsleri taşıyan vektör zararlılarla kimyasal mücadele yapmaktır. Kullanılan kimyasal ilaçlar bıraktıkları kalıntılarla çevre ve insan sağlığı açısından olumsuz sonuçlar doğurmaktadırlar. Özellikle örtü altı hıyar yetiştiriciliğinde iki hasat arasındaki sürenin 2-3 gün gibi kısa bir süre oluşu dayanıklı çeşit ıslahının insan ve çevre sağlığı açısından önemini artırmaktadır. (Abul-Hayja ve Al-Shahwan 1991, Robinson ve Decker-Walters 1997, Desbiez ve Lecoq 1997, Decker-Walters ve ark. 2001).

Hıyarda görülen önemli virüs hastalıklarından bazıları hıyar mozaik virüsü (CMV), hıyar damar sarılığı virüsü (CVYV) ve kabak sarı mozaik virüsü (ZYMV) hastalıklarıdır. En yaygın olarak gözlenen virüs hastalıkları arasında ZYMV tarafından etkilenen hıyar seralarında önemli oranda verim kayıpları gözlenmektedir (Pitrat ve ark. 1984, Providenti ve ark. 1984, Desbiez ve Lecoq 1997). Potyviruslerden olan bu etmen son yıllarda hem tarım alanları hem de bitki türleri açısından hızla yaygınlaşmaktadır. Bu virüsün yoğun zarar yaptığı sezonlarda zararın toplam örtü altı hıyar üretiminde büyük kayıplara neden olabilmekte bu da tüketici ve üreticileri direk olarak etkilemektedir. (Lecoq ve Pitrat 1984).

ZYMV'ye karşı genetik olarak dayanıklı hıyar elde edilmesi, konvansiyonel ıslah yöntemleri kullanılarak yapılmaktadır. Bu çalışmalarda, özellikle hastalığa karşı dayanıklı bitkilerin seçilmesi aşamasında, bitkilerin ilgili hastalık patojeni ile testlenmesi uzun zaman almakta ve çok fazla iş gücü gerektirmektedir. Özellikle patojen inokülasyonu ve sonrasında patojenler sıcaklık, nem gibi çevresel koşullardan çok kolay etkilenebilmekte ve dolayısıyla kesin sonuçlar veremeyebilmekte ve ıslah çalışmalarının yavaş ilerlemesine neden olmaktadır. Bunlara ek olarak, ZYMV'ye karşı dayanıklılık geninin geriye melezleme ıslah yöntemi ile kültür çeşitlerine aktarılırken, aktarılan dayanıklılık geninin çekinik olmasından dolayı dayanıklılık genini taşıyan heterozigot bitkilerin belirlenmesi için test melezlemelerinin yapılması zorunluluktur. Test melezlemelerinin yapılması ise hem gerekli olan iş gücü miktarını hem de maliyetleri önemli ölçüde artırmaktadır. Son yıllarda ıslah çalışmalarında sıklıkla kullanılan moleküler işaretleyiciler destekli seleksiyonda ise istenilen özelliğin seçimi bu özelliğe bağlantılı olduğu önceden belirlenen moleküler işaretleyiciler kullanılarak

yapılmaktadır. Islah çalışmalarında, herhangi bir hastalığa karşı dayanıklı bitkilerin seçilmesi aşamasında DNA temelli moleküler markırların kullanılması bitkilerin üzerinde çalışılan hastalığa karşı dayanıklılık genini taşıyıp taşımadığı çok erken dönemde (fide aşamasında) belirlenmesine olanak vermektedir. Bu tespit, konvansiyonel ıslah çalışmalarında yapılan testlere oranla çok daha güvenilir olmakta ve çok kısa zamanda yapılabilmektedir. Ayrıca gerekli iş gücü miktarını ve maliyetini de önemli ölçüde düşürmektedir. Kullanılan moleküler işaretleyicilerin yapısına bağlı olarak bir çeşidin o hastalığa karşı dayanıklı, heterozigot veya hassas olduğunun tespit edilmesi mümkündür. ZYMV'ye karşı dayanıklılığı kontrol eden genler hakkında yapılan literatür taramaları sonucu dayanıklılık mekanizması kalitatif karakterde olduğu belirlenmiş ve tek bir çekinik gen tarafından kontrol edilmektedir (Park ve ark., 2004). Bu hastalığa karşı dayanıklılık sağlayan gene bağlantılı moleküler markırlar geliştirilmiştir (Park ve ark., 2004) fakat yapılan ön çalışmalarda bu moleküler markırın geliştirilmesi için yapılan melez populasyonlarında kullanılan genitör ile Türkiye'de ıslahı yapılan genitörlerin aynı olmadığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle, Park ve ark. (2004) tarafından geliştirilen moleküler işaretleyicinin kullanılması mümkün olmamaktadır. Amano ve ark. (2013) tarafından geliştirilen en son markır CAPS markırı olmakla birlikte henüz kendi populasyonlarımızda deneme imkanı olmamıştır.

Bu tez çalışması ile birlikte elde edilecek moleküler markır(lar), konvansiyonel ıslah programlarına moleküler teknikleri entegre ederek modern DNA ve istatistiksel analiz yöntemleriyle daha etkin kılmak, hıyarda ZYMV'ye karşı oluşturulan hıyar populasyonlarında güvenilir bir şekilde çalışan moleküler markırlar belirlemek, hıyarda ZYMV'ye dayanıklı hıyar çeşitlerinin geliştirilmesi, ithal çeşitlere oranla üreticilere daha ekonomik fiyatla tohumluk temin edilmesi ve virüs hastalıklarından dolayı oluşan önemli ekonomik kayıpları ortadan kaldırmak için kullanılacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bu bölümde yapılan tez çalışmasında bahsi geçen, moleküler markır teknolojileri ve ilgili hastalık etmeni olan ZYMV (Zucchini Yellow Mosaic Virus, Kabak Sarı Mozayik Virüsü) hakkında kaynak bilgiler verilmiştir. Hıyar bitkisinin yanı sıra özellikle kabakgiller familyasına ait diğer türlerle ilgili de bilgilere yer verilmiştir.

2.1. Markır Sistemleri

Genel kapsamda biyolojik sistemlerin tümünde kullanılan markırlar, bitki teknolojilerinde; ıslah çalışmaları, genetik çeşitliliğin belirlenmesi, ebeveyn seçimi, haritalama çalışmaları gibi çalışmalarda yoğun olarak kullanılmaktadır. Sözlük anlamı işaret, imleç, belirteç olan markırlar; organizmalar arasındaki farklılıkları ortaya koyabilmek adına belirlenen morfolojik, biyokimyasal ya da DNA temelli parametrelerdir. Markırlar yapılarına göre 2 ye ayrılmaktadır. Moleküler markırlar ise yapılarına göre kendi içerisinde 4 e ayrılır. Bunlar;

1. Morfolojik Markırlar
2. Moleküler Markırlar
 - a. Protein Temelli Moleküler Markır Sistemleri
 - b. Hibridizasyon Temelli Moleküler Markır Sistemleri
 - c. PCR Temelli Moleküler Markır Sistemleri
 - d. Sekans Temelli Moleküler Markır Sistemleri

2.1.1. Morfolojik Markırlar

Bitkinin dış görünüşünden gözlemlenebilen karakterlerin tümüne verilen addır. Genel kapsamda bu karakterler, bitki anatomisi ve morfolojisi ile ilgili karakterler olup bitkinin yaprak şekli, çiçek yapısı, meyve büyüklüğü, rengi, vb. bütün özellikleri morfolojik markır olarak adlandırılabilir (Tanksley ve McCouch 1997). Bu markırlar daha çok konvansiyonel ıslah çalışmalarında moleküler temelli markırların keşfinden önce kullanılan yöntemler olarak da bilinirler. Morfolojik temelli markırlar niteleyici karakterler olduklarından dolayı sonuçlar gözlemi yapan kişiye göre değişebilmektedir. Bu sebepten dolayı, morfolojik karakterizasyon yapılırken 1-5 ya da 1-9 skalası adı

verilen ve yapılan o gözlem için belirli değer aralıkları verilen özellikli skalalar kullanılır. Morfolojik marker skalalarına örnek Çizelge 2.1.'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Hıyar 'da kabak sarı mozaik virüsü hastalığına karşı kullanılan 1-9 skalası

Numara	Reaksiyon
1	Belirti yok
3	Aşağıdaki yapraklarda hafif mozaik oluşumu
5	Aşağıdaki yapraklarda açık mozaik oluşumu ve yukarı yapraklarda hafif mozaik belirtisi
7	Yukarı yapraklarda orta derecede mozaik belirtisi
9	Bütün yapraklarda şiddetli mozaik oluşumu.

Morfolojik markırlar; çevresel koşullardan kolaylıkla etkilenebilmeleri, sınırlı sayıda bulunmaları, bitki vejetasyonu döneminde farklı şekillerde olabilmeleri ve pleiotropik gen hareketlerinden dolayı diğer morfolojik karakterlerden etkilenebilmeleri morfolojik markırların en önemli dezavantajlarıdır (Tanksley ve McCouch 1997).

Genel anlamda, morfolojik markırlar, yabani tiplerin mutant formlarıdır ve birçok morfolojik markır bitkinin sağlıklı olarak gelişebilmesinde negatif etkilere sahip olabilmektedir. Bu sebepten dolayı çok sayıda morfolojik markır bulmak zordur.

2.1.2. Moleküler Temelli Markırlar

Bitkide gözle görülemeyen, daha çok hücre içerisinde gen, DNA ya da protein sekans seviyelerindeki farklılıkların ölçülebildiği parametrelerin tümüne verilen addır (Wang ve ark. 2007, Gostimsky ve ark. 2005). DNA gen ya da amino asit sekanslarındaki farklılıklar kullanılır. Moleküler markırların fenotipik olarak nötral özelliktedirler. Bu özellikleri konvansiyonel morfolojik markır yöntemlerine oranla önemli bir avantaj sağlamaktadır. Moleküler markırlar doğal yapılarına göre 4 gruba ayrılmaktadır (Katzir ve ark. 1996, Danin-Poleg ve ark. 2000, López-Sesé ve ark. 2002, Korzun 2003, Zeid ve ark. 2003, Aggarwal ve ark. 2006).

Bunlar;

1. Protein Temelli Moleküler Markır Sistemleri
2. Hibridizasyon Temelli Moleküler Markır Sistemleri
3. PCR Temelli Moleküler Markır Sistemleri
4. Sekans Temelli Moleküler Markır Sistemleri

FAO/IAEA (Food and Agriculture Organization of the United Nations/ International Atomic Energy Agency)’nin hazırlamış olduğu “Gıda ve Tarımda Nükleer Teknikler ve Bölümleri” adlı çalışmada ideal bir genetik markır şu kriterlere sahip olması gerektiğı ifade edilmiştir.

- Fenotip üzerinde zararlı bir etkisi olmamalıdır.
- Ekspresyon seviyesinde eş baskın özellikte olmalıdır.
- Tek kopya olmalıdır.
- Kullanım açısından ekonomik olmalıdır.
- Yüksek oranda polimorfizm içermelidir.
- Kolay belirlenebilir olmalıdır.
- Poliploidi çalışmalarında genom spesifik özellikte olmalıdır.
- Analizleri otomasyona uygun olmalıdır.

Moleküler markırların morfolojik markırlara göre üstün yönleri polimorfizm seviyelerinin yüksek olması, bol miktarda bulunabilmesi ve eş baskın olması gösterilebilir (Katzir ve ark. 1996, Danin-Poleg ve ark. 2000, López-Sesé ve ark. 2002, Korzun 2003, Zeid ve ark. 2003, Aggarwal ve ark. 2006). Morfolojik markırlar ile yaygın olarak kullanılan bazı moleküler markırların polimorfizm seviyeleri, dominansi durumları ve PCR temelli olup olmamalarına göreki durumları Çizelge 2.2’de verilmiştir.

2.1.2.1. Protein Temelli Moleküler Markır Sistemleri

DNA’nın protein kodlayan bölümleri tarafından üretilen proteinlerin taranmasına dayalı bir sistemdir. Proteinlerin taranması sonucu DNA’nın bazı bölgelerindeki farklılıklar

ortaya çıkarılabilir. Bu sistemlere örnek İzozimler verilebilir (Perl-Treves ve ark. 1985, Knerr ve Staub 1992, Katzir ve ark. 1996, Korzun 2003, Zeid ve ark. 2003).

Çizelge 2.2. Morfolojik ve yaygın olarak kullanılan bazı moleküler markırların polimorfizm seviyesi, dominansi durumu ve PCR temelli olup olmamasına göre kıyaslanması

Markır Tipleri	PCR Temelli	Polimorfizm Oranı	Baskınlık Durumu
Morfolojik	Hayır	Düşük	Baskın/Çekinik/Eşbaskın
İzozim	Hayır	Düşük	Eşbaskın
RFLP	Hayır	Düşük	Eşbaskın
RAPD	Evet	Orta-Yüksek	Baskın
STS/EST	Evet	Yüksek	Eşbaskın/Dominant
SCAR	Evet	Yüksek	Eşbaskın
CAPS	Evet	Yüksek	Eşbaskın
SSR	Evet	Yüksek	Eşbaskın
ISSR	Evet	Yüksek	Baskın
AFLP	Evet	Yüksek	Baskın
SNP	Evet	Yüksek	Eşbaskın

2.1.2.1.1. İzozimler (İzoenzimler)

İzoenzimler olarakta adlandırılan izozimler, katalitik özellikleri bakımından birbirine çok benzeyen, fakat izoelektrik nokta veya elektroforetik hareketlik gibi özellikleri bakımından farklılık gösteren farklı amino asit sekanslarına sahip enzimlere verilen addır. Diğer bir ifade ile protein yapıları farklı, fakat katalizledikleri kimyasal reaksiyon aynı olan enzimlere izoenzim adı verilmektedir (Perl-Treves ve ark. 1985, Knerr ve ark. 1989, Knerr ve Staub 1992, Akashi ve ark. 2002, Korzun 2003, Zeidler 2000). Aynı hücrede ya da dokuda, farklı dizilimlerde bulunan izozimlerin yöneteceği tepkimeler bir farklılaşmaya yol açabilir. İzoenzimlerin varlığı bir dokuda belirli bir gereksinimi karşılamak üzere metabolizmanın veya gelişim döneminin ince ayar yapmasına olanak sağlar. Biyokimyada, izoenzimler (veya izozimler) enzim izoformları (birbirine çok benzeyen varyantlar)'dır.

İzozimler, diğer enzimler ile birlikte hücre organizasyonunda oluşan çeşitli metabolik yollar ve fonksiyonlarda spesifik rol oynarlar. İzozimler genel olarak hücresel boyutta moleküler heterojenite gösterirler (Knerr ve ark. 1989, Knerr ve Staub 1992, Zeidler 2000). İzozimlerin diğer yöntemlere göre bazı avantaj ve dezavantajları vardır. Bunlar; diğer yöntemlere oranla daha ucuzdurlar, analiz metodolojisine göre daha basit ve hızlı sonuca ulaşılabilir, eş baskın özellik gösterirler. Dezavantajları ise her bir izozim için farklı protokollerin olması, protokol esnasında herhangi bir şekilde müdahale söz konusu olmaması, sınırlı sayıda bulunmaları doku ve (veya) gelişme dönemi spesifik olmalarıdır.

2.1.2.2. Hibridizasyon Temelli Moleküler Markır Sistemleri

Bu tip moleküler markır sistemleri, belirlenmiş olan problemler ile ilgili genomik DNA arasındaki hibridizasyon temeline dayanmaktadır. Bu tip moleküler markır sistemlerine örnek RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) verilebilir.

2.1.2.2.1. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms; Sınırlayıcı Enzim Parça Uzunluk Çeşitliliği)

Hibridizasyon temelli moleküler markır sistemlerinden biridir. Genom üzerinde meydana gelen birçok mutasyon çeşitli nükleotidlerin kaybolmasına, eklenmesine ya da kaymasına neden olur, böylelikle genom üzerindeki bu kesim bölgelerinin parçalanmasına ya da yeni kesim bölgelerinin oluşmasına neden olur (Garcia-Mas ve ark. 2000). Bu metoda göre DNA, çeşitli restriksiyon enzimleri (*EcoRI*, *EcoRV*, *MseI*, *HindIII*, *MvaI*, *BamHI*, vb) ile kesilerek küçük parçalara ayrılır. Elde edilen bu küçük DNA parçacıkları spesifik ve karakteristik nükleotid dizilerine sahiptirler. Bu küçük DNA parçacıkları agaroz jel elektroforez yöntemi ile birbirlerinden ayrıldıktan sonra southern hibridizasyonu yöntemi ile naylon membran üzerine aktarılır, böylelikle DNA boyut büyüklüklerine göre birbirinden ayrılmış olur.. Radyoaktif ya da kemoluminesans problemlerle işaretlenen bu DNA parçacıkları hibridize edilerek görünür hale getirilir (Garcia-Mas ve ark. 2000). Bu yöntemin kendine göre bazı avantaj ve dezavantajları vardır. Avantajları, sınırsız sayıda lokusa sahiptirler, eş baskın özellik gösterirler ve herhangi bir sekans bilgisine gerek duyulmaz. Dezavantajları ise diğer yöntemlere göre

oldukça pahalı bir yöntemdir, bol miktarda DNA'ya ihtiyaç duyulur, çok fazla iş gücü gerektirir ve otomasyona uygun bir yöntem değildir.

2.1.2.3. PCR (Polymerase Chain Reaction; Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Temelli Moleküler Markır Sistemleri

PCR (Polymerase Chain Reaction; Polimeraz Zincir Reaksiyonu), her hangi bir canlının genomu üzerinde bilinen iki nokta arasında kalan özgün bir bölgenin in vitro koşullarda enzimatik olarak çoğaltılması işlemidir. PCR işlemi, in vitro ortamda DNA'da istenilen özel bir bölgenin nükleik asitlerinin uygun koşullarda çoğaltılması esasına dayanır. PCR işleminin gerçekleşebilmesi için ortamda DNA, PCR tampon çözeltisi, $MgCl_2$, ileri ve geri primerler, nükleotid tri fosfatlar (adenin, guanin, sitozin ve timin), taq DNA polimeraz enzimi ve su bulunması gerekir. Bunların aynı ortamda çeşitli sıcaklıklarda tepkimeye girerek istenilen bölge(ler) çoğaltılabilir.

PCR işlemi 3 aşamadan oluşur bunlar;

- Denatürasyon (Denaturation) Aşaması; PCR karışımı yüksek sıcaklıklarda ısıtılarak DNA-DNA ve DNA-primer komplekslerinin denatüre olması sağlanır. Sıcaklık genellikle 94-95 °C dir.
- Bağlanma (Annealing) Aşaması: Sıcaklık primerlerin tek zincirli DNA'ya bağlanmasına izin verilen değerlere düşürülür. Sıcaklık primerlerin yapısına bağlı olarak 37-65 °C arasında değişir.
- Uzama (Extension) Aşaması: Karışım 72 °C ye çıkarılarak dNTP nin polimeraz ile optimal düzeyde etkileşime girmesi sağlanır.

Teorik olarak hedef DNA molekülü her bir çevrimde duplike olur. 35 döngülük bir PCR işlemi sonunda 1 molekül DNA parçasından 2^{35} (34 359 738 368) molekül DNA parçası oluşur.

PCR temelli moleküler markır sistemleri, diğer markır sistemlerine oranla daha güvenilir, hızlı ve ucuz olmalarından dolayı daha yaygın kullanılan yöntemler olarak karşımıza çıkmaktadır. Temel olarak hepsi PCR teknolojisine dayanmakla birlikte bu sistemlere örnek RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SCAR (Sequence Characterized Amplified Region), SSR (Simple Sequence Repeats) ve AFLP (Amplified

Fragment Length Polymorphisms) verilebilir (Arumuganathan ve Earle 1991, Blears ve ark. 1998, Li ve Quiros 2001, Chiba ve ark. 2003)

PCR temelli markır sistemleri 3 ana guruba ayrılırlar. Bunlar;

- DNA çoğaltımı için tek bir primer dizisi kullanılan sistemler (RAPD, SPAR, DAF, AP-PCR, vb.),
- DNA çoğaltımı için bir çift primer dizisi kullanılan sistemler (AFLP)
- DNA çoğaltımı için bir çift primer dizisi kullanılan fakat primerlerin oluşturulabilmesi için genomik nükleotid dizisine ihtiyaç duyulan sistemler (AMP-FLPs, STRs, SSRs, CAPS) dir.

2.1.2.3.1. RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA; Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA)

DNA'nın 8-12 nükleotidden oluşan tek bir primer kullanılarak PCR yönemi ile çoğaltılmasına dayanır. Bu yöntem ile çoğaltılan DNA parçacıklarının agaroz ya da poliakrilamid jelde belirli bir elektrik akımı altında büyüklüğüne göre ayrılması esasına dayanmaktadır. Sonuçlar “var” ya da “yok” olarak tanımlanır (Cho ve ark. 1998, Decker-Walters ve ark. 2001, Mliki ve ark. 2003).

RAPD yöntemi; ucuz olması, teknik olarak çok basit olması, herhangi bir sekans bilgisine ihtiyaç duymaması, birden fazla bilgi içermesi gibi özellikleriyle ön plana çıkmaktadır (Mliki ve ark. 2003, Gostimsky ve ark. 2005). Yapılan bir çalışmada izozimler oranla çok daha fazla polimorfizm tespit edilmiştir (Staub ve ark. 1999). Teorik olarak 3-15 arasında PCR ile çoğaltılan DNA parçacığı verebilir (Gostimsky ve ark. 2005). Diğer taraftan, güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini düşük olması, dominant karakterde olması ve ekzonlarla birlikte intron bölgelerde de çoğalması dezavantajları olarak sayılabilir (Kennard ve ark. 1994, Serquen ve ark. 1997, Cho ve ark. 1998).

Bu metod, genetik haritalamalarda, F₁ tanımlamalarında, hat tanımlamalarında, ıslah çalışmalarında, BSA (Bulk Segreant Analizi) çalışmalarında, genetik çeşitlilik, genetik safiyet ve DNA parmak izi çalışmalarında, markır destekli seleksiyonlarda, tohum

testlemelerinde ve harita temelli gen klonlamalarında kullanılmaktadır (FAO/IAEA 2002).

2.1.2.3.2. SCARs (Sequence Characterized Amplified Regions; Sekansı Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler)

SCAR markırları, RAPD, AFLP, ISSR gibi marker sistemlerinden geliştirilebilirler (Gostimsky ve ark. 2005). Polimorfik olduğu belirlene DNA bandı, agaroz veya poliakrilamit jelden kesilir, klonlanır ve sekanslanır. Sekanslanan bu bölgede uygun primer çiftleri oluşturularak SCAR markırları elde edilmiş olur (Gostimsky ve ark. 2005).

Çok küçük mikterda DNA'ya ihtiyaç duyması, yüksek oranda tekrarlanabilirlik olması, güvenilir olması, eş baskın özellikte ve türe özgü olması SCAR markır sistemlerinin en önemli avantajlarından. Diğer taraftan, çok hassas bir yöntem ve geliştirilmesinin çok pahalı olması ise dezavantajlarıdır (FAO/IAEA 2002). Bu metod, genetik haritalamalarda, F₁ hibrit tanımlamalarında, hat tanımlamalarında, ıslah çalışmalarında, BSA (Bulk Segreant Analizi) çalışmalarında, genetik çeşitlilik, genetik safiyet ve DNA parmak izi çalışmalarında, markır destekli seleksiyon çalışmalarında, tohum testlemelerinde ve harita temelli gen klonlamalarında kullanılmaktadır (FAO/IAEA 2002).

2.1.2.3.3. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism; Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi)

AFLP markır sistemi, DNA'daki polimorfizmleri tespit etme bakımından, diğer markır sistemlerine oranla daha hassas bir sistemdir. Bu sistem, total DNA'nın iki DNA kesim (restriksiyon) enzimi ile küçük parçalara ayrılarak, bu parçaların seçici olarak çoğaltılması işlemine dayanmaktadır. (Vos ve ark. 1995, Blears ve ark. 1998, Cho ve ark. 1998). Bu yöntem genel kapsamda 4 ana bölüme ayrılmaktadır, bunlar;

- Genomik DNA'nın restriksiyon enzimleri ile kesilmesi
- Adaptörlerin bağlanması (ön selektif amplifikasyon)
- Selektif Amplifikasyon
- Görüntüleme

Bu yöntemde genel olarak iki adet restriksiyon endonükleaz kullanılır ve bu yöntemin özgünlüğünü ortaya koymaktadır (Vos ve ark. 1995, Blears ve ark. 1998, Cho ve ark. 1998). Bu endonükleazlar DNA yı büyüklü küçüklü birçok parçaya ayırırlar. Genel olarak, AFLP yönteminde, EcoRI/MseI, PstI/MseI enzim çiftleri kullanılmaktadır. DNA küçük parçalara ayrıldıktan sonra restriksiyon enzimlerine özgü adaptörleri bu küçük DNA parçacıklarına eklenir. Eklenen adaptörlerin DNA dizileri primer olarak kullanılarak DNA parçacıkları selektif olarak çoğaltılırlar. AFLP ürünlerinin görüntülenmesinde gümüş boyama yöntemi ile poliakrilamid jel kullanılır (Vos ve ark. 1995, Blears ve ark. 1998, Garcia-Mas ve ark. 2000, Ferriol ve ark. 2003, Zeid ve ark. 2003). Ayrıca bu metodlar için çeşitli spesifik cihazlarda mevcuttur.

Çok az miktarda DNA ya ihtiyaç duyması, daha önceden belirlenmiş herhangi nükleotid dizisi bilgisine ihtiyaç duymaması, herbitki türüne uygulanabilir olması ve otomasyona uygun olması AFLP metodunun avantajlarıdır. Dominant markırlar olması, iş gücü bakımından kapsamlı ve karmaşık olması ise en önemli dezavantajları olarak görülmektedir (FAO/IAEA 2002). AFLP metodu, genetik haritalamalarda, F₁ tanımlamalarında, hat tanımlamalarında, ıslah çalışmalarında, BSA (Bulk Segreant Analizi) çalışmalarında, genetik çeşitlilik, genetik safiyet ve DNA parmak izi çalışmalarında, markır destekli seleksiyonlarda, tohum testlemelerinde ve harita temelli gen klonlamalarında kullanılmaktadır (FAO/IAEA 2002).

2.1.2.3.4. SSRs (Simple Sequence Repeats; Basit Dizi Tekrarları)

Mikrosatellitler olarakta bilinen SSR markırları, DNA nın ardışık tekrar bölgelerine verilen addır (Danin-Poleg ve ark. 2000, Chiba ve ark. 2003, Garcia-Mas ve ark. 2004). SSR markırları genel anlamda türe özgü spesifik olarak geliştirilirler ve bu özelliği SSR markırlarının moleküler markır teknolojilerinde arasında çok önemli yöntem olmasına neden olmuştur (Garcia-Mas ve ark. 2004). Genel olarak bu mikrosatellitler 2-5 bp uzunluğunda ve 9 ila 45 tekrarlı DNA bölgeleridir (Danin-Poleg ve ark. 2001, Nagaraj ve ark. 2006, Wang ve ark. 2007). Hıyarda en çok gözlenen SSR motifleri TGA, GAT, CTT, GGA, AT and CT (Garcia-Mas ve ark. 2000). Genomik ve EST (Expressed Sequences Tag) bölgelerinin nükleotid dizilerinin saklandığı veri bankaları SSR markırlarının geliştirilmesi için kullanılan önemli kaynaklardır. Bu kaynaklardan elde edilen nükleotid dizileri çeşitli bilgisayar programları yardımı ile SSR motifleri için

taranabilir ve tespit edilen SSR motiflerini çoğaltmak için primerler belirlenir. Bu programlara örnek olarak;

- MISA (the Microsatellite),
- SSRFinder,
- BuildSSR,
- SSRIT (SSR Identification Tool),
- TRF (Tandem Repeat Finder),
- TROL (Tandem Repeat Occurrence Locator),
- Sputnik verilebilir.

2 ila 5 tekrar bölgesine sahip SSR motiflerinden en sık üçlü nükleotid tekrarları gözlemlenir. Bunu sırası ile ikili, dördü ve beşli tekrar dizileri takip eder. SSR markırlarının avantajları; çok fazla oranda çeşitlilik gösterirler, tekrarlanabilirliği çok yüksektir, eş baskın özelliktedirler ve lokusa özgü markırlardır (Garcia-Mas ve ark. 2000, Danin-Poleg ve ark. 2001, FAO/IAEA 2002). Dezavantajları ise geliştirme maliyetleri oldukça yüksektir, primer geliştirmek için genom sekans bilgilerine ihtiyaç vardır (Schmidt 2002, Wang ve ark. 2007).

SSR metodu, genetik haritalamalarda, F_1 tanımlamalarında, hat tanımlamalarında, ıslah çalışmalarında, BSA (Bulk Segreant Analizi) çalışmalarında, genetik çeşitlilik, genetik safiyet ve DNA parmak izi çalışmalarında, markır destekli seleksiyonlarda, tohum testlemelerinde ve harita temelli gen klonlamalarında kullanılabilir (FAO/IAEA 2002, Tanaka ve ark. 2006, Wang ve ark. 2007).

2.1.2.4. Sekans Temelli Moleküler Markır Sistemleri

Genom sekansı temeline dayalı moleküler markır sistemlerinden biridir. Örnek olarak SNP (Single Nucleotide Polymorphism) verilebilir.

2.1.2.4.1. SNP (Single Nucleotide Polymorphism; Tek Nükleotid Polimorfizmi)

SNP markırları diğer markırlara oranla genomda en çok bulunan moleküler markır tipleridir. Özellikle EST ler SNP ler için iyi bir kaynaktır. Herhangi bir genomun sekansında meydana gelen ve sadece tek bir nükleotidin değişmesine bağlı olarak meydana gelen SNP ler, doğada en sık rastlanan mutasyonlardandır. Bu mutasyonlar

sonucu canlılar arasındaki varyasyonlar oluşmaktadır (Grada ve Weinbrecht 2013). SNP oluşmasında eklenme ve silinme (InDel) nükleotid dizisi değişimine neden olan temel nedenlerdendir.

SNP oluşumları genel olarak DNA içerisinde intron adı verilen ve herhangi bir proteini kodlamayan DNA bölgelerinde yaygın olarak görülmektedir. Ekzonlarda meydana gelen SNP'ler aminoasit dizisinin değişimine neden olabileceği gibi aminoasit dizisinde herhangi bir değişikliği neden olmayabilir ve gen ürünüde değişiklik olmaz. Mısırdaki ortalama her 60–120 baz çiftinde bir SNP gözlenirken bu oran, insanlarda tahminen 1000 baz çiftinde bir SNP olarak tanımlanmıştır. Çeşitli sekanslama yöntemlerinin geliştirilmesine bağlı olarak özellikle EST temelli genetik varyasyon çalışmaları yaygın olarak yapılmaktadır. Son yıllarda geliştirilen yeni nesil sekanslama yöntemleri ile birlikte SNP moleküler markırlarının geliştirilmesi kapsamında çok büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu yöntemler, geliştirme maliyetlerini aşağıya çekerek kullanımının daha büyük alanlara yayılmasına olanak vermiştir (Grada ve Weinbrecht, 2013)

Bu metodun avantajları, çok miktarda bulunabilmesi, çalışma maliyetlerinin diğer markır sistemlerine oranla daha ucuz olması, yüksek polimorfizm içermesi, güvenilirliğinin yüksek olması ve otomasyona uygun bir yöntem olması sayılabilir. Dezavantajları ise, eski nesil dizileme yöntemlerinin geliştirme maliyetlerinin çok yüksek olması, çalışabilmek için spesifik ekipmanlara ihtiyaç olması sayılabilir fakat yeni nesil DNA dizileme yöntemlerinin geliştirilmesi ile birlikte geliştirme maliyetleri önemli oranda düşmüştür (FAO/IAEA 2002, Grada ve Weinbrecht 2013). SNP metodu, genetik haritalamalarda, F₁ tanımlamalarında, hat tanımlamalarında, ıslah çalışmalarında, BSA (Bulk Segreant Analizi) çalışmalarında, genetik çeşitlilik, genetik safiyet ve DNA parmak izi çalışmalarında, markır destekli seleksiyonlarda, tohum testlemelerinde ve harita temelli gen klonlamalarında kullanılabilir.

2.2. Hıyar'da (*Cucumis sativus* L.) Moleküler Markırlar

Hıyar bitkisinde, ZYMV'ye karşı dayanıklılık genlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda; ZYMV'ye dayanıklılığın tek bir çekinik allel tarafından kontrol edildiğini ortaya konulmuştur (Providenti 1987, Abul-Hayja ve Al-Shahwan 1991, Kabelka ve ark. 1997). Bu kapsamda, Hıyar'da ZYMV'ye dayanıklı F₁ çeşitlerini elde etmek

amacıyla yapılacak olan ıslah çalışmalarında ebeveynlerin her ikisinde çekinik alleller açısından homozigot olmak zorundadır (Providenti 1987). ZYMVye karşı dayanıklılık mekanizması hıyarda ve kavunda çalışılmıştır (Park ve ark. 2004). Ancak iki türde farklı dayanıklılık mekanizmaları ortaya çıkmıştır. SSR moleküler markırlarının kullanılmasıyla elde edilen haritada bu virüse dayanıklılıkla ilgili lokuslar farklılık göstermiştir. Bu alışma bu türün evrimi boyunca farklı dayanıklılık mekanizması geliştirdiğini ortaya koymuştur. Bu nedenle, kavun için geliştirilen moleküler işaretleyicilerin hıyarda kullanılması mümkün olmadığını göstermektedir. Dolayısıyla hıyar için özel genetik haritalar ve moleküler markırların geliştirilmesi zorunlu hale gelmiştir (Cho ve ark. 1998, Stepansky ve ark. 1999, Decker-Walters ve ark. 2001, Mliki ve ark. 2003).

Bitkisel genetik bağlantı haritaları, fiziksel haritalama, moleküler işaretleyici yardımıyla seleksiyonu (MAS) ve haritaya dayalı gen klonlaması için gerekli n çalışmalardan birisidir. Belirli özellikteki açılım gösteren populasyonların (F₂, geriye melez, yarı dl, tam dl) ve çok sayıda işaretleyici ile birlikte yapılan istatistiksel analizler sonucu elde edilir. Yeboah ve ark. (2007) yaptıkları çalışmalarda SRAP ve ISSR teknolojisi ile 112 F₂ pupulasyonunda her iki işaretleyicide genellikle dominant işaretleyici ürettiklerinden kaydedilen bütün işaretleyiciler açısından 3 (var):1(yok) oranına uygun segregasyon göstermişlerdir. Yine aynı çalışmada kaydedilen bütün ISSR işaretleyicileri %13 oranında polimorfizm gösterirken SRAP işaretleyicileri ise %26 oranında polimorfizm göstermişlerdir. Toplam 62 lokus 7 bağlantı gurubuna dağılmıştır. Bu işaretleyiciler MAS çalışmalarında, genetik kaynakların karakterizasyonunda ve bitkilerden işaretleyicilerin rneklemesinde (marker sampling) kullanılma potansiyeline sahiptir (Cho ve ark. 1998, Stepansky ve ark. 1999, Decker-Walters ve ark. 2001, Mliki ve ark. 2003). ZYMV dayanıklılık mekanizması resesif tek gen tarafından kontrol edilmektedir (Providenti 1987, Kabelka ve ark. 1997, Park ve ark. 2004, Amano ve ark. 2013). Tek gen tarafından kontrol edilen karakterlerin çok genle kontrol edilen karakterlere oranla MAS süreçleri daha hızlı ve kolay olacaktır(Gilbert-Albertini ve ark. 1993, Danin-Poleg ve ark. 1997, Kabelka ve Grumet 1997).

Park ve ark. (2004) tarafından geliştirilen moleküler işaretleyiciler, özellikle hassas bireylerin tespitinde başarısız olabilmektedir. Yapılan n çalışmalarda bu moleküler

markırın Türkiye’de yapılan ıslah çalışmalarında kullanılan ıslah materyalleri üzerinde herhangi bir açılım vermediği gözlemlenmiştir. Amano ve ark. (2013) tarafından yapılan en son çalışmanın sonuçları ıslah materyalleri üzerinde henüz denenmemiştir.

Moleküler markırlar, genom üzerinde bulunan ve yüksek oranda polimorfizme sahip nükleotid dizileri olarakta tanımlanabilir. Genom zerindeki bu farklılıklar PCR (Polymerase Chain Reaction) adı verilen özel bir polimerizasyon yöntemi ile tespit edilebilir (Gostimsky ve ark. 2005). Kural olarak, iki organizmanın genomları arasında ne kadar az nükleotid dizisi farklılığı varsa, bu iki organizma birbirlerine o kadar fazla benzer. Bu teknikler kullanılarak özellikle, DNA temelli moleküler markırlara dayalı ıslah seleksiyonları, genetik çeşitlilik, genetik safiyet, DNA parmak izi çalışmaları, kromozomal haritalama, vb. gibi çalışmalar yapılabilmektedir (Gostimsky ve ark. 2005).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, hıyarda genetik çeşitlilik ve filogenetik akrabalık çalışmalarında morfolojik ve moleküler temelli markır sistemlerinin kullanıldığı gözlemlenmiştir (Tanaka ve ark. 2006). Bu tipteki çalışmalara yönelik ilk yayınlar 1985 yılına aittir. Perl-Treves ve ark. (1985) 21 farklı *Cucumis* türünde 29 adet izozim protein markırlarını kullanarak yapmıştır. Bu çalışmayı takiben Knerr ve ark. (1989) 18 izozim markırları kullanarak hıyarda genetik çeşitlilik çalışmaları yapmışlardır. Dijkhuizen ve ark. (1996) hıyarda ilk olarak RFLP moleküler markır metodunu kullanarak genetik çeşitlilik çalışması yapmıştır. Miliki ve ark (2003) ise yine RAPD moleküler markırlarını kullanarak farklı hıyar tiplerinde genetik çeşitliliğe bakmışlardır. Watcharawongpaiboon ve Chunwongse (2007) hıyarda genetik çeşitlilik kapamında SSR markırlarını ilk olarak kullanan araştırıcılardır. Bu çalışmada 16 hıyar çeşidinde 57 farklı SSR markır kullanılmış ve ortalama markır başına 3,6

polimorfik band elde edilmiştir. Jing ve ark. (2012) dünyanın çeşitli bölgelerinden toplanmış 3342 hıyar çeşidi üzerinde 23 farklı SSR markır kullanılarak genetik çeşitlilik çalışması yapmış, bu çalışma sonucunda hıyarda core kolleksiyonlarının oluşturulması amaçlanmıştır. Yang ve ark. (2009) 99 farklı hıyar çeşidinde 7 farklı AFLP moleküler markırlarını kullanarak genetik çeşitlilik çalışması yapmıştır. Toplamda 382 adet band elde edilmiş olup bunlardan sadece 179’unun polimorfik olduğunu tespit etmişlerdir.

Hıyar'da farklı moleküler markır sistemleri ile yapılmış çok sayıda haritalama çalışmaları vardır. Serquen ve ark. (1997), RAPD moleküler markırlarını kullanarak gerçekleştirmiştir. Yapılan bu çalışmada markırlar arası uzaklıkların ortalama olarak 8,4 cM olduğu tespit edilmiştir. Staub ve ark. (2006) tarafından yapılan bir başka haritalama çalışmasında ise partenokarpik meyve oluşumundan sorumlu genlerin tespit edilmesi üzerine yapılmıştır. Bu çalışmaların yanı sıra Huang ve ark. (2009) ilk olarak hıyar genomunu dizileyerek yayımlamışlardır. Bu çalışmayı takiben Li ve ark (2011) yeni nesil dizileme sistemlerini kullanarak hıyar genomunu dizilemişlerdir.

2.3. Kabak Sarı Mozayik Virüsü

Yapılan son araştırmalara göre, ülkemizde kültürü yapılan bitki çeşitlerinde ekonomik olarak zarara neden olduğu belirlenmiş 528 farklı hastalık etmeninin olduğu bildirilmiştir. Genel kapsamda bu hastalıklarla gerekli mücadele sağlanamadığı takdirde, ürün kayıpları ortalama % 35-40 seviyelerinde olmaktadır. Bu oran ilgili hastalık etmeninin çeşidine ve yoğunluğuna bağlı olmakla birlikte % 100 lere kadar çıkabilmektedir. Bitkisel üretimde ekonomik yönden oldukça önemli değerlere ulaşan bu kayıpların önlenmesi bitki koruma çalışmalarını yeterli önemi vermek gerekmektedir.

Kültür bitkilerinde yüksek oranda verim kaybına neden olan biyotik stres etmenleri bakteri, fungus, virüs ya da parazitik bitki kaynaklı olabilmektedir. Bu hastalık etmenleri içerisinde bitki virüs hastalıkları, özellikle diğer hastalık etmenlerinden farklı olarak kimyasal mücadelesi olmaması nedeni ile kültürü yapılan bitkilerin yetiştiriciliğini tehdit eden en önemli problemlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu hastalık etmenleri, bitkilerde normal gelişme düzenini bozarak çeşitli morfolojik ve fizyolojik bozukluklara neden olarak verimde önemli düşüslere neden olabilmektedir (Lisa ve ark. 1981, Lecoq ve Pitrat 1984, Lisa ve Lecoq 1984, Luis ve ark. 1998, Lecoq ve ark. 2002).

Şu ana kadar Cucurbitaceae familyasına ait bitkilerde toplamda 32 adet virüs ve virüs benzeri hastalık etmeni bildirilmiştir. Bu hastalık etmenlerinin içerisinde en önemlileri; Hıyar Mozayik Virüsü (Cucumber Mosaic Virus, CMV), Kabak Mozayik Virüsü (Squash Mosaic Virus, SqMV), Kabak Sarı Mozayik Virüsü (Zucchini Yellow Mosaic

Virus ZYMV), Kıvrıkcık Tepe Virüsü (Curly Top Virus, CTV), Hıyar Yeşil Benek Mozaik Virüsü (Cucumber Green Mottle Mosaic Virus, CGMMV), Papaya Halkalı Nokta Virüsü (Papaya Ring Spot Virus, PRSV), Karpuz Mozayik Virüsü II (Watermelon Mosaic Virus II, WMV II) gösterilebilir (Lisa ve Lecoq, 1984; Purcifull ve ark., 1984; Gilbert ve Albertini, 1995). Bu hastalık etmenlerinden özellikle Kabak Sarı Mozayik Virüsü (ZYMV), Cucurbitaceae familyası yetiştiriciliğini tehdit eden, bitkilerde yaprak ve meyvelerde önemli deformasyonlara yol açarak ekonomik olarak büyük ürün kayıplarına yol açan en önemli virüslerden bir tanesi olarak bilinmektedir (Lovisolo, 1980; Lecoq, 1991). Bu virüsler özellikle *Aphis citricola* Patch, *A. gossypii* Glover, *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas), ve *Myzus persicae* (Sulzer) gibi yaprak bitleri ile non-persistent olarak taşınır (Yuan ve Ullman 1996).

Kabak Sarı Mozayik virüsü dünyada ilk olarak 1973 yılında İtalya'da saptanmış ve tanımlanmıştır (Lisa ve ark. 1981). Bu tanımlamanın ardından dünyanın değişik bölgelerinde bu hastalık etmeni tanımlanarak raporlanmıştır (Lisa ve Lecoq 1984, Davis 1986, Desbiez ve Lecoq 1997). Genel kapsamda bakıldığında bu hastalık etmeni, 5 farklı kıtada 22 farklı ülkede yayılım gösterdiği ve büyük zararlar verdiği bilinmektedir (Providenti 1984). Ülkemizde ise, 1984 yılında ilk olarak Yılmaz ve Davis tarafından tanımlanmış olup literatüre aktarılmıştır (Yılmaz ve Davis 1984).

Kabak Sarı Mozayik virüsü potyvirusler familyası üyesi olup yaklaşık 750 nm boyutunda, kıvrımlı ipliksi viron yapıya sahiptir. İlgili sınıflandırma Çizelge 2.3.'te verilmiştir. Genetik yapısına bakıldığında, yaklaşık 9600 nükleotitten oluşan tek zincirli RNA ihtiva etmektedir. RNA'nın etrafı 36 kDa büyüklüğünde bir protein kılıf ile çevrilidir. Kabak Sarı Mozayik virüsünün çok az sayıda ırkları ve patotipler rapor edilmiştir.

ZYMV virüsü cucurbitaceae familyası üyelerinde özellikle yaprak laminasında çeşitli nekrozlar, bitkide bodurluk, yapraklarda kloroz, deformasyon, mozayik yapılar, genç sürgünlerde iplikleşmeye ve çiçek azalması gibi çeşitli fizyolojik ve morfolojik belirtilere neden olmaktadır (Lecoq ve Pitrat, 1984; Providenti, 1984; Blua ve Perring, 1992). Meyve ve yapraklarda şiddetli deformasyon şeklinde belirtilere neden olan bu virüs hastalığından dolayı % 80'lere varan verim kayıpları gözlemlenmiştir (Simmons ve ark. 2008).

Çizelge 2.3. Kabak sarı mozayik virüsünün sınıflandırması

Kabak Sarı Mozayik Virüsü Sınıflandırması	
Gurup:	Gurup IV ((+)ssRNA)
Takım:	Atanmamış
Aile:	Potyviriidae
Sınıf:	Potyvirus
Tür:	Kabak Sarı Mozatik Virüsü

ZYMV ile mücadelede kullanılan herhangi bir kimyasal mücadele uygulanamamaktadır. Daha çok vektörlere karşı kimyasal mücadele uygulanması, arazinin malç veya plastik örtülerle kaplanması, ayrıca dayanıklı bitki çeşitlerinin kullanılması gibi yöntemler tavsiye edilmektedir (Lisa ve ark. 1981, Lecoq ve Pitrat 1984, Lisa ve Lecoq 1984, Summers ve ark. 1995, Clought ve Hamm 1995, Lecoq ve ark. 2002).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

Bu araştırma, 2010-2014 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nün Biyoteknoloji Laboratuvarı ile MAY Agro Tohumculuk San. Tic. A.Ş. Bursa merkez yerleşkesinde bulunan AR&GE Seraları, Patoloji Seraları ile Patoloji ve Biyoteknoloji laboratuvarlarında yürütülmüştür.

3.1. MATERİYAL

Yapılan bu doktora araştırmasında MAY Agro Tohumculuk San. Tic. A.Ş.'ye ait hıyar tohum ıslah materyalleri ebeveyn olarak kullanılmıştır. Ebeveyn olarak kullanılan bu ıslah materyalleri populasyon oluşturmak amacıyla MAY Agro Tohumculuk San. Tic. A.Ş. bünyesinde bulunan Bursa AR&GE seralarında yetiştirilmiştir.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Haritalama Populasyonunun Oluşturulması

Yapılan bu çalışmada, haritalama populasyonunun oluşturulması kapsamında ebeveynlerin temini F_1 , F_2 ve F_3 populasyonları oluşturulmuştur.

3.2.1.1. Ebeveyn Temini

Bu çalışmada kullanılan Kabak Sarı Mozaik Virüsü (ZYMV)'ne dayanıklı olan baba ile hassas olan anne, MAY Agro Tohumculuk San. Tic. A.Ş.'ye ait hıyar ıslah gen havuzundaki hatlardan tedarik edilmiştir.

3.2.1.2. F_1 Populasyonlarının Oluşturulması

Doktora tezi kapsamında F_1 , F_2 ve F_3 populasyonlarının oluşturulması amacıyla, MAY Agro Tohumculuk San. Tic. A.Ş.'ye ait hıyar ıslah gen havuzundan ebeveynler patojenisite testine tabi tutularak Kabak Sarı Mozayik Virüsü'ne karşı genetik durumları belirlenmiştir. Belirlenen bu ıslah materyallerinden ebeveyn olarak seçilen birey (BTL_HTP_1) Kabak Sarı Mozaik Virüsüne karşı homozigot dayanıklı, baba ebeveyn olarak seçilen birey (BTL_HTP_2) ise homozigot hassastır. Seçilen ebeveynler MAY Agro Tohumculuk San. Tic. A.Ş. Bursa merkez yerleşkesinde bulunan AR-GE ıslah seralarında her bir ebeveynden 10 ar adet tohum olmak üzere viyollere ekilmiştir.

Ekimde, daha önceden hazırlanan %70 torf, %30 perlit karışımı kullanılmıştır. Bitkiler, 3-4 gerçek yaprak aşamasına geldiklerinde bu bitkilerin her birinden ayrı ayrı yaprak örnekleri alınmıştır. Alınan yaprak örnekleri MAY Agro Tohumculuk San. Tic. A.Ş. Bursa merkez yerleşkesinde bulunan biyoteknoloji laboratuvarında özel olarak vakumlanmış fermuarlı torbalara konularak -80 °C’de saklanmıştır. Diğer taraftan ebeveyn bitkiler 15x22 cm ebatındaki saksılara şaşırtılmıştır. Her bir ana ve baba ebeveyn birbirleri ile ayrı ayrı melezlenerek 10 adet F₁ populasyonu yapılmıştır. Bitkiler melezlemelerin yapılması için AR-GE ıslah seralarında yetiştirilmiş ve hasadı yapılmıştır.

3.2.1.3. F₂ Populasyonlarının Oluşturulması

Elde edilen 10 adet F₁ melez kombinasyonundan 1 tanesi seçilerek diğer melez kombinasyonları, ileride herhangi bir sorunla karşılaşılması durumunda kullanılmak amacı ile yedek olarak soğuk hava depolarında özel olarak saklanmıştır. Seçilen F₁ populasyonundan 5 adet tohum, F₂ populasyonlarını oluşturmak amacı ile viyollere ekimi yapılmıştır. Ekimde, daha önceden hazırlanan %70 torf, %30 perlit karışımı kullanılmıştır. Bitkiler, 3-4 gerçek yaprak aşamasına geldiklerinde, bitkilerden yaprak örnekleri alınmıştır. Alınan yaprak örnekleri MAY Agro Tohumculuk San. Tic. A.Ş. biyoteknoloji laboratuvarında özel olarak vakumlanmış fermuarlı torbalara konularak -80 °C’de saklanmıştır. Diğer taraftan ebeveyn bitkiler 15x22 cm ebadındaki saksılara şaşırtılmıştır. Bitkiler kendilemelerin yapılması için AR-GE ıslah seralarında yetiştirilmiş ve kendilenen çiçeklerden elde edilen meyvelerin hasadı yapılmıştır.

3.2.1.4. F₃ Populasyonun Oluşturulması

Elde edilen 5 adet F₂ populasyonundan 1 tanesi (200 adet F₂ birey) F₃ populasyonunu oluşturmak amacı ile viyollere ekilmiştir. Ekimde, daha önceden hazırlanan %70 torf, %30 perlit karışımı kullanılmıştır. Geri kalan 4 adet F₂ populasyonu, ileride herhangi bir sorunla karşılaşılması durumunda yedek olarak soğuk hava depolarında özel olarak saklanmıştır. 200 adet F₂ bitkisinden DNA izolasyonu için yaprak numuneleri alındıktan sonra kendilenerek her bir F₂ bitkisinin tohumları ayrı ayrı hasat edilmiş ve dolayısıyla 200 adet F₃ populasyonu elde edilmiştir.

3.2.2. Patojenisite Testlerinin Yapılması

Elde edilen F₃ bitkileri ile birlikte hassas ana ve dayanıklı baba ebeveynler patojenisite testlemelerine tabi tutulmuşlardır. Bu testlemelerin yapılması aşamasında sırası ile virüs inokulumunun hazırlanması ve bitkilere aşılınması, in vivo virüs testlemeleri ve serolojik çalışmalar ile dayanıklılığın tespit edilmesi aşamaları bulunmaktadır.

3.2.2.1. Virüs İnokulumunun Hazırlanması ve Bitkilere Aşılınması

Hasadı yapılan F₃ bitkilerden her bir F_{2:3} meyvelerinden rastgele alınan 10 adet tohum, patojenisite testleri için daha önceden hazırlanan %70 torf, %30 perlit karışımı ile doldurulmuş viyollere ekilmiştir. Ekim tarihini takiben 10 gün sonra ZYMV izolatu hazırlanarak ilgili F₃ bitkilere inokülasyonu yapılmıştır. -20 °C de saklanan ZYMV ile bulaşık yapraklar pH'ı 7 olan fosfat tampon çözeltisinde porselen havanlarda ezilmiştir ve içerisine carborandum tozu konulmuştur. Sünger yardımı ile 10 günlük fidelerin kotiledonlarına, hazırlanan bu izolat sürülmüştür. (Yardımcı ve Korkmaz 2004). Yapılan çalışmalar ile ilgili bazı görseller Şekil 3.1.'de verilmiştir



Şekil 3.1. Hıyar bitkisinde virüs inokülasyonu.

3.2.2.2. Hıyarlar'da in vivo virüs testlemeleri

Mekanik bulaştırma yapılan bu bitkiler 1 gece yüksek nem ve karanlıkta inkübe edilerek ertesi gün seraya alınmıştır. İnokulasyondan yaklaşık 2 hafta sonra morfolojik gözlemler alınarak her bir F_{2:3} bireyinin virüs ile bulaşık olup olmadığı çeşitli morfolojik belirteçler göz önünde bulunarak ortaya çıkarılmıştır. Bu belirteçler Şekil 3.2.'de görsel olarak verilmiştir. İlk gözlemlerin ardından tekrar virüs inokülasyonu

yapılmış ve bu 2. inokulasyonun ardından yaklaşık 2 hafta sonra morfolojik gözlemler tekrar alınmıştır. Alınan her iki sonuç kıyaslanarak nihai tablo oluşturulmuştur.



Sağlıklı Bitki



Az Sararma



Yoğun Sararma

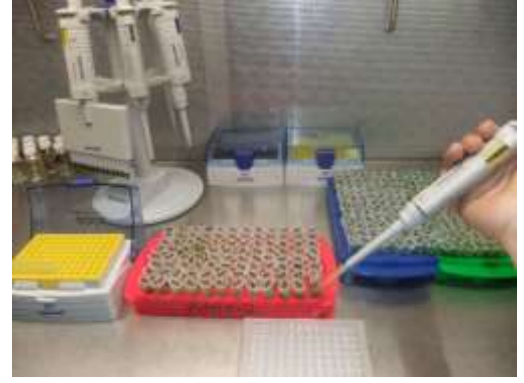


Yoğun Mozaik

Şekil 3.2. Hıyar bitkisinde ZYMV hastalığının yaprak üzerinde gösterdiği belirtiler

3.2.2.3. Serolojik Çalışmalar ile Dayanıklılığın Kontrol Edilmesi

Morfolojik gözlemlerden sonra DAS-ELISA (Clarck ve Adams 1977) testine tabi tutulmuştur. Yapılan yöntemin protokolü aşağıda verilmiştir. Bu işlemlerin ardından analizler yapıp sonuçlar oluşturulmuştur. Yapılan çalışmanın güvenilirliğini artırmak amacı ile yukarıda anlatılan işlemler 1 ay sonra tekrar yapılmıştır. Elde edilen bu iki veri ışığında F₂ bitkilerin dayanıklı ve hassas grupları oluşturulmuştur. Yapılan DAS-ELISA testlerine göre hazırlanan nihai sonuç oluşturulmuştur. Yapılan çalışmalara ait bazı görseller Şekil 3.3.'te verilmiştir.



Şekil 3.3. Hıyar bitkisinde DAS-ELISA prosedürü.

DAS-ELISA Protokolü:

- Kaplama tamponu ile kullanılacak optimum konsantrasyona göre sulandırılmış γ -globulinden Microtiter ELISA plate'nin her bir çukuruna 200 μ l konmuş ve plate üzeri kapatılarak 37 °C de 2-3 saat inkübe edilmiştir.
- İnkübasyondan sonra yıkama tamponu ile tüm kuyucuklar üç kez yıkanmış. Yıkama tamponu üç dakika süreyle kuyucuklarda bekletilmiş ve ters çevrilerek plate boşaltılmıştır.
- Alt alta gelecek şekilde her çift kuyucuğa 200 μ l örnek tamponu ile hazırlanmıştır. Örnekler düzenlenmiş plana göre konmuş ve plate'in üzeri kapatılıp 4 °C de bir gece boyunca inkübe edilmiştir.
- İnkübasyondan sonra plateler yıkama tamponu ile tüm kuyucuklar üç kez yıkanmıştır. Yıkama tamponu üç dakika süreyle kuyucuklarda bekletilerek ve ters çevrilerek plate boşaltılmıştır.
- Konjugate tamponu ile optimum kullanılacak konsantrasyona göre sulandırılacak konjugate'dan her bir kuyucuğa 200 μ l konulacak ve plate 37 °C de 2-3 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyondan sonra yıkama tamponu ile tüm kuyucuklar üç kez yıkanmıştır. Yıkama tamponu üç dakika süreyle kuyucuklarda bekletilmiş, ters çevrilerek plate boşaltılmış ve kağıt havlu üzerine vurarak kuruması sağlanmıştır.

- Substrat tamponunda taze olarak hazırlanmış substrattan (1mg/ml p-nitrophenyl phosphate) her bir kuyucuğa 200 µl konmuş ve 30-60 dakika veya gerekli görüldüğünde daha uzun süre oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edilmiştir.

- İnkübasyon süresi sonunda, gerekli olduğu durumlarda reaksiyonu durdurmak için her bir çukura 20-50 µl 3 M NaOH ilave edilmiştir.

- Ölçümler ELISA okuyucusu ile 405 nm dalga boyunda yapılmıştır.

Her testlemede sağlıklı bitki (kontrol), negatif kontrol, pozitif kontrol ve buffer kullanılmıştır. Sağlıklı kontrol için 405 nm de elde edilen absorbans değerinin en az iki katı ve daha fazla absorbans değeri veren örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir.

3.2.3. Genetik Haritalama Çalışmaları

Yapılan bu araştırmada, genetik haritalama çalışmaları kapsamında DNA izolasyonu, DNA miktar ve kalite ölçümü, moleküler markırlar ve PCR İşlemleri, Bulk Segregant Analizi ve haritalama populasyonunun test edilmesi aşamaları yapılmıştır.

3.2.3.1. DNA İzolasyonu

Melezleme ve kendilemeler esnasında; ana ve baba ebeveynler, F₁ ve F₂ bireylerinden elde edilen yaprak numunelerinin DNA izolasyonu, “Wizard Genomic DNA Purification” (Promega, Madison, WI 53711, ABD) DNA izolasyon kiti ile yapılmıştır. DNA izolasyonu için bitkilerin 3-4 yaprak aşamasındaki gerçek yaprakları kullanılmıştır. Örnek toplama işlemi buz üzerinde yapılmış ve DNA izolasyonu yapılincaya kadar –80 °C de poşetler içerisinde saklanmıştır. DNA izolasyonu ile ilgili ayrıntılı protokolü aşağıda verilmiştir.

DNA İzolasyon Protokolü:

- 750 µl Nuclei Lysis çözeltisi ilave edilerek dokuyu ıslatmak için 1-3 saniye vortekslenmiştir.

- 65 °C de 30 dakika inkübe edilmiştir.

- 3 µl RNase solusyonu ilave edilmiştir.

- 5-10 kez ters yüz edilerek karıştırılmıştır.
- 37 °C’de 15 dakika inkübe edilmiştir.
- 5 dakika süresince oda sıcaklığına ulaşması için beklenmiştir.
- 200 µl Protein Precipitation çözeltisi ilave edilir ve 20 saniye şiddetli bir şekilde vortekslenmiştir.
- 5 dakika 10 000 rpm de santrifüjlenmiştir.
- DNA içeren sıvı kısım, içinde 600 µl oda sıcaklığında izopropanol bulunan tüplere aktarılmıştır.
- Yavaşça hafif iplikçik şekilde DNA görülünceye kadar 30-40 defa ters yüz edilmiştir.
- 10 000 rpm de 1 dk boyunca santrifüjlenir. Sulu kısım dikkatlice uzaklaştırılmıştır.
- 600 µl %70 lik etanol ilave edilir ve yavaşça karıştırılır ters düz edilerek DNA yıkanmış ve 5 dakika 10 000 rpm de santrifüjlenmiştir.
- Etanol dikkatlice uzaklaştırılmıştır (DNA çökeltisi çok gevşek bir durumda olduğundan azami dikkat edilmelidir).
- Tüpü temiz bir absorbant kağıt havlu üzerinde ters çevirerek 15 dakika bekletilmiştir. 100 µl DNA Rehydration tampon çözeltisi (Tris-EDTA) ilave edilip 65 °C’de en az 2 saat inkübe edilmiştir. Belirli aralıklarla hafifçe titreştirerek karıştırılmıştır (Alternatif olarak gece boyunca oda sıcaklığında bekletilebilir).
- DNA’lar hafifçe vortekslenerek, 10.000 rpm de 5 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Elde edilen DNA lar -20 °C de saklanmıştır.

3.2.3.2. DNA Miktar ve Kalite Ölçümü

DNA miktar ve kalite ölçümünde “Eppendorf Biophotometer plus” spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. DNA ların bu cihazda 230, 260 ve 280 nm’de okumaları gerçekleştirilmiş, elde edilen sonuçlara göre ultra saf su ile gerekli sulandırma işlemleri yapılarak PCR işlemine hazır hale getirilmiştir. Sulandırma işleminde her bir DNA

örneğinin konsantrasyonu 50-100 ng/μl olacak şekilde ayarlanarak DNA örnekleri -20 °C de saklanmıştır.

3.2.3.3. Moleküler Markırlar ve PCR İşlemleri

Bu araştırma kapsamında daha önceden tespit edilen ve PIC (Polymorphism Information Content) değerlerine göre çeşitli makalelerden derlenmiş co-dominant SSR ve InDEL moleküler markırların yanı sıra dominant SRAP ve AFLP primer kombinasyonları kullanılmıştır. Doktora araştırması kapsamında 586 adet SSR, 169 adet SRAP, 11 adet InDEL moleküler markırları ile 308 AFPL primer kombinasyonları kullanılmıştır (Park ve ark. 2000, Ferriol ve ark. 2003, Witkowicz ve ark. 2003).

3.2.3.3.1. SSR (Simple Sequence Repeats; Basit Dizi Tekrarları) Moleküler Yöntemi

Bu çalışmada, daha önceden çeşitli kaynaklardan derlenmiş 586 adet SSR moleküler işaretleyicisi kullanılmıştır (Watcharawongpaiboon ve Chunwongse 2007, Fukino ve ark. 2008, Hu ve ark. 2010). İlgili SSR moleküler markırlar Ek-1’de verilmiştir. Her bir SSR primeri için master mix ve sıcaklık döngüleri ilgili kaynakların verdiği bilgiler doğrultusunda yapılmıştır. İlgili protokoller Çizelge 3.1 ve 3.2’te verilmiştir.

Çizelge 3.1. SSR master mix protokolü

	Kimyasallar	Miktar
1	10x PCR Buffer	2.5 μl
2	MgCl ₂ (25 mM)	1.5 μl
3	dNTP (10 mM)	0.6 μl
4	Forward Primer	0.5 μl
5	Reverse Primer	0.5 μl
6	Taq DNA Polimeraz (5U)	0.4 μl
7	Saf Su	15.5 μl
8	DNA (50-100 ng/μl)	3.0 μl
	TOPLAM	25.0 μl

Çizelge 3.2. SSR sıcaklık döngü protokolü

1	94 °C	3 dakika	
2	94 °C	30 saniye	36 x
	50 °C	45 saniye	
	72 °C	1 dakika	
3	72 °C	5 dakika	

SSR analizlerinde elde edilecek bantların büyüklüklerinin birbirine çok yakın olması ve bu bantları ayırmada güçlüklerin olması nedenleriyle, elektroforez işlemleri SFR (Super Fine Resolution) agaroz jeli kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri, %4 lük SFR agaroz jel üzerinde 90 V elektrik akımı altında 3 saat yürütüldükten sonra jel görüntüleme sisteminde, UV ışık altında görüntülenmiştir. Elde edilen veriler analiz edilerek istenilen segregasyonun var olup olmadığı kontrol edilmiştir.

3.2.3.3.2. SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism; Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm) Moleküler Yöntemi

Bu çalışmada, daha önceden çeşitli kaynaklardan derlenmiş 170 adet SRAP moleküler işaretleyicisi kullanılmıştır (Li ve ark. 2001, Yeboah ve ark. 2007, Ferriol ve ark. 2003, Meng ve ark. 2012). İlgili SRAP moleküler markır kombinasyonları Ek-2’de verilmiştir. Her bir SRAP primer kombinasyonu için master mix ve sıcaklık döngüleri ilgili kaynakların verdiği bilgiler doğrultusunda yapılmıştır. İlgili protokoller Çizelge 3.3 ve 3.4’te verilmiştir.

Çizelge 3.3. SRAP master mix protokolü

	Kimyasallar	Miktar
1	10x PCR Buffer	2.0 µl
2	MgCl ₂ (25 mM)	0.8 µl
3	dNTP (10 mM)	0.8 µl
4	Forward Primer	0.6 µl
5	Reverse Primer	0.5 µl
6	Taq DNA Polimeraz (5U)	0.4 µl
7	Saf Su	16.9 µl
8	DNA (50-100 ng/µl)	3.0 µl
	TOPLAM	25.0 µl

Çizelge 3.4. SRAP sıcaklık döngü protokolü

1	94 °C	2 dakika	
2	94 °C	45 saniye	4x
	35 °C	45 saniye	
	72 °C	1 dakika	
3	94 °C	45 saniye	34x
	50 °C	45 saniye	
	72 °C	1 dakika	
4	72 °C	7 dakika	

SRAP analizlerinde elde edilen bantların büyüklüklerinin birbirine çok yakın olması ve bu bantları ayırmada güçlüklerin olması nedenleriyle, elektroforez işlemleri SFR (Super Fine Resolution) agaroz jeli kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri, %4 lük SFR agaroz jel üzerinde 90 V elektrik akımı altında 3 saat yürütüldükten sonra jel görüntüleme sisteminde, UV ışık altında görüntülenmiştir. Elde edilen veriler analiz edilerek istenilen segregasyonun var olup olmadığı kontrol edilmiştir.

3.2.3.3.3. InDEL (Insertion-Deletion Polymorphisms; Eklenme ve Silinme Polimorfizmi)

Bu çalışmada, daha önceden çeşitli kaynaklardan derlenmiş 11 adet InDel moleküler işaretleyicisi kullanılmıştır (http://www.icugi.org/cgi-bin/cmap/viewer?ref_map_set_acc=11;ref_map_accs=140). İlgili InDel moleküler markır Ek-3'te verilmiştir. Her bir InDel primeri için master mix ve sıcaklık döngüleri ilgili kaynakların verdiği bilgiler doğrultusunda yapılmıştır. İlgili protokoller Çizelge 3.5. ve 3.6.'da verilmiştir.

Çizelge 3.5. InDel master mix protokolü

	Kimyasallar	Miktar
1	10x PCR Buffer	2.0 µl
2	MgCl ₂ (25 mM)	0.8 µl
3	dNTP (10 mM)	0.8 µl
4	Forward Primer	0.6 µl
5	Reverse Primer	0.5 µl
6	Taq DNA Polimeraz (5U)	0.4 µl
7	Saf Su	16.9 µl
8	DNA (50-100 ng/µl)	3.0 µl
	TOPLAM	25.0 µl

Çizelge 3.6. InDel sıcaklık döngü protokolü

1	94 °C	2 dakika	
2	94 °C	45 saniye	4x
	35 °C	45 saniye	
	72 °C	1 dakika	
3	94 °C	45 saniye	34x
	50 °C	45 saniye	
	72 °C	1 dakika	
4	72 °C	7 dakika	

InDel analizlerinde elektroforez işlemleri SFR (Super Fine Resolution) agaroz jeli kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri, % 4 lük SFR agaroz jel üzerinde 90 V elektrik akımı altında 3 saat yürütüldükten sonra jel görüntüleme sisteminde, UV ışık altında görüntülenmiştir. Elde edilen veriler analiz edilerek istenilen segregasyonun var olup olmadığı kontrol edilmiştir.

3.2.3.3.4. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism; Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi)

Temel olarak herhangi bir organizmaya ait genomik DNA'nın bazı spesifik restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucu oluşan küçük DNA fragmentlerinin bir grubunun selektif amplifikasyonu esasına dayanan bir yöntemdir. Bu kapsamda AFLP Sistem II kiti (Invitrogen, Omaha, NE, ABD) kullanılmıştır. Seçici çoğaltma için primerlere 2 adet seçici nükleotid eklenmiş, restriksiyon ve ligasyon işlemleri bu seçici nükleotidlere göre belirlenmiştir. Seçici çoğaltma için de üretici firmanın önerdiği reaksiyon ve sıcaklık döngüsü kullanılmıştır. Seçici olarak çoğaltılan DNA parçacıkları Li-Cor 4300 DNA analiz cihazı kullanılarak büyüklüğüne göre ayrıştırılmış ve veri analizleri yapılmıştır. AFLP Sistem II kitinde 8 adet *EcoRI* primeri ve 8 adet de *MseI* primeri bulunmaktadır. Analizler için ilk olarak bu primerlerle yapılabilecek olan 64 primer kombinasyonu denenmiş, çıkan sonuçlara göre 244 adet AFLP kombinasyonu daha denenerek toplamda 308 adet AFLP kombinasyonu denenmiştir. AFLP yönteminde kullanılan AFLP primer kombinasyonları Ek-4'te verilmiştir. Üretici firmanın önerdiği reaksiyon ve sıcaklık döngüleri ise Çizelge 3.7. ve 3.8.'de verilmiştir.

Çizelge 3.7. AFLP selektif amplifikasyon PCR master mix protokolü

	Kimyasal	Miktar
1	10x PCR Master Mix	1.25 µl
2	MgCl ₂ (25 mM)	0.85 µl
3	dNTP	1.25 µl
4	EcoRI-I	0.5 µl
5	EcoRI-II	0.5 µl
6	MseI	1.5 µl
7	Taq DNA Polymerase	0.15 µl
8	sdH ₂ O	4.5 µl
	DNA	2.0 µl

Çizelge 3.8. AFLP selektif amplifikasyon sıcaklık döngü protokolü

1	95 °C	5 dakika	
2	94 °C	40 saniye	
	65 °C	1 dakika	13x
	72 °C	1 dakika 40 saniye	(-0.7 azalt)
3	94 °C	40 saniye	
	56 °C	45 saniye	23x
	72 °C	1 dakika 40 saniye	
4	72 °C	5 dakika	

3.2.3.4. BSA (Bulk Segregant Analizi)

Araştırma kapsamında yapılan Bulk Segregant analizi, (Michelmore ve ark. 1991) tarafından tanımlanan yöntemle göre yapılmıştır. Michelmore ve ark. (1991) bulk segregant analizinde üzerinde çalışılan bir karaktere bağlı olmayan bir moleküler işaretleyicinin bağlantılıymış gibi gözükmesi olasılığını $2[1-(1/4)^n] [1/4]^n$ denkleminden yararlanarak hesaplamıştır. Bu denklem doğrultusunda bulk yapılan birey sayısı 5 olduğunda, üzerinde çalışılan bir karaktere bağlı olmayan bir moleküler işaretleyicinin bağlantılıymış gibi gözükmesi olasılığını %0,2, bulk yapılan birey sayısı

10 olduğunda ise % 0,0002 olmaktadır. Yapılan bu çalışmada kullanılan 10 bitkinin DNA'sı bulk yapıldığından bağlantılı olduğu belirlenen moleküler işaretleyicilerin güvenilirliği oldukça yüksek olduğu saptanmıştır. Belirlenen bu moleküler işaretleyicilerin ZYMV hastalığına dayanıklılık sağlayan gene olan uzaklığı tüm F₂ bitkilerine ait DNA rnekleri kullanılarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. F₁, F₂ ve F₃ Populasyonlarının Oluşturulması

Araştırma kapsamında MAY Agro Tohumculuk San. Tic. A.Ş.' ye ait hıyar ıslah gen havuzundan ebeveynler, F₁ populasyonlarının oluşturulması amacıyla, patojenisite testine tabi tutularak Kabak Sarı Mozayik Virüsü'ne karşı dayanıklılık durumları belirlenmiştir. Belirlenen bu ıslah materyallerinden BTL_HTP_1 kodlu ebeveyn homozigot dayanıklı, BTL_HTP_2 kodlu birey ise homozigot hassas özellikte olup, BTL_HTP_1 baba, BTL_HTP_2 is ana olarak kullanılmıştır. Ebeveynlerin homozigot olup olmadıkları döl kontrolü yapılarak belirlenmiştir.

Seçilen ebeveynler MAY Agro Tohumculuk San. Tic. A.Ş.Bursa merkez yerleşkesinde bulunan AR&GE ıslah seralarında her bir ebeveyninden 10 adet tohum viyollere ekilmiştir. Her bir ana ve baba ebeveyn birbirleri ile ayrı ayrı melezlenerek 10 adet F₁ populasyonu oluşturulmuştur. Bitkiler melezlemelerin yapılması için AR-GE ıslah seralarında yetiştirilmiş ve hasadı yapılmıştır. Elde edilen 10 adet F₁ melez kombinasyonundan 1 tanesi F₂ populasyonu oluşturmak için kullanılmıştır. F₂ populasyonlarını oluşturmak için kullanılan F₁ populasyonundan 5 adet tohum viyollere ekilmiştir. Bitkiler kendilenerek AR-GE ıslah seralarında yetiştirilmiş ve hasadı yapılmıştır. Elde edilen 5 adet F₂ populasyonundan 1 tanesi (200 adet F₂ birey) F₃ populasyonunu oluşturmak amacı ile viyollere ekilmiştir. 200 adet F₂ bitkisi kendilenmiş, F₂ bitkilerinin tohumları ayrı ayrı hasat edilmiş ve 200 adet F₃ populasyonu elde edilmiştir.

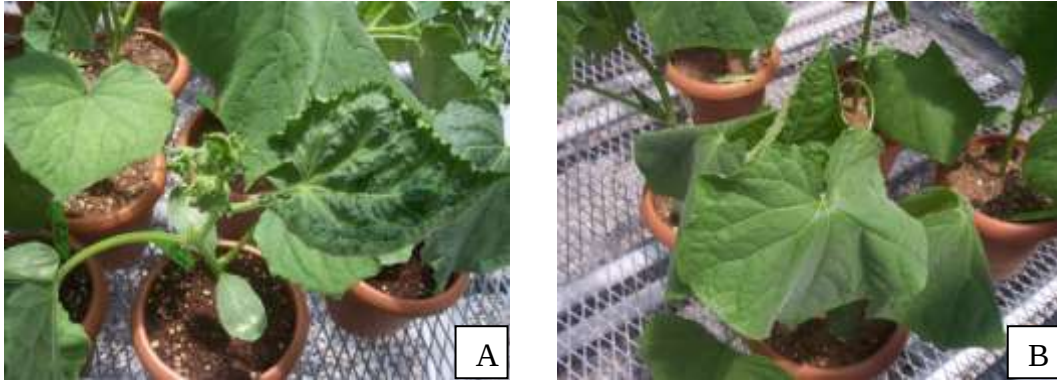
4.2. Patojenisite Testleri

F₂ bitkilerinin kendilenmesi sonucu elde edilen F₃ bitkilerden her bir F_{2:3} meyvelerinden rasgele alınan 10 adet tohum, patojenisite testine tabi tutulmuştur. İnokülasyonu yapılan ve seraya aktarılan F_{2:3} bitkilerin hem morfolojik gözlemleri yapılmış hem de DAS-ELISA (Clarck ve Adams 1977) yöntemi kullanılarak bitkilerin virüse karşı reaksiyonu belirlenmiştir.

Bu çalışmada toplamda 2000 adet F₃ tohumu ile 20 adet ebeveyn tohumları (10 adet ana, 10 adet baba) patojenisite testi için ekilmiştir. Ekilen bu tohumlardan 198 tanesi

çeşitli nedenlerden dolayı testlemeye alınamamıştır. Geri kalan 1822 adet bitki ile testleme yapılmış ve bu bitkilerden 1201 tanesi ZYMV'ye karşı çeşitli belirtiler gösterirken, 595 tanesinin sağlıklı olduğu gözlemlenmiştir. Dayanıklı ve hassas bitkilere ait örnek resimler Şekil 4.1. de verilmiştir. Detaylı bilgiler Ek-5' te verilmiştir.

200 adet F₃ bitkisinden 12 bitki, tohumların çimlenmemesi ya da çimlenmiş bitkilerin hayatını kaybetmesi gibi nedenlerden dolayı testlemeye alınamamış, geri kalan 188 bitkiden 46 tanesi homozigot dayanıklı, 91 tanesi heterozigot hassas, 51 tanesi ise homozigot hassas çıkmıştır. Dayanıklı çıkan F₂ populasyonu bireylerinden 5 tanesinde bütün bitkiler, 12 tanesinde 9 bitki, geri kalan 29 bitkide ise 8 bitki dayanıklı çıkmıştır. Hassas çıkan F₂ populasyonu bireylerinden 12 tanesinde bütün bitkiler, 21 tanesinde 9 bitki, 18 tanesinde ise 8 bitki hassas çıkmıştır. Elde edilen veriler ışığında, Patojenisite testlemesi sonucu 2000 adet F₃ bitkisinin % 9,9'u çeşitli nedenlerden dolayı testlemeye alınamamıştır. % 60,01'inde çeşitli belirtiler gözlenirken, %29,75'inde ise herhangi bir belirti gözlemlenmemiştir.



Şekil 4.1. ZYMV patojenisite testi sonu sonuçlarına göre hassas ve dayanıklı çıkan bitki numuneleri. A- Hassas, B-Dayanıklı

Yapılan χ^2 testi sonuçlarına göre elde ettiğimiz DAS-ELISA ve Fenotipik gözlem sonuçları 1:2:1 açılımına uygun olduğu gözlenmiştir. χ^2 test sonuçları Çizelge 4.1 de verilmiştir.

Çizelge 4.1. DAS-ELISA sonuçlarına göre F_{2:3} populasyonunun χ^2 testi sonuçları

Populasyon	Teste Alınan Bitki Sayısı				
	Toplam Bitki	Negatif	Negatif/Pozitif	Pozitif	χ^2
F _{2:3} (DAS-ELISA sonuçları)	188	46	91	51	0,795
F _{2:3} (Fenotipik gözlemler)	188	39	97	52	0,368

Elde edilen sonuçlara göre test edilen 10 bitkinin hepsinde ya da 9 unda dayanıklı ya da hassas sonuçları veren bitkiler seçilerek dayanıklı ve hassas bulk guruplar oluşturulmuştur. Elde edilen bu bulk guruplar BR₁, BR₂, BS₁ ve BS₂ olmak üzere 4 ayrı guruba ayrılarak ilgili bitkilerin DNA ları alınıp genotipleme analizleri için hazır hale getirilmiştir. İlgili guruplar ve bitki numaraları Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

4.3. Genetik Haritalama Çalışmaları

4.3.1. DNA İzolasyonu

Haritalama populasyonlarının oluşturulması sırasında; ana ebeveyn, baba ebeveyn, F₁ ve F₂ bireylerinden elde edilen yaprak numunelerinin DNA izolasyonu 3-4 yaprak aşamasındaki gerçek yaprakları kullanılarak yapılmıştır.

Çizelge 4.2. Bulk guruplar ve bitki numaraları

No	Bitki Numarası	Bulk Gurup
1	F2_1_2	BR-1
2	F2_1_5	BR-1
3	F2_1_18	BR-1
4	F2_1_27	BR-1
5	F2_1_33	BR-1
6	F2_1_34	BR-1
7	F2_1_39	BR-1
8	F2_1_40	BR-1
9	F2_1_41	BR-2
10	F2_1_44	BR-2

Çizelge 4.2. devam Bulk guruplar ve bitki numaraları

No	Bitki Numarası	Bulk Gurup
11	F2_1_45	BR-2
12	F2_1_50	BR-2
13	F2_1_53	BR-2
14	F2_1_55	BR-2
15	F2_1_61	BR-2
1	F2_1_64	BS-1
2	F2_1_67	BS-1
3	F2_1_68	BS-1
4	F2_1_69	BS-1
5	F2_1_72	BS-1
6	F2_1_74	BS-1
7	F2_1_76	BS-1
8	F2_1_77	BS-1
9	F2_1_81	BS-1
10	F2_1_82	BS-2
11	F2_1_95	BS-2
12	F2_1_100	BS-2
13	F2_1_101	BS-2
14	F2_1_108	BS-2
15	F2_1_119	BS-2
16	F2_1_131	BS-2
17	F2_1_134	BS-2

4.3.2. DNA Miktar ve Kalite Ölçümü

DNA miktar ve kalite ölçümünde Biophotometer plus (Eppendorf GmbH, Hamburg, Almanya) spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. DNA ların bu cihazda 230, 260 ve 280 nm'de okumaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA lar 21,6 µg/ml ile 1267,9 µg/mL arasında değişmektedir. 100 µg/ml'nin üstünde değere sahip DNA örnekleri ultra saf su

ile sulandırılarak miktarları 50-100 µg/ml'ye çekilmiştir. Ayarlanan DNA örnekleri -20 °C de saklanmıştır.

DNA kalitesinin ölçülmesi adına 260/280 ve 260/230 oranlarına bakılmıştır. 260/280 oranları genel olarak istenilen değerler arasında olmakla birlikte 10 bitkinin değerleri ölçülememiştir. 260/230 oranlarında ise 13 bitkinin değerleri ölçülememiştir. Elde edilen DNA'lar ayrıca % 3'lük agaroz jelde 120 V elektrik altında 1 saat yürütülmüş ve DNA varlığı gözlemlenmiştir. DNA izolasyonundan sonra elde edilen DNA miktarları ile DNA'nın kalitesini gösteren 260/280 ve 230/280 oranları Ek-6.'da verilmiştir.

4.4. PCR ve Moleküler Markır Analizleri

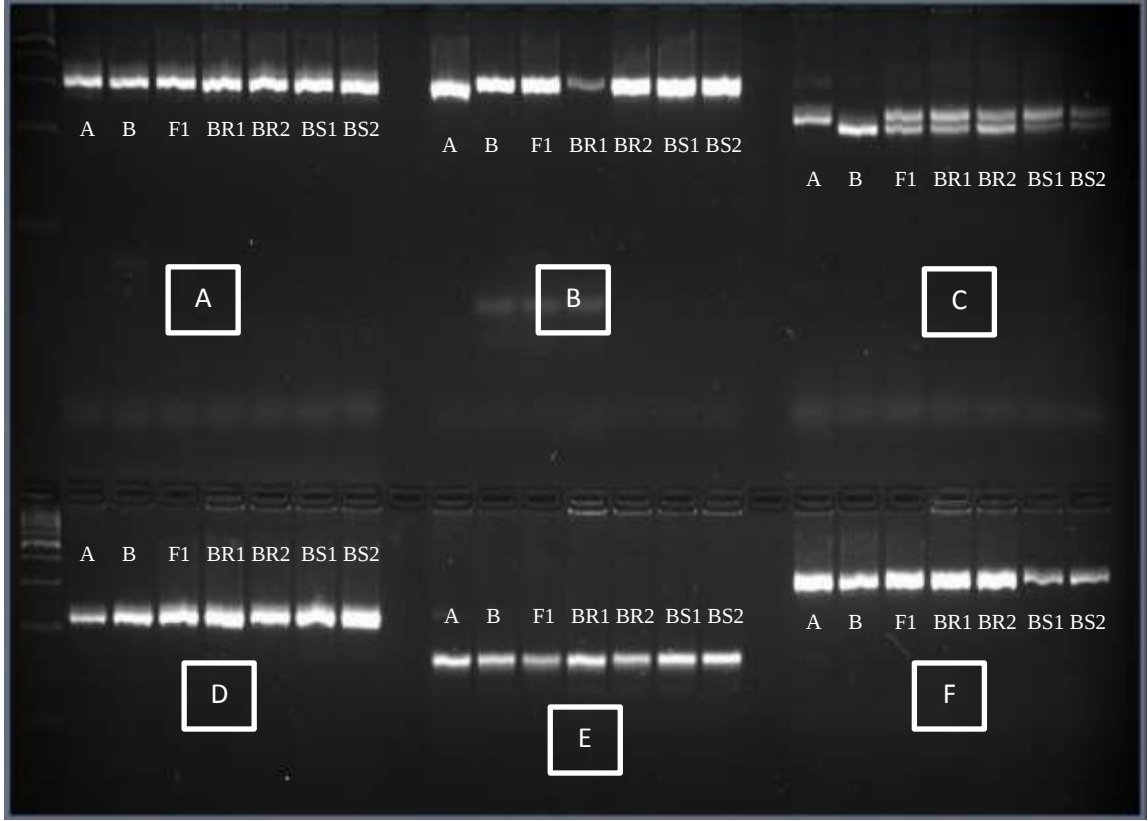
Araştırma kapsamında daha önceden tespit edilen ve PIC (Polymorphism Information Content) değerleri dikkate alınarak literatürde yeral makalelerden tespit edilmiş co-dominant SSR, SRAP ve InDEL moleküler markırları ve dominant AFLP moleküler markırları kullanılmıştır. Doktora araştırması kapsamında 586 adet SSR, 170 adet SRAP, 11 adet InDEL moleküler markırları ile 308 AFPL primer kombinasyonları kullanılmıştır.

4.4.1. SSR (Simple Sequence Repeats; Basit Dizi Tekrarları)

Bu çalışmada, 586 adet SSR moleküler markırının ebeveyn hatlar F1 ve bulk DNA örnekleri arasındaki açılımı incelenmiştir. Yapılan bu genotipleme çalışmasında elde edilen veriler analiz edilerek istenilen segregasyonun var olup olmadığı da kontrol edilmiştir. Elde edilen verilere göre 586 adet SSR primerinden sadece 52 tanesinde ebeveynler arasında polimorfizmin olduğu görülmüş ve polimorfizm oranı ise % 8.87'dir.

Yapılan SSR analizi ile ilgili örnek jel görüntüsü Şekil 4.2.'de verilmiştir. Şekil 4.2.'de görüldüğü üzere A, B, D, E ve F panellerinde görülen CSN257, ECM80, SSR2736, SSR3049 ve SSR3056 moleküler markırları, monomorfik özellikte olduğu ve sadece CSN076 (Şekil 4.1.C) moleküler markırının polimorfik görülmektedir. Elde edilen bu polimorfik primerler, mevcut ana ve baba ebeveynler, F₁, dayanıklı ve hassas bulk guruplarında dayanıklılık geni ile birlikte açılım gösterip göstermediğine bakılmış ve hiçbir SSR markırının dayanıklılık geni ile birlikte açılım göstermediği

gözlemlenmiştir. Bu nedenle bu polimorfik SSR markırlarından hiçbirinin dayanıklılık geni ile bağlantılı olmadığı tespit edilmiştir.

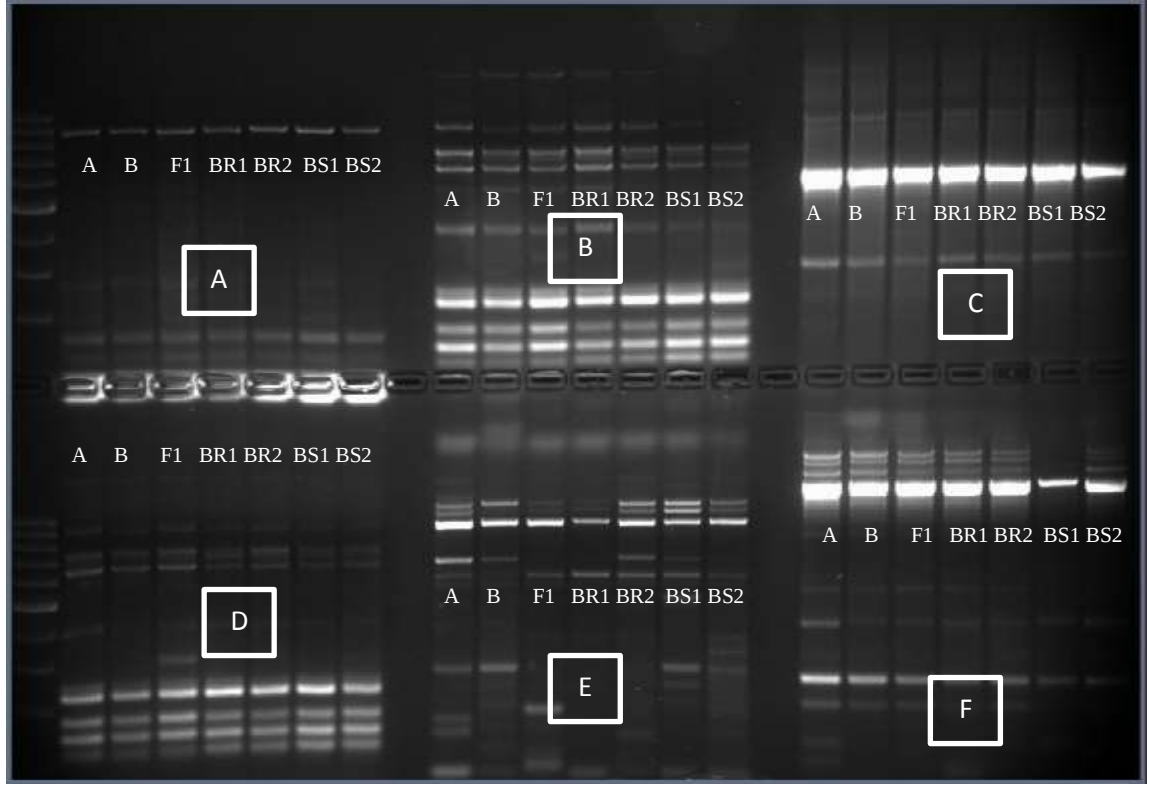


Şekil 4.2. Bazı SSR primerlerinin genotipleme tarama jel görüntüleri. (A-CSN257, B-ECM80, C-CSN076, D- SSR2736, E- SSR3049, F-SSR3056, A: Ana ebeveyn, B: Baba ebeveyn, BR₁: Dayanıklı bulk grup 1, BR₂: Dayanıklı bulk grup 2, BS₁: Hassas bulk grup 1, BS₂: Hassas bulk grup 2)

4.4.2. SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism)

Toplam 170 adet SRAP primer kombinasyonu (17 adet ME ve 10 adet EM) kullanılmıştır. Elde edilen veriler analiz edilerek istenilen segregasyonun var olup olmadığı kontrol edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda toplamda 760 adet DNA bandı elde edilmiş olup bu bantlardan 68 tanesi polimorfik olduğu gözlemlenmiştir. Polimorfizm oranı % 8,95'tir.

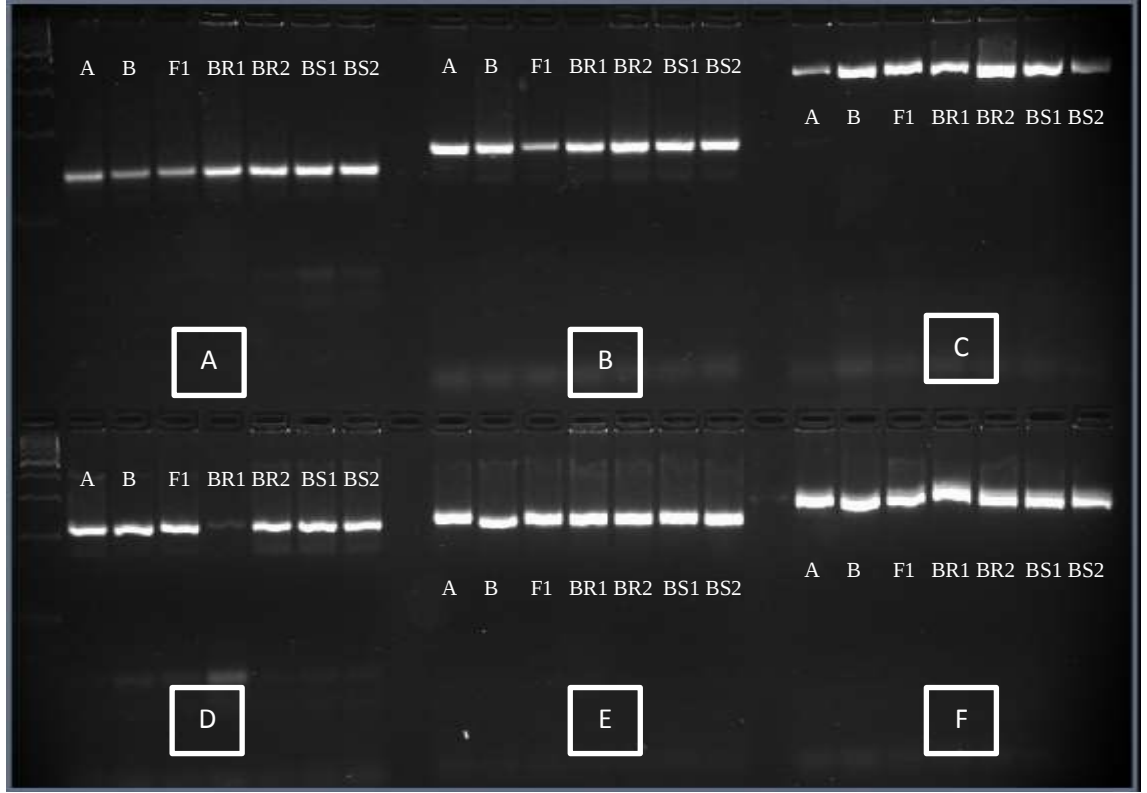
Yapılan SRAP analizi ile ilgili örnek jel görüntüsü Şekil 4.3.'te verilmiştir. Polimorfizm gösteren bantların hiç birinin dayanıklılık geni ile birlikte açılım göstermediği tespit edilmiştir.



Şekil 4.3. Bazı SRAP primer kombinasyonlarının genotipleme tarama jel görüntüleri. (A- ME-3/EM-6, B- ME-3/EM-8, C- ME-3/EM-9, D- ME-3/EM-14, E- ME-3/EM-18, F- ME-3/EM-20, A: Ana ebeveyn, B: Baba ebeveyn, BR₁: Dayanıklı bulk grup 1, BR₂: Dayanıklı bulk grup 2, BS₁: Hassas bulk grup 1, BS₂: Hassas bulk grup 2)

4.4.3. InDEL (Insertion-Deletion Polymorphisms)

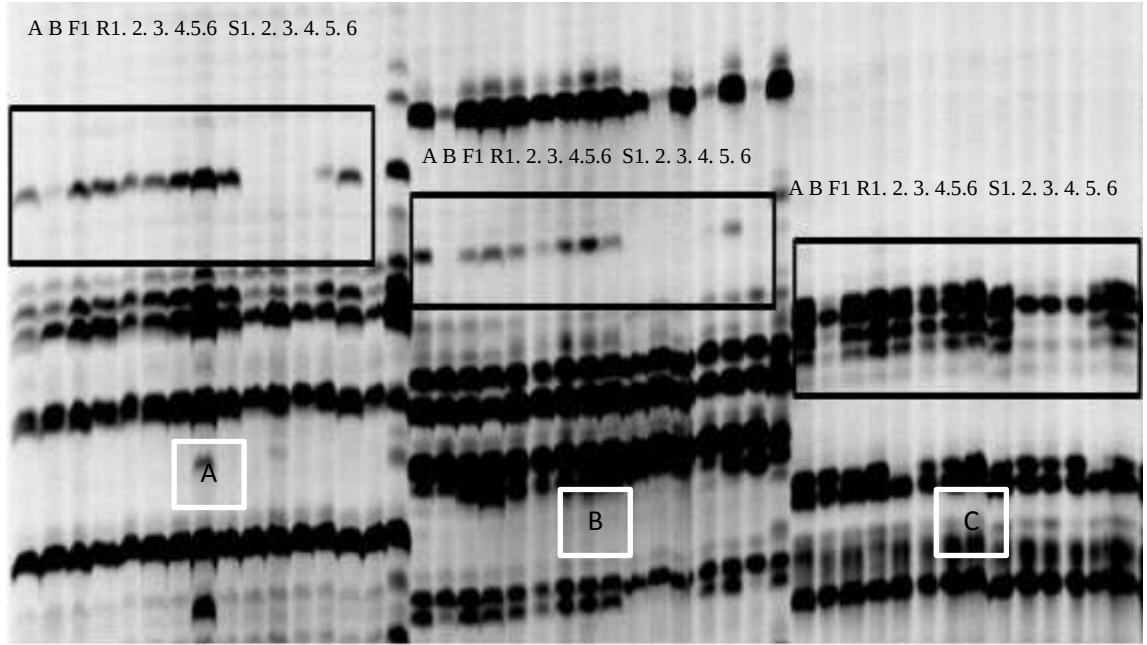
Literatürden tespit edilmiş toplam 11 adet InDel moleküler işaretleyicisi genotipleme çalışması için kullanılmıştır. Elde edilen veriler analiz edilerek bu markırların dayanıklılık geni ile birlikte açılım gösterip göstermediğine dikkat edilmiştir. Yapılan çalışmada daha önceden sentezlettirilen ve ilgili standardizasyon çalışmaları yapılan 11 adet InDel primeri ile toplam 32 adet DNA bandı elde edilmiş olup bu bantlardan 4 tanesi polimorfizm göstermiştir. Polimorfizm oranı tüm bantlarda % 12,5'tir. Polimorfizm gösteren bantların hiç biri dayanıklılık geni ile birlikte açılım göstermediği gözlemlenmiştir. Yapılan InDel analizi ile ilgili bazı örnek jel görüntüsü Şekil 4.4.'te verilmiştir.



Şekil 4.4. Bazı InDel primerlerinin genotipleme tarama jel görüntüleri.
(A-AB032936_2, B-CM1.15, C-CM1.41, D-CM2.20, E-EAACMCAC391-395STS, F-EAAGMCAG154STS, A: Ana ebeveyn, B: Baba ebeveyn, BR₁: Dayanıklı bulk grup 1, BR₂: Dayanıklı bulk grup 2, BS₁: Hassas bulk grup 1, BS₂: Hassas bulk grup 2)

4.4.4. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

Yapılan bu çalışma sonucunda toplamda 308 adet farklı AFLP primer kombinasyonu genotipleme çalışması için denenmiştir. Elde edilen jel görüntüleri incelenerek polimorfik AFLP markırlarının dayanıklılık geni ile birlikte açılım gösterip göstermediği tespit edilmiştir. Her bir AFLP primer kombinasyonundan 3-12 arasında polimorfik bant edilmiştir. Elde edilen bu polimorfik bantların toplama oranı % 6,75'tir. Bu kombinasyonlardan *E-ACA/MCA*, *EACA/M-CC*, *E/ACA/M-CT*, *E-AAC/M-CA*, *EAAC/M-CC*, *EAAC/M-CT*, *E-AAT/M-CAC*, *E-AAT/M-CAG*, *E-ACT/M-CAA* kombinasyonları, daha önceden oluşturduğumuz ana, baba, F₁ ile 6 adet dayanıklı ve 6 adet hassas guruplar üzerinde doğru açılımı verdiği gözlemlenmiştir. Yapılan AFLP analizi ile ilgili bazı örnek jel görüntüsü Şekil 4.5.'te verilmiştir.



Şekil 4.5. Bazı AFLP primer kombinasyonlarının genotipleme tarama jel görüntüleri. A-E-ACA/MCA, B-EACA/M-CC, C-E/ACA/M-CT, A: Ana ebeveyn, B: Baba ebeveyn, R₁: Dayanıklı birey 1, 2, 3, 4, 5, 6, S₁: Hassas birey 1, 2, 3, 4, 5, 6)

4.6. Haritalama Populasyonunun Test Edilmesi

Bulk segregant analizi sonucu ZYMV hastalığına dayanıklılık sağlayan gene bağlantılı, moleküler işaretleyiciler belirlenmiştir. Daha sonra ZYMV hastalığına dayanıklılık sağlayan gen ile bu gene bağlantılı moleküler işaretleyiciler arasındaki genetik mesafe, F₂ bitkileri kullanılarak belirlenmiştir.

Haritalama populasyonun test edilmesi amacıyla, tespit edilen ve bulk guruplarda istenilen açılımı sağlayan AFLP marker kombinasyonlarından *E-ACA/M-CA* & *E-ACA/M-CC*, *E-AAC/M-CA* & *E-AAC/M-CC* primer kombinasyonları bütün F₂ populasyonunda denenmiştir. Yapılan bu çalışmada toplam 200 adet F₂ bitkisinden 12 tanesi skorlamaya uygun olmadığı gözlemlenmiş olup geri kalan 188 bitki ancak skorlanabilmiştir. Skorlanan bu 188 F₂ bitkisinden 175 tanesi istenilen açılımı sağlamış olup sadece 13 tanesinde fenotipik karakterizasyon ile genotipik karakterizasyon örtüşmemiştir. Toplamda % 93,08 oranında örtüşme gözlemlenmiştir. Detaylı bilgiler Ek 7' de verilmiştir.

Elde edilen bu veriler ışığında bulmuş olduğumuz AFLP moleküler işaretleyicisi, hıyar bitkisinde Kabak Sarı Mozayik Virüsü'ne karşı dayanıklılığı sağlayan gen bölgesine 6,91 cM uzaklıkta olduğu tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

ZYMV'ye karşı dayanıklılığı kontrol eden genler hakkında yapılan literatür taramaları sonucu dayanıklılık mekanizması kalitatif karakterde olduğu belirlenmiş ve tek bir çekinik gen tarafından kontrol edilmektedir (Park ve ark., 2004, Amanao ve ark., 2013). Yapmış olduğumuz bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar ZYMV'ye karşı dayanıklılığın çekinik tek gen ile kontrol edildiği belirlenmiştir. Bu hastalığa karşı dayanıklılık sağlayan gene bağlantılı moleküler markırlar geliştirilmiştir (Park ve ark., 2004) yapılan ön çalışmalarda bu moleküler markırın geliştirilmesi için yapılan melez popülasyonlarında kullanılan genitör ile Türkiye'de ıslahı yapılan genitörlerin aynı olmadığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle, Park ve ark. (2004) tarafından geliştirilen moleküler işaretleyicinin kullanılması mümkün olmamaktadır.

Park ve ark. (2000) yapmış oldukları ilk çalışmada ZYMV'ye karşı hassas ST8 ve dayanıklı TMG1 isimli ebeveynleri kullanmışlardır. Bu ebeveynlerden elde edilen F₁ hibritlerden rastgele seçilen bireyler kendilenerek F₂ bireylerini, bu F₂ bireylerinden rastgele seçilen bireyler 4 jenerasyon kendilenerek F₆ bireyleri elde edilmiştir. Elde edilen bu F₆ bireylerden DNA izolasyonları yapılarak fenotiplemeleri yapılmıştır. Yapılan fenotipleme sonucunda belirlenen bulk grupların DNA'larından genotipleme çalışmalarının yapılabilmesi için RFLP, RAPD ve AFLP analizlerine tabi tutulmuştur. Yapılan RFLP analizlerinde ebeveynler arasında 20 adet polimorfik band elde edilmiş ve bunlardan 17 tanesi popülasyonda gözlemlenmiştir. Serquan ve ark. (1997) tarafından haritalanmış 37 adet RAPD primeri denenmiş olup bunlardan ebeveynler arası polimorfizm gösteren 55 adet band elde edilmiştir. Primer başına 1,5 oranında polimorfik band elde edilmiş olup bu bandlardan hiçbirisi eş-baskın özellikte değildir. AFLP analizinde 37 AFLP kombinasyonu kullanılmış olup yaklaşık 3000 band elde edilmiştir. Bunlardan 339 tanesi polimorfik özellikte olup, toplam bandların %11 ine denk gelmektedir. Elde edilen bu verilere göre *E14/M60-F-73* ve *E16/M49-F-52* AFLP moleküler markır kombinasyonları 3:1 ile 4:1 arasında bir segregasyon göstermiştir. Çalışılan AFLP primer kombinasyonlarından *E15/M47-F-197* ZYMV ye karşı dayanıklılığı kontrol eden gen bölgesi ile birlikte açılım göstermiştir.

Park ve ark. (2004) yapmış oldukları çalışmada, PI414723 kodlu gen kaynağı ile Dulce melezinden oluşturulan 112 adet F₂ ile PI414723 kodlu gen kaynağı ile Vedrantais

melezinden elde edilen 64 F₆ populasyonları kullanılmıştır. Elde edilen fenotipleme sonucunda elde edilen veriler ışığında genotipleme çalışmaları yapılmış ve AFLP (E15/M47-F-197) markır kombinasyonu zym lokusu için uygun ko-segregasyon göstermiştir. Elde edilen bu veriler ışığında yapılan istatistiksel analizler sonucunda bu markır ilgili gen bölgesine 5.2 cM ile bağlantılı bulunmuştur. Elde edilen bu AFLP markır SCAR markırına çevrilerek dual PCR'a uygun hale getirilmiştir. Park ve ark. (2004) tarafından geliştirilen SCAR primerleri, kendileininde yayınlarında belirttiği üzere her dayanıklı çeşitte doğru sonuç verememektedir.

Park ve ark. (2000, 2004) tarafından yapılan bu çalışmalarda kullanılan ebeveynler ile kendi yaptığımız çalışmamızda kullanılan ebeveynler gen kaynağı bakımından farklılık göstermektedir. Dolayısıyla geliştirdiğimiz bu markır, Park ve ark. (2004) tarafından geliştirilen markırın tespit edemediği dayanıklı genetik kaynakları tespit etmesi umulmaktadır.

Amano ve ark. (2013) yapmış oldukları çalışmada, A-192-18 ile CS-PMR1 ebeveynlerinde elde edilen F₁, F₂ ve gerimelez populasyonları kullanılmıştır. Yapılan yüksek çözünürlüklü haritalama çalışması sonucunda zym¹⁹²⁻¹⁸ lokusunda yeni CAPS markırları ve bu lokus ile ilişkili olduğu düşünülen aday genin bulunduğunu rapor etmiştir.

Modern ıslah teknikleri her ne kadar biyotik stres koşullarına karşı dayanıklı ve yüksek verime sahip bitkiler geliştirmeye olanak sağlasa da, bu çalışmalar sonucunda ıslahı yapılan bitkilerde genetik varyasyonların daraldığı gözlemlenmektedir (Tanksley ve McCouch 1997). Özellikle ıslah kaynağı olarak kullanılan populasyonlar içinde melezlemeler, populasyonlar arası melezlemelere oranla çok daha fazla yapıldığından dolayı genellikle her populasyonun kendine has allel ve haplotipleri oluşmakta ve bu populasyon içerisinde genetik çeşitlilik, dolayısıyla bu bireylerin oluşturacağı heterozis oranı oldukça düşük olmaktadır (Jing ve ark 2012). Bu kavram, herhangi bir populasyon içerisindeki genlerin allelik varyasyon oranlarını düşürmeye ve dramatik olarak heterojeniteyi kaybetmeye neden olur. Yaptığımız bu çalışmada kullandığımız SSR, SRAP, InDEL ve AFLP moleküler markırlarının ebeveynler ve F₁ arasında verdiği polimorfizm oranları sırası ile % 8,87, %8,95, %12,5 ve %6,75'tir. Jing ve ark. (2012) dünyanın farklı bölgelerinden toplanan 3342 hıyar çeşidinde yapmış oldukları genetik

Çeşitlilik alışması sonucunda toplamda 72,960 veri noktası elde ettiklerini, elde edilen bu veri noktalarının 61,976 tanesinin monomorfik karakterde olduğunu, geri kalan 10984 veri noktasından sadece 2,055 tanesinin polimorfik karakterde olduğu gözlemlenmiştir. Bu oran toplam veri noktaları içerisinde % 2,8'e denk gelmektedir. Bu sonuçlar, tez çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçları doğrulamaktadır.

Bu alışma ile bulunan AFLP primer kombinasyonlarının dominant yapıya sahip olması, teknik açıdan diğer yöntemlere göre daha zor ve uzun zaman almasıgibi zorluklarından dolayı, MAS çalışmalarında etkin bir şekilde kullanılabilmesi için SCAR markırlarına çevrilerek eş baskın özellikte markırlar geliştirilmesi gerekmektedir. Ayrıca morfolojik verilerine sahip olduğumuz F₂ populasyonu NGS (Next Generation Sequencing; İleri Jenerasyon Sekanslama) yöntemleri yardımıyla, SNP verileri elde edilerek ZYMV ile ilişkili SNP markırları da geliştirilebilir.

KAYNAKLAR

- Abak, K., Sevgican, A., Çolakoğlu, H., Eryüce, N., Gül, A., Baytorun, N., Çelikel, G., Paksoy, M., 1994.** Sera Tarımında Topraksız Yetiştirme Üzerinde Araştırmalar. TOAG-884
- Abul-Hayja, Z., Al-Shahwan, I. 1991.** Inheritance of resistance to zucchini yellow mosaic virus in cucumber. *J. Plant Dis. Prot*, 98: 301–304.
- Aggarwal, R.K., Hendre, P.S. H, Varshney, R.K., Bhat, P.R., Krishnakumar, V., Singh, L. 2006.** Identification, characterization and utilization of EST-derived genic microsatellite markers for genome analyses of coffee and related species. *Theor Appl Genet*, 114: 359–372.
- Anonim. 2012.** USDA's Supplemental Nutrition Assistance Program. <http://www.fns.usda.gov/snap/>.
- Amano, M., Mochizuki, A., Kawagoe, Y., Iwahori, K., Niwa, K., Svoboda, J., Maeda, T., Imura, Y. 2013.** High-resolution mapping of zym, a recessive gene for Zucchini yellow mosaic virus resistance in cucumber. *Theor Appl Genet*. 126(12):2983-93.
- Arumuganathan, K., Earle, E. 1991.** Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol Biol Rep*, 9:208–218
- Blears, M.J., De Grandis, S.A., Lee, H., Trevors, J.T. 1998.** Amplified fragment length polymorphism (AFLP): a review of the procedure and its applications. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 21: 99-114.
- Blua, M.J. ve Perring, T.M. 1992.** Alatae production and population increase of aphid vectors on virus-infected host plants. *Oecologia*, October II 1992, Volume 92, Issue 1, pp 65-70
- Chiba, N., Suwabe, K., Nunome, T., Hirai, M. 2003.** Development of microsatellite markers in Melon (*Cucumis melo* L.) and their application to major Cucurbit crops. *Breeding Science*, 53: 21-27.

- Cho, Y.G., McCouch, S.R., Kuiper, M., Kang, M.R., Pot, J., Groenen, J.T.M., Eun, M.Y. 1998.** Integrated map of AFLP, SSLP and RFLP markers using a recombinant inbred population of rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 97: 370–380.
- Clarck, M.F., Adams, A.N. 1977.** Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.*, 34: 475-483.
- Clought, G. H., ve Hamm, P.B. 1995.** Coat Protein Transgenic Resistance to Watermelon Mosaic and Zucchini Yellow Mosaic Virus in Squash and Cantaloupe. *Plant Dis.* 79:1107-1109.
- Danin-Poleg, Y., Paris, H.S., Cohen, S., Rabinowitch, H.D., Karchi, Z. 1997.** Oligogenic inheritance of resistance to zucchini yellow mosaic virus in melons. *Euphytica*, 93:331–337
- Danin-Poleg, Y., Reis, N., Baudraco-Arnas, S., Pitrat, M., Staub, J.E., Oliver, M., Arus, P., DeVicente, C.M., Katzir, N. 2000.** Simple sequence repeats in *Cucumis* mapping and map merging. *Genome*, 43:963–974
- Danin-Poleg, Y., Reis, N., Tzuri, G., Katzir, N. 2001.** Development and characterization of microsatellite markers in *Cucumis*. *Theor Appl Genet.*, 102:61–72
- Davis, R.F.1986.** Partial characterization of Zucchini yellow mosaic virus isolated from squash in Turkey. *Plant Disease* 70, 735-738.
- Decker-Walters, D.S., Staub, J.E., López-Sesé, A.I., Nakata, E. 1997.** Diversity in landraces and cultivars of bottle gourd (*Lagenaria siceraria*; Cucurbitaceae) as assessed by random amplified polymorphic DNA. *Genetic Resource and Crop Evolution*, 48: 369-380.
- Desbiez, C., Lecoq, H. 1997.** Zucchini yellow mosaic virus. *Plant Pathol*, 46:809–829
- Dijkhuizen, A., Kennard, W.C., Havey, M.J., Staub, J.E. 1996.** RFLP Variation and Genetic Relationships in Cultivar Cucumber. *Euphytica*, 90: 79–87.

- Ferriol, M., Picó, B., Nuez, F. 2003.** Genetic diversity of a germplasm collection of Cucurbita pepo using SRAP and AFLP markers. *Theor Appl Genet.*, 107:271–282.
- Garcia-Mas, J., Oliver, M., Gómez-Paniagua, H., De Vicente, M.C. 2000.** Comparing AFLP, RAPD and RFLP markers for measuring genetic diversity in melon. *Theor Appl Genet.*, 101:860-864.
- Garcia-Mas, J., Monforte, A.J., Arús, P. 2004.** Phylogenetic relationships among Cucumis species based on the ribosomal internal transcribed spacer sequence and microsatellite markers. *Plant Syst. Evol.*, 248: 191-203.
- Gilbert-Albertini, F., Lecoq, H., Pitrat, M., Nicolet, J.L. 1993.** Resistance of Cucurbita moschata to watermelon mosaic virüs type 2 and its genetic relation to resistance to zucchini yellow mosaic virus. *Euphytica*, 69: 231–237.
- Gilbert-Albertini, F., Pitrat, M., Lecoq, H. 1995.** Inheritance of resistance to zucchini yellow fleck virus in Cucumis sativus L. *HortScience*, 30: 336–337.
- Gostimsky, S.A., Kokaeva, Z.G., Konovalov, F.A. 2005.** Studying Plant Genome Variation Using Molecular Markers. *Russian Journal of Genetics*, 41-4: 378-388.
- Grada A. ve Weinbrecht K. 2013.** Next-Generation Sequencing: Methodology and Application, *Journal of Investigative Dermatology*, 133,.248
- Han, Y.H., Zhang, Z.H., Liu, J.H., Lu, J.Y., Huang, S.W., Jin WW. 2008.** Distribution of the tandem repeat sequences and karyotyping in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by fluorescence in situ hybridization. *Cytogenetic and Genome Research*, 2008, 122(1): 80-88.
- Huang, S., Li, R., Zhang, Z., Li, L., Gu, X., Fan, W., Lucas, W.J., Wang, X., Xie, B., Ni, P. 2009.** The genome of the cucumber, *Cucumis sativus* L. *Nature Genetics* 41:1275-1281

Jing, L., Jianjian, Q., Qiuxiang, S., Di, S., Shengping, Z., Guangjin, S., Hang, L., Zhanyong, S., Yiqun, W., Yi, S., Xingfang, G., Xixiang, L., Xiaoguo, Z., Jinzhe, Z., van Treuren, R., van Dooijeweert, W., Zhonghua, Z., Sanwen, H. 2012. Genetic Diversity and Population Structure of Cucumber (*Cucumis sativus* L.), PLoS ONE, 7: 10

Kabelka, E., Grumet, R. 1997. Inheritance of resistance to the Moroccan watermelon mosaic virus in cucumber line TMG1 and cosegregation with zucchini yellow mosaic virus resistance. Euphytica, 95: 237–242.

Kabelka, E., Ullah, Z., Grumet, R. 1997. Multiple alleles for zucchini yellow mosaic virus resistance at the zym locus in cucumber. Theor. Appl. Genet., 95: 997–1004.

Karagöz, A., 2003. Plant genetic resources conservation in Turkey. Acta Horticulturae 598: 17-25.

Katzir, N., Danin-Poleg, Y., Tzuri, G., Karchi, Z., Lavi, U., Cregan, P.B. 1996. Length polymorphism and homologies of microsatellites in several Cucurbitaceae species. Theor Appl Genet., 93:1282–1290

Kennard, W.C., Poetter, K., Dijkhuizen, A., Meglic, V., Staub, J.E., Havey, M.J. 1994. Linkages among RFLP, RAPD, isozyme, diseaseresistance, and morphological markers in narrow and wide crosses of cucumber. Theor Appl Genet., 89:42–48

Kirkbride, J.H. 1993. Biosystematic monograph of the genus *Cucumis* (Cucurbitaceae). Parkway Publishers, Boone, North Carolina.

Knerr, L., Staub, J., Holder, D., May, B. 1989. Genetic diversity in *Cucumis sativus* L. assessed by variation at 18 allozyme loci. Theor. Appl. Genet., 78: 119–128.

Knerr, L.D., Staub, J.E. 1992. Inheritance and linkage relationships of isozyme loci in cucumber (*Cucumis sativus* L.). Theor. Appl. Genet., 84: 217–224.

Korzun, V. 2003. Molecular markers and their applications in cereals breeding, in: Proceeding of merker assisted selection 17-18 October 2003, Turin/Italy.

- Lecoq, H., Pitrat, M. 1984.** Strains of zucchini yellow mosaic virus in muskmelon (*Cucumis melo* L.). *Phytopathol.*, 111:165–173
- Lecoq, H., Lemaire J.M., and Wipf-Scheibel, C. 1991.** Control of zucchini yellow mosaic virus in squash by cross protection. *Plant Disease* 75:208–211.
- Lecoq, H., Desbiez, C., Wipf-Scheibel, C., Girard, M., Pitrat, M. 2002.** Durability of zucchini yellow mosaic virus resistances in cucurbits. In: Maynard DN (ed) *Cucurbitaceae 2002*. ASHS Press, 294–300
- Li, G., Quiros, C.F. 2001.** Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. *Theor Appl Genet.*, 103:455–461.
- Li, Z., Zhang, Z., Yan, P., Huang, S., Fei, Z., Lin, K. 2011.** RNA-Seq improves annotation of protein-coding genes in the cucumber genome. *BMC Genomics* 12:540
- Lisa, V., Boccardo, G., D'Agostino, G., Dellavalle, G., d'Aquilio, M. 1981.** Characterization of a potyvirus that causes zucchini yellow mosaic. *Phytopathology*, 71:667-672.
- Lisa, V., Lecoq, H. 1984.** Zucchini yellow mosaic virus. *Descriptions of Plant Viruses*, no. 282. Commonwealth Mycological Institute and Association of Applied Biologists, New England.
- Lopez-Sesé, A.I., Staub, J., Katzir, N., Gómez-Guillamón, M.L. 2002.** Estimation of between and within accession variation in selected Spanish melon germplasm using RAPD and SSR markers to assess strategies for large collection evaluation. *Euphytica*, 127: 41-51.
- Lovisolo O. 1980.** Virus and viroid diseases of cucurbits. *Acta Horticulturae*, 88: 33-71.
- Luis, L.A., Alvarez, J.M., Alonso, P.J.L., Bernal, J.J., Garcia, A.F., Lavina, A., Batlle, A.M.E. 1998.** Occurrence, distribution, and relative incidence of mosaic viruses infecting field-grown melon in Spain. *Plant Dis.*, 82:979–982

- Mliki, A., Staub, J.E., Zhangyong, S., Ghorbel, A. 2003.** Genetic diversity in African Cucumber (*Cucumis sativus* L.) provides potential for germplasm enhancement. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50: 461-468.82
- Nagaraj, S.H., Gasser, R.B., Ranganathan, S. 2006.** A hitchhiker's guide to expressed sequence tag (EST) analysis. *Briefings in Bioinformatics*, 8:6-21.
- Park, Y.H., Sensoy, S., Wye, C., Antonise, R., Peleman, J., Havey, M.J. 2000.** A genetic map of cucumber composed of RAPDs, RFLPs, AFLP markers and loci conditioning resistance to papaya ringspot and zucchini yellow mosaic viruses. *Genome*, 43:1003–1010
- Park, Y., Katzir, N., Brotman, Y., King, J., Bertrand, F., Havey, M. 2004.** Comparative mapping of ZYMV resistance in cucumber (*Cucumis sativus* L.) and melon (*Cucumis melo* L.). *Theor Appl Genet* 109:707-712
- Perl-Treves, R., Zamir, D., Navot, N., Galun, E. 1985.** Phylogeny of *Cucumis* based on isozyme variability and its comparison with plastome phylogeny. *Theor Appl Genet.*, 71:430–436
- Pitrat, M., Lecoq, H. 1984.** Inheritance of zucchini yellow mosaic virus resistance in *Cucumis melo* L. *Euphytica*, 33:57–61
- Providenti, R., Gonsalves, D., Humaydan, H. 1984.** Occurrence of zucchini yellow mosaic virus in cucurbits from Connecticut, New York, Florida, and California. *Plant Dis.*, 68: 443–446.
- Providenti, R. 1987.** Inheritance of resistance to a strain of zucchini yellow mosaic virus in cucumber. *HortScience*, 22: 102–103.
- Purcifull, D.E., Adlerz, W.C., Simone, G.W., Hiebert, E., Christie, S. R. 1984.** Serological relationships and partial characterization of zucchini yellow mosaic virus isolated from squash in Florida. *Plant Dis.*, 68:230-233.
- Ren, Y., Zhang, Z., Liu, J., Staub, J.E., Han, Y. 2009.** An Integrated Genetic and Cytogenetic Map of the Cucumber Genome. *PLoS ONE* 4: e5795.

Robinson, R.W., Decker-Walters, D.S. 1997. Cucurbits. CAB International, New York, p 226

Seçmen, Ö., Gemici, Y., Leblebici, E., Görk, G., Bekat, L. 1986. Tohumlu Bitkiler Sistematigi E.Ü.FEN Fak. Kitaplar Ser. no:116, İzmir, 446 S.

Serquen, F.C., Bacher, J., Staub, J.E. 1997. Mapping and QTL analysis of horticultural traits in a narrow cross in cucumber (*Cucumis sativus* L.) using random-amplified polymorphic DNA markers. Mol. Breed., 3: 257–268.

Sevgican, A. 1999. Örtüaltı Sebzeciliği. Cilt I. E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları No:528. ISBN 975-483-384-2, İzmir.

Schmidt, R. 2002. Plant genome evolution: lessons from comparative genomics at the DNA level. Plant Mol Biol., 48:21–37

Simmons, H.E., Holmes, E.C., Stephenson, A.G. 2008. Rapid evolutionary dynamics of zucchini yellow mosaic virus. Journal of General Virology 89:1081–1085.

Staub, J.E., Serquen, F. C., Horejsi, T., Chen, Jin-feng. 1999. Genetic diversity in cucumber (*Cucumis sativus* L.): IV. An evaluation of Chinese germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46: 297–310.

Staub, J.E., Robbins, M.D., Chung, S.M., Sun Z. 2006. History and Application of Molecular Markers for Cucumber improvement. *Cucurbitaceae 2006*.

Summers, C.G., Stapleton, J.J., Newton, A.S., Duncan, R. A., ve Hart, D. 1995. Comparison of Sprayable and Film Mulches in Delaying the Onset of Aphid-Transmitted Virus Diseases in Zucchini Squash. Plant Dis. 79:1126-1131.

Tanaka, K., Nishitani, A., Akashi, Y., Sakata, Y., Nishida, H., Yoshino, H. Kato, K. 2006. Molecular characterization of South and East Asian Melon, *Cucumis melo* L., and the origin of group Conomon var. makuwa and var. conomon revealed by RAPD analysis. Euphytica, 153: 233-247.

Tanksley, S.D., ve S. R. McCouch. 1997. Seed Banks and Molecular Maps: Unlocking Genetic Potential from the Wild. Science 277.

- Tüzel, İ.H., Tüzel, Y., Gül, A., Meriç, M.K., Yavuz, Ö., Eltez, R.Z., 2001.** Comparison of open and closed systems on yield, water and nutrient consumption and their environmental impact. *Acta Horty.* 554: 221-228.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M. 1995.** AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.*, 23: 4407–4414.
- Vural, H., Eşiyok, Dursun., Duman, İbrahim. 2000.** Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme), Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, ISBN:975-90790-0-2
- Wang, Y.H., Joobeur, T., Dean R. A., Staub, J.E. 2007.** Cucurbits.
- Watcharawongpaiboon, N. and Chunwongse, J. 2007.** Development and Characterization of Microsatellite Markers from an Enriched Genomic Library of Cucumber (*Cucumis sativus*). *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants* 1439-0523.2007.01425
- Witkiewicz J., Urbańczyk-Wochniak E., Przybecki Z. 2003.** AFLP marker polymorphism in cucumber (*Cucumis sativus* L.) near isogenic lines differing in sex expression. *Cell Mol Biol Lett.*, 8(2):375-81.
- Yang, F., Lin, L., Mingyuan, L., Huazhong, R. 2009.** Genetic Diversity and Phylogenetic Relationship of Chinese Warty Cucumber Germplasm Based on AFLPs. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 642 (2)
- Yardımcı, N. ve Korkmaz, S. 2004.** Studies on Spread and Identification of Zucchini Yellow Mosaic Virus Disease in the North-West Mediterraneanen Region of Turkey by Biological Indexing and Double-Stranded RNA Analysis. *Plant Pathology Journal* 3(1): 1-4
- Yeboah, M. A., Xuehao, C., Feng, C., Liang, G., & Gu, M. 2007.** A genetic linkage map of cucumber (*Cucumis sativus* L.) combining SRAP and ISSR markers. *African Journal of Biotechnology* , 6, 2784-2791.

Yılmaz, M.A. ve Davis R.F.1984. Purification and particle morphology of TMV, CMV and ZYMV isolated from various cultivated crops grown along the Mediterranean Coast of Turkey. J. Turkish Phytopathology, 13, 20-28.

Yuan, C., and Ullman D.E. 1996. Comparison of efficiency and propensity as measures of vector importance in Zucchini yellow mosaic potyvirus transmission by *Aphis gossypii* and *A. craccivora*. Phytopathology 86:698–703.

Zeid, M., Schön, C., Link, W. 2003. Genetic diversity in recent elite faba bean lines using AFLP markers. Theor Appl Genet., 107:1304–1314.

Zeidler, M. 2000. Electrophoretic Analysis of Plant Isozymes. Acta Universitatis Plackianae Olomucensis Facultas Rerum Naturalim. Biologica 38

Ek-1. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
1	CSN084	TCCTTTGTCACCTACTGTGCTTCC	TGTTGCAGAGGGAAGCATCTTTTT
2	CSN051	ATCAACGATTGATCCATCACCATC	AAGACTTGACCACATGCATGGAA
3	CMBR41	GTACCGCCTAGGGTTTCTCC	CGAGGAAGAGAGAGAAGGGG
4	SSR3411	GTTGGAGTCGTGGAGAGAGC	ATTTGAAGGGAGACGTGTGG
5	SSR4278	GAGGGAAGAAAATTGAAAGCAA	CCGATAGTGTGAGCCCACTT
6	CU421	AAATCCACCTCTTCGTTGGA	GGGTGATACAAGGAGCGAAG
7	CS27	GCTGAGTTATGGGGAAGCA	ATGTTGTTGGACCCCTTCAA
8	SSR1737	GATGATGATGGTCATCGTGG	TCAAAGGATGGAAGAGGTGG
9	SSR1115	ATTCCAATCCCAAAAAGGT	CTCCTCCTCCAATGAGCAAG
10	SSR1091	CTCATCTCCGAATCCCAAC	TGGTAACAAGGTGGATCGAA
11	CMN21_55	TCATTGATCTTTTGCTTTTGC	TGGTAGCAAACATCTGCCTG
12	SSR262	CCGTTGGTCTTGGACTCTCA	TGTAAGAGTGATCAGGAGGGTCT
13	SSR190	TTCTGAAACGACACCTCCAG	TCCCCTTCTAATTTACCTTCCA
14	CSJCT662	ACGTCGTAAAACCATCGGAGTC	GCTTCCAAGCGTCAAAGGTATC
15	SSR231	GAGGTTGGGAAATTGGGAAT	TATTCAAACACAAAGCCCGC
16	SSR10134	CCAAAACCAAAAGCAAAATCC	AAATTTGCCAGGAACACCAG
17	CU84b	GGATTCGACTGTCTCAACCG	CATCATGCCATTTTCATCGAC
18	SSR5793	CCCTCTGCTGCACATTATCC	TGCACCAAGCAATAACTTGTC
19	SSR5723	TGGCTTTTCTGTACAGTCC	TCCATGGTACAACAAGAATCACA
20	CU742	TGCTTTTCAGTACCTCCCTCA	GGAAGAGCTGCCACTGTCTAC
21	SSR5124	TCTTTACCAATTTTATGGTGATGTT	AATCAAGGGTGCAAATGTCA
22	GCM206	TGGGCTACCTCTATCCTTTCTT	AATCCCCAAAATCTCAACCA
23	SSR3222	TCCACAGTCTTGCAATTTGCT	ATCCCTCGATTACATCAA
24	SSR479	GGACGCCACGATTCTACAAG	GGATGTTGAGTTGCAGACC
25	SSR2733	TTGTTAGGTAAGCCATGCCC	TTTGCTGAGGAAGAATCTGA
26	CU1680	CCCACCGTTATCCTCATTTT	AGAAGGCAAAGGCAAATTCA
27	SSR2734	TGTTGTTGGACCCCTTCAAT	TGTCAAAGGAGGAGGTGGAG
28	SSR160	TGAATGAAAAACGTGATGTTGA	TTGGAAGAGCCTCTCATTCG
29	CMN21_88	CAGTCCTCCCTTCTTCTCC	TCAGTCGCAACAGCAAGAAC
30	CSN135	ATTGATCTCTATATTTTACTCC	CACAATGTTTGACATATAGAC
31	CMBR103	TGGTTGAGGAAGACTACCATCC	TCCACTAAAGTTTCCTTATGTTAT
32	CMBR83	CGGACAAATCCCTCTCTGAA	GAACAAGCAGCCAAAGACG
33	CMBR95	TTGACCTTTTACGGTGGTCC	CGGACAAATCCCTCTCTGAA
34	CSWCT04	ACTATTGGGTCTCTCCTA	GACCCGAGGTTATTATT
35	CMTC160A	GTCTCTCTCCCTTATCTTCCA	GATGGTGCCTTAGTTGTTCCG

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
36	CSN310	AAAATTGCCCAGTATGTGTTT	TGCATCTATACTTTGTCAAGTC
37	CSN242	TCCTTTTATACCACTAGGTCAACCCAT	ATAGCCTGACCATCTAATCGCCAA
38	GCM295	CCTATGTGCTTCCTTCAATCA	CGCATAATTCAATGAAAATGAGT
39	CSWCTT02	CATCCTCATTCAATGGCGGAGTGTG	GAATTIGTTAAAAATGTACATTAA
40	CSN052	ATGGGTTTCCAAATGTTTGTCTCG	CATCTCCATGCATTCCACTCTCAT
41	SSR30	TGAAATTGCTTACCCTTTGACC	CCATGTTTTGTAGGGATCGAG
42	SSR1286	CCGAAAACCATTGTTCAGC	TTTAGCTTAGTTTCCAAGCACTGA
43	SSR1253	CGCTGGATTGTGTTGTGAAAT	AATGTCGGGGAGTGTACAT
44	CU1594	CTACACCGGCGGACATTACT	GAGCGAAGAATGAGAGGTGG
45	SSR1374	GGGAGATTCTCAAAATGGATGA	TTGCGTGTAAGGAACGTCAC
46	CU1817	GAAACTCCAAGGAACCCCTC	TGCATTGTCTGGTGATCCAT
47	SSR4035	TCCGCTTCGAGTACGCAT	ACAAGAATGCTGGAGATGGC
48	SSR218	CGATCTTCGAGTTTCGCAAT	ATCCAACGGCTCTCATTAC
49	CU1458	GCTCTGTTCTTAGGGAGGG	GGGGTTTTGGTTTTTGGTTT
50	SSR3610	GGGGAAATACGTGAAAGAGG	GGTCAAATGTCAAAGAGCGG
51	ECM92	TCAGACTCCATTTCAGAGCCTA	CAAGGAGCTCTCCCCATTATT
52	SSR2634	GGGTTGTGACACGTTTCCT	GGCAAAGGCAACAAGTTTCT
53	SSR11596	TCACATAGGCTTGCTCCAAA	TCAAACACCGCGAAAGAGAT
54	CU2297A	TTCATATTCTAGTGTCAGCCAAACA	TGAGTGGTGAGGGATTACACA
55	CU2239b	TTTCTTCTCGCAGTCACCA	AGGTCAGCCCCAAATTCTCT
56	SSR5748	TGTGGCCTGTGCTAAAATGA	TTTGAAAAGCTAAAGCCCA
57	SSR204	AACCCTATTTGCACGCATTC	GAGAAACAGCTGGAATTGGG
58	SSR3084	GACAAGGGATTTCATCCGAGA	CAGACCCTGAAGCGGATAAAA
59	SSR289	AGGACGAGGCTAATGGGAGT	TTACAAGTCCCCCTCAAACG
60	SSR10874	CTGGTTATAAATTCTGATGGTGATT	ATGCTGCCATGTTACTCGTG
61	ECM115	TTCCACATGTCTCTGCCAAA	TAGCCGGTGGAATGGATTA
62	SSR6722	TCTCGTTTATGTGGATTAGTCGAG	TATGTTACCCCAATGCTCCA
63	CMCTN2	CTGAAAGCAGTTTGTGTCGA	AAAGAAGGAAGAGGCTGAGA
64	SSR10522	TTCTTTTGTGTTTGGTATGGG	ATGTCTGCTTTGCTGGCTTT
65	SSR11468	CCGTTTCACCGCTCATTTTA	TCACAAGTGGCCAAAACAAA
66	CSN257	TGGAGAAAAAGAAGAAGTGGGTGA	CAAGTGGGTCGTGAATTTGTTTA
67	CSN076	ATCTATAATACTACATGCACAC	AATTGCACTTACAATGAGA
68	ECM80	CGTCCCCCTTGTTACTACCTCA	AAATCCTCCCTACATATATTATGC
69	SSR2736	AATCCACTCCACAGGCTCAC	CGTAGAGAAGCGCCTTG GTA
70	SSR3049	AGAGAAGAGTGCAACCAATGC	TGTACGATCTGTGGCTAGAGAA
71	SSR3056	TTGCCTGTACATGATCAAAA	TGCCTTCCATGTAAGGACAC
72	ECM53	CTACCAGTTGTTGCGGCTCT	TCCCAATTCCATAGCAGAGG

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
73	SSR2132	CAATTGGTATGAGTGAAAGATAAGC	CTCTGGTCCACCCAATCCT
74	SSR33797	GACCCATGGGGTTATCAGAA	TCTTGATGGCCGATCTATCC
75	SSR5012	GCCCTAGGCTTCGTCTTCTT	TTCTACAACCTGGCCAAACCC
76	CMN21_33	ATTCTTCAACAAGCCATCCG	GGAAATTAGCACCAAGCGAA
77	SSR5572	GCAAACCATAAGTTTCCCA	GATCGATATTGCAACGAATTACA
78	CU832	CGTGTTTTCTCAGATTCCCA	CACTTCCCTTATCAACCCCA
79	SSR5891	GTTTGGGTATAGGGAGACCG	TGAGATGTCGAGAACTCCATACA
80	SSR6210	TTGGAAAAGTCGCCAAACTT	TCCATGTCTGCTTTTGATTCC
81	SSR10282	GGCACTCATTTCCGGTTGACT	CACGGACACAAATCACAATG
82	SSR1056	AAAGGGAAAGGTAAATTGCCA	AGCAGTTCGGATGATATTGGA
83	CSN209	CCTGAACACAAATCTAAAAGAGCAGGA	AGCATAAGCCTACGACCTACGGG
84	SSR7505	GACAGGACCGTTAACCCAAA	CTCCCTCTTTCCTCACTCC
85	ECM134	TCTTTCCTCTGCAAACTCTTCT	TGCTAAAAGCTACATGTCTGCT
86	TJ10	ACGAGGAAAACGCAAAATCA	TGAACGTGGACGACATTTTT
87	SSR2008	TTGTCCTGGAAATTGGTGAA	GGTGGGAAGTTTGTAATGAGAA
88	CMBR153	TCAAAGACAAGAAGACCAACCA	TGTGCTAAGAGAGAGAGAGAAGA
89	CMBR43	AGAGATGCTCCCTACACTGC	TCAAGCAAACCCTAATCGGT
90	CMBR57	GCTCTGAAGAGTGGAATGAGAGA	CCATTTGGGAAGTAGGCATC
91	CMN61_14	TGCAGGATCAAGAATCAAGTTC	ACGAACTCCGGCATAATCAC
92	CSN002	AAAATGGGAAAAGTGGA	GCCTTAACTAAATGACAAA
93	CSN018	TGTCTTCCCTCAAACCTACACCCC	CCAAATGGGGTTCAACAAAGAAA
94	CSN069	GATGTATGCTTATTTATACCCAA	AGAAAATTAATCAAGACCTCTC
95	CSN147	CCACCCAACCAAAAAGCAGTAAAC	GATGGGAGCAAAATGTTGGTTTTGT
96	CSN153	TGGGTTTGACACTCAAGAGAAAG	AACATGAGAGTTCTCTTGCCACC
97	CSN160	GTAGCAGAAGCCTACCGGAGTAA	CTTGAGCAGAAGGCTTCCACGTT
98	CSN161	GTCTTTCTGCCATTTCTTGGGT	CCCAAATTTAGTGGCTTCAACATC
99	CSN166	CGTTCCTTCCCACTCTTACATTT	TTTGATGATGATGATGATGAGCCG
100	CSN171	TGCACAACAGTGTTTAGCTTGATGA	TGAAGCCGAAGTAGATGAGACCT
101	CSN191	TAGATTTTTCATGAAGGGCGTTGG	CGTCATTGTGACTGGAGGTAGCAT
102	CSN201	TCAACTTACACACACCCACACAAAA	GTGGTTCTCATTCCAGTTTATTTG
103	CSN251	ACCGACAAGCAGAGAGAAGAAAGC	ATTTGGACTCATTTTGAGCACCGT
104	CSN284	AGCACCCCGGTATTTCTCTTTGAT	TAAAGAGGGCGAAAAGTTTCGGAAG
105	CSN306	TTTCTCCCTTTTCTTCTTCTC	CAACCCAAATGCTTAGAGAACCC
106	GCM246	AAAACGGAGATGTGGAGGAC	TTAAGCAAGCAGCCAAAATG
107	CSN025	AAATAGACTTTGACCTTTT	GTCTGTATTTCAAATCTAACTC
108	SSR10368	TGTTCCGGCTCTCAGAGAT	GCCCGTATTTTATAAATAGTTTCA
109	CSJCT323	TCGATCTTGTAAGAAAGCAAGGA	CAAGCAAATCCCATTCACC

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
110	CSN066	GGATCCGAAATAGAGAAAGGAAA	GTTGTTTGGGTGTTAATGTGAAA
111	SSR2697	TGCTAACCCAACCAACAAA	CTGCCATTTCAAGCTATGGG
112	CU1791	AATGATGCACGAACAAACCA	ATTGGCCCGAAGTAGGTCTT
113	SSR5899	TAAGAGCAAAAATCCCACGC	AGCTCAATCAACGTCAAGAGAA
114	SSR1949	AGGAAAACCGGAAGCAGAAT	TCCACAGAACAACCGTGAAA
115	SSR3598	TCAACAACAAGACAACCCCA	TGGTCCCTTTTGATTCTGG
116	SSR7130	CCACACACACACACAGTCACA	TCCCATTGTCCCTACTCTC
117	CSJCT42	GAGAGCCCCACCACAGTCT	GGATCCATGGCGCCTATAAATAC
118	SSR12	TCTCACCATGGTCACCTAATG	GGTCATTGAAGAGTCAAGTTGG
119	SSR7209	CTGTCTGCAGAGCCATCTGA	CCATCAAGTTGAGGAGCAAA
120	SSR2803	ATTGCTCCCAAGCAACTTGA	ATTTCAAACCTCCAAGGCTG
121	CU1830	TCCTTTCCCCCATAATGACA	GGTGTTTATGGTGGTGGTTC
122	SSR4482	GGAATGAATAAGTTCTGGAAGAAG	CTTCCCATCAAAAAGCCTCA
123	SSR6225	TGTATCATTCCAATCCCTCCA	CGAAGTCCAAATTGATAAAGGC
124	SSR203	AATAGCTCGAAAATGATGGCA	CCTCAAAGAGGATCAAGCGA
125	SSR2895	GAGTTGGCAAGTCACGTTGT	TTTCCCTCATTATGCCATCC
126	CSJCT435	TCAACTGGTAGTTGGGAAACCT	CTGTCAATCAATGCTTCAGCTC
127	CSWTA13	AGATGGGCAGTTAGAGTTGATGCT	CATTTAAAGCCTCATCAACACCTC
128	CSWTA04	TAAACATATGTGATTATACAGCAA	GTGTTTTGGTGTTATGTGAATATC
129	GCM344	TCATCAGTCAGTAAGAGAGAGAGAG	ATGTGACCTGATCCCATTGA
130	SSR6447	AAGTATGACGACACCCTTCG	CGCAAAACCGAAAGGTACATA
131	CSJCT315	CCACGAAATACAGATCAGCAAC	CACGTTACATTGGACGAGAGAT
132	CSWCT32	GCATTAAATTGGAAAGGGGAATCA	TGTCCTTTAATTTGGAAATTGAAT
133	CSJCT14	TTCCACGTTACATTGGACGA	AGAATTCATGGCCTGCAGAT
134	CSN140	TGTTTGCTGCCCTAGGGTTTCTTA	TTAGAAGTGCATGATGCTCACAG
135	CU174	ATTGTTGTAATGGGTGGGG	TTCCAAGCAAAGTAAACCC
136	CSN259	TTGTTTGACATCGTGGTGGTTA	CCAAATCTTTCCCAATCCATCTTG
137	CSJCT661	GGGTCATACCCAAAAGGGAGA	TCTTGCTTTAGCCGACAACCTCA
138	SSR772	AGAAGCGTTGGGGGAAAATA	TGCTACCTCACATGGTTTTG
139	SSR11439	CGTAATTCGCATCGTTTTT	CGAGAACATGATCGTCTCCA
140	SSR2166	TCGATTTCAAACACTCCACTTG	TCAAACAAACTACATGCCACAA
141	SSR2693	TTTCAGCCATTGGTTTCCAT	CCAAAGCCAGTACAGCGTTA
142	CSWCT13B	TGTGATCAACCAACTTCA	GAATTATGGGTTCATTTT
143	CSN061	ACTTCAATCTCATATACTGTG	TACCACTGGGATCCTAA
144	SSR2459	TCGGAAGATGGGTATTTGG	TGACCCCTCACATTCTCTCC
145	SSR7081	GGCGACTTGAGGTGTAACAA	GGAAAGATATTCTCAGGGAATCT
146	CMAGN32	CAGATTAGAAGAAAAAGAGG	AGCAGACAGCATATAAAGCT

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
147	CSN114	CTTTCAAAATTCGAGGCAAAACCC	TGATCCAATGATGTAAGAGGGTG
148	CSN197	ACAAGAAAACCCACAAAATGCAAG	CGAAAGCCTGAAAAGGGCAAAAT
149	CSN220	TCATCGATCCAACATAAACACCCC	ATCGAACCACAAAGGGGTAAGTG
150	CSWTA05	GCATGAGCTCGAGCTGGTGTAGTG	CGCCTGTTTCATTTTGATTGGTT
151	TJ24	AAACACGGGCTTGAAGAAAA	CCCAGAAGGTGAGAGAGACCT
152	GCM106	CAATTCAGTGAGAGAGAGAGAG	ACCGAATACACATGATTACA
153	SSR1191	TTCTTTCAAATGCCCATCAA	AAAGATATGGGTGGGAGCAA
154	CU1792a	ATGAGCATTGAGCAGTCACG	GGTGATTTTGTGAGGGGTGG
155	CSN282	GGAAAATGAAATCATGTGCTCCTTC	TCGTCAATTCTAAGTTACCTGGTTT
156	CSWATT02	CCAGTACAAATAACATCCCGAAGC	CAAACCTCTTTTCAGTACCGGAATA
157	SSR2123	TGGAAAATGACAGCAACCAA	CCATTCTTCCTTTCCACGAA
158	CSWCT25	AAAGAAATTAAGTCAATCAAACCG	CCCACCAATAGTAAAATTATACAT
159	SSR4910	CAACACCCATTTCATTGACAAA	TCTGCAAAGCTCAGAAGCAA
160	CMN01_74	GCTTTCCCTTCCCTCGTATC	AATTGCACGCACAAAAGTACA
161	SSR2460	CTCAGAAACCCTTCCACCAA	CTGTACCGCGAGGACAGTTT
162	CS52	GCCTCAACCAAACATCCAAT	ACAACCTTGCCATCTGGTTC
163	SSR5267	TGCAGCCTAATTAAACCCCC	TGTGAAGAAGTCAGACGCAAA
164	CSN095	CAGAAGCCTTGCAACTCTTAGGAA	TGTTTCAGTGTCTCAGGTCCATCC
165	CSWCT29	TGGACGAGTTGCTCTTGTAAGCCT	ATCAAACCTTGGCATGTGGCATGA
166	CSWCT03	TTCTCAGAACTGCCACTG	CACTCTTGAGGGGAAAAA
167	CSJCT77	TCAGAGTGAATGAGCTCATGGAAG	TGACGTCCGCAAGGACACAG
168	CSJCT720	CCAACGGAGGTCTGAACG	CAGCGGAGAAAGGCTCAG
169	SSR842	CGCCCAAATTGAACGAATAA	CCTCCGCCTTTCTTTCTTTT
170	CSJCT674	TAGAAAGGAAGGGATGTGATTAGG	ACAGGTGGTTAGAGGTTAGAGCT
171	CSWCT05B	ATACGAACTCTTTTATTTATAGG	ATTAAGGAGATAAGAAATTGTGTT
172	CSN116	GTGCGTTGGAAGAAAGAAAGGAAA	ATGTGGAGCAAGTGTGTCTCGTC
173	SSR5946	CCTGAGAATCGAAGGTCACA	GCCATCACTAACTGACGCCCT
174	CU2063	GAGAAACCAAAAACAGACCCC	AGACCGGGAGACAGAGGAAT
175	CU886	CAACTCTGTTCCCTAAACTTCTTCTC	CCACTGTTTCTTCTATTCTCTTCT
176	CSJCT266N	CTGTGGTTGGGTTGGAATCTC	GGGAGGCAGTAGACACATCC
177	SSR2086	CCAGAAGGCTAAAGGTGGAG	GTAATGTTCTGGCCAAGCG
178	CU934	CTCCACGAACCTTCCTTCAC	ATTGTTCGGCTTGGTTCAAT
179	SSR973	TTGGGGCTGTTCTAATTTTCG	TCGTTGTTGAAGCCAAAGAA
180	CSN263	ATTACAACCACAAGTGCGGAGACA	AGCTGATTTCACCACAGCTTCAAA
181	SSR6240	TTGAACATGAAAAGTATTGGCG	TTGCAACTAAGGTGTGCTATTCTC
182	SSR158	GTGATCAGGAATGGTTGGG	ATCTTCTTCTCCACCACCGC
183	SSR300	TGCCGACAAAGAGTTTTTCA	TGCTAATTCATTCATACTTTGTCA

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
184	SSR19	ATTCTCGTGAACCATCACCC	ACTTTTGCCACTTGGCACTT
185	SSR1643	TGCAGGTCGACAATTCAATAA	TCAAAAGGCACATGTGATGTC
186	CSN227	GCTAAACTCCCACGCATCAAACCTT	CCAGAGAGTGAGAGCAAATGGA
187	CSWGCA01	AGTGATGGTGCAGGGCTATCTTAT	TTGTCTCCCTCCTCTTCTCGTCT
188	SSR233	AACCATAAAGTCGGGAGGGT	GGGAAAGGCAGGAGAAAAAC
189	SSR1582	AATGCGAATTATGCGATATGA	AATGCCGGTCTCTACAATGC
190	CSN126	GCAGAAGCCTTATTCTCCCAGAG	AATTGGTGATTTGTGAGGGGTGG
191	CSN208	TGCATCTGGTCTCCTTCTTGT	AATGAGGCTTTTGGGAAGAGGAG
192	SSR7198	AACAACAGTTGCATTTTAGATTTT	GGTGAGAATTTGTTGGTCTATCG
193	CSWCT16B	CTTATGGTCGGAGAAG	CTCAGATAACCCAAAATA
194	CU2345	TCATTTGGGTGAGCATTTGA	GCCAAAGTCGACATGCTTCT
195	CMBR145	TGTGACAATGTGCAACCAG	AAAAATGGTGTTAAACGACATGG
196	SSR259	TCCACGTAGACATTGTGAGGTC	CGAGTGTAGCTCAATTAATATGGT
197	SSR2385	CGCTCTCTCTCCACTTTTGG	AAAAGTGACCGTTGGAGTGC
198	CSN293	TCATGTTCAAATCTCATTCCCCCT	ATAAAGAACACACATGGTGGTGG
199	SSR3940	GATTCTCCGGAACGGATTT	GTCGTTTTCCGCGATTCTAC
200	SSR3962	CTTTTGGGGACCTTCATT	CACGAATGCTGCTCTAACCA
201	CSN287	AGGGAGATAGTATGACAAGATTTCTC	AGTGGGGTTGAGCAAGTTGAAGA
202	SSR1148	CGGAGAAAGGCTCAGAAACA	TGCACGCACATAAACTAGGG
203	SSR4252	AAAGAACACACATGGTGGTGG	AAGGAGTGTTTGAATAGGCCG
204	SSR3357	AAAAGGGCAAGTCAAAACCC	GGGAGGAAGAGAGACCCTT
205	SSR4637	ATCTGGTACCGCTGTTTTGC	GTGTTGATGTACGCGGTG
206	CMCTN86	GTGACAGTTATCAAGGATGC	AAGGGAATGCATGTGGAC
207	SSR215	GGAGCCCTAGTAGGAAACCG	GGACCACGTGAAAGATTCAGA
208	CMN05_87	GTCCCTCACATTCTCTCCA	TTCGGAGGATTGGTATTGTC
209	SSR3076	GGGATGTAGGAGGGGATTGT	TCGTTTATGACAGCATTTCCA
210	CSN183	TGGACCACGTGAAAGATTCAGAAA	GCCTACAATATCCCAAATGGAG
211	CSWTA11B	GGTAGGCAATCAAAGAGTGGATGG	AACATATAGGAATCTAACAAAGT
212	CSN244	CACAACGTGTGTGCAACTAAACGA	TGTTTCCCTTCTCCATGCTCCTTA
213	SSR6585	GCAGGTCATACTCTTTAATTATTCCA	TGTTATCATGCCATACCCA
214	CU1094	TGCTAAAACAATGCAGCACA	TAACAACCCCATCAAAGGC
215	SSR4847	TCGTGCCTCATTGGTAGTG	GCCAAGGTAACGAATTGCAT
216	SSR477	TATTGCGATGGTTTGACGTG	GCAAATTCCGGAGTTTCGTTA
217	CSN266	TTTATAGGTGCCATCCTTGACTTGG	TCCTAAGGTATTGATTCCACGATT
218	CSN159	TGGTTCAGAAAGGGGAAAATCAGA	TTTCACACCATTTACGGTTATGGG
219	CSN172	TCTCAACCCAGATTGACCTACCA	CCCCTGGAAGTAAAGGTGACACT
220	CSN184	CTTTATCTTCGGCTTTGATGTCCG	TCCATAGCAGTTCCCAATGTCCTT

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
221	CSWCT13B	ATAGGGCAATTTGTCTCT	CACTGGGATCCTAACAAC
222	CSWCT17	TTGAATTATGGGTTCATTTTT	GACAATGATAAACTTCCCTGA
223	CSWCT24B	ATCGCTTTATCTTCGGCTTTGAGT	AATCCATAGCAGTTCCCAATGTCC
224	CMTCN56	CTTTTCTCTTCTTCTATTCTC	ATCCAAAAGGAATCGGAAAG
225	CSN121	GCATGCGACATTTTGGATTCTTC	CCCATGACCGAAAAGAGGAATATG
226	CSN145	AGTTCCAGGTCAGATCTCTT	TCGATCCAATAATATTGGGATGG
227	CSN157	GAAGCTCCTCAAACCATT	ACTATGTTGAAAGATTGATCCT
228	CSN181	ATCTTGTCGGTTTGCTTGATCCAT	GTGATTTTGGCTACTCCAAGGTCG
229	CSN295	GCAACTAACCCATAAATGAAGAGATGC	TCAAAAGGCAATGGACCTTACAC
230	CSWCT06B	TTTAAATTCCTCCTAACC	TTTGCTTTGCATTTGGAT
231	CU2994_1	CATGATCCAACCATGATCCA	GGCTAAATCCATGGGCACTA
232	CU2994_2	TGATCCAACCATGATCCAGA	GGCTAAATCCATGGGCACTA
233	CU2994_3	CCATGATCCAGAAGACGACA	GGCTAAATCCATGGGCACTA
234	CU2998_1	AAAGGGGTTTCCATTCTTCTG	CTCTGTCCTTTGCAGCATCA
235	CU2998_2	GGGGTTTCCATTCTTCTGTCT	CTCTGTCCTTTGCAGCATCA
236	CU2998_3	AGGGGTTTCCATTCTTCTGTC	CTCTGTCCTTTGCAGCATCA
237	CU3009_1	ACGGTGAGTTCCTCGTCATC	CTCTATTTTCCATTCCGCCA
238	CU3009_2	TCCTCAACGGTGAGTTCCTC	CTCTATTTTCCATTCCGCCA
239	CU3009_3	CGGTGAGTTCCTCGTCATCT	CTCTATTTTCCATTCCGCCA
240	CU3015_1	GGACATGGAGATCGAGGAAA	GAATTCGTGGATGAAAGGGA
241	CU3015_2	GGACATGGAGATCGAGGAAA	CGTGGATGAAAGGGAAGAGA
242	CU3015_3	GGACATGGAGATCGAGGAAA	TCGTGGATGAAAGGGAAGAG
243	CU3031_1	AATGAAGGAAAAGATCCGGC	GTGTTGTCGGGCACAATTGAC
244	CU3031_2	AATGAAGGAAAAGATCCGGC	TACAAGTTCTTGGCTCCCGT
245	CU3031_3	AATGAAGGAAAAGATCCGGC	GTGTTGTCGGGCACAATTGAC
246	CU3035_1	TCCCAAACATCTCATCACC	GGCTCTGCCATTGTGTTTTT
247	CU3035_2	AAATGGGGTCTCCATAATTG	TTTTTCCATCTGAGGGGATG
248	CU3035_3	AATGGGGTCTCCATAATTG	TTTTTCCATCTGAGGGGATG
249	CU3056_1	CTGAGAAAATTGGCCTTTTCG	TCCTGTACCTTCGTCTTGGG
250	CU3056_2	CTGAGAAAATTGGCCTTTTCG	CCTGTACCTTCGTCTTGGGA
251	CU3056_3	TGAGAAAATTGGCCTTTTCGT	TCCTGTACCTTCGTCTTGGG
252	CU3073_1	GAGCAACCTCAGCATCACAA	TTTGGGTAGCCAAGAAATCG
253	CU3073_2	CCTCAGCATCACAAAGGACA	TTTGGGTAGCCAAGAAATCG
254	CU3073_3	AGAGCAACCTCAGCATCACAA	TTTGGGTAGCCAAGAAATCG
255	CSJCT10N	TGTAAAACGACGGCCAGTAACTCTCATGGGAAACAGAG	ATTCTTCTCAACCTCTTCCT
256	CSJCT 22	TGTAAAACGACGGCCAGTCCGTCTGGCGCGCATAGA	CGTGGATAACGCGCAACTAACC
257	CSJCT 77	TGTAAAACGACGGCCAGTTCAGAGTGAATGAGCTCATG	TGACGTCCGCAAGGACACAG

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
258	CSJCT 108	TGTA AACGACGGCCAGT GCCCGTTCTGGCGCGGATA	GTGGATAACGCGCTCAACTAACC
259	CSJCT 14	TGTA AACGACGGCCAGTCTGCTTGAAAGAGCCGAGAA	TCAAAAGGCTTTGGAGGGAG
260	CSJCT 156	TGTA AACGACGGCCAGTTCTGTGGATAACGCGCTCAAC	GCGATAGAAAAAGAGAGCG
261	CSJCT 254	TGTA AACGACGGCCAGTGCCAACTATAGCCATTGATTT	TCAACACCTCCTCAACACT
262	CSJCT 29	TGTA AACGACGGCCAGTAACACCTCGAGCAAGAGCAG	GGGTTTGAATCTCCCAGTCC
263	CSJCT 358	TGTA AACGACGGCCAGTGGGTGAACAACCAAGAGAG	TGAGGGAGCGGTTGATTAGAG
264	CSJCT 390	TGTA AACGACGGCCAGTGAATTTAGGCATAGAGAGAA	CCCTAAACAGAAGACTTTGCTAC
265	CSJCT 565	TGTA AACGACGGCCAGTGAAAGAGCGGGAGAAATGG	AAGCGGTGGGAATTGAATTGGTT
266	CSJCT 598	TGTA AACGACGGCCAGTTCCCAAACATAGAATGCGAT	CTGTCTGTTTTTCGATCTTGTAGA
267	CSJCT 619	TGTA AACGACGGCCAGTAACAAAGAACTAAGCAATTC	CTTAGGAGAAGCCAAGACACTAG
268	CSJCT 651	TGTA AACGACGGCCAGTAGAGCGGGAGAAAATGGA	CGGTGGGAATTGAATTGGTT
269	CSJCT 656	TGTA AACGACGGCCAGTTCCTACAACCTCAAAGGGCCA	GAAGTGGAGTGGAGTGGAGTGA
270	CSJCT 661	TGTA AACGACGGCCAGTGGGTCATACCCAAAAGGGA	TCTTGCTTTAGCCGACAACCTCA
271	CSJCT 664	TGTA AACGACGGCCAGTAAGTGGGCTCGATTGGAAGA	CCGTCGCTTTTCTCAAGTTC
272	CSJCT 726	TGTA AACGACGGCCAGTGAAGAGACGGCTCCTTTTCAG	CCCGATTGTGCTCTCTCTC
273	CSJCT 933	TGTA AACGACGGCCAGTGATGACATGGACATGTCTGC	AAGATCTCTCCCATCTACCAACTT
274	CSJCT 944	TGTA AACGACGGCCAGTGGCCTAGAATTTAGGCATAG	GCTGTCTTTATGTTTCTGCAAC
275	YCZ-SCAR	GGGGAATGAGTGGATGCAAGATG	GGGTAGTTGGCGATTGACATTG
276	YCZ-SCAR	GGCTATTGTACCCTATGAACAAC	GTAGCACAAATAGGATTTAAGGT
277	YCZ-CAP-1	GACCTTAAATCCTATTGTGCTAC	GCGGCTTGGACTTGGCTCAAC
278	YCZ-CAP-2	CATTGTTGATGTGGAAGACCTGTC	CAGAAGCAGAGCCGTCACTCTCC
279	M1	GCTTTGGAAGAATTGTAAACG	CAGTTGTAAAAGTGAGAGCTTGG
280	M2	ATTACAAGTTAGGGGACAATGAAAG	CGACCTTGGTGAATTAGAGATTA
281	M3	CACTCTAATCTCTAATTCACCAAGG	TGGGGGTTTTCTTGAGAGTT
282	M4	TGTTCTTCAAATCACGTATCCT	TGGGCAGAAATTTGAACCTGT
283	8164	ATGTGTGATTTCAGATTTTCATAG	ACCTTCCTGATCGACTCCT
284	SCBC469	TTGAGCGAAAAATACATACC	TGACAAACTTTAGGCTGACAT
285	SCL19	TCGAGGAACATCTTTACTT	TTATTCTTATGTTGATCGCTTGTC
286	SCK7	CTCACGCAAAGCCCTCAGA	TAGAACTTCGAATAATCAGACA
287	SCAA9	CGACCCGCCTCACTTAGC	GTCTTCACCGGCATTTTG
288	SCAO7	TGCGAGCCAAATCCCATCT	AGTGGAGTGGAGACGCAGAGA
289	SCAI4	GAAGTCCGTGTCTATTATTGAT	ATTACATTGTGGCAGTCTTTC
290	SCBC403	CGGATTTGACGGTAACT	AAGGTCGAGGGATGTGC
291	SCL18	ATTTGGTTATTATTTTATTC	AACTCACCTCAAGATTTAGA
292	SCU15	ATCCAGCGCATTCCTTAG	TTCGGCGGACTTGCTTTGGTGT
293	SCAN5	GGTATTGGTATGTTTTCTATTTTC	GGTTTTACATCAGCCATCCT
294	SCBC519	AGATATAAGCGTTGTGAGGAT	ATTATGATAGATTCGTTTTTACC

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
295	SCAK5	GGTATTGGTATGTTTTCTATTTC	GGTTTTACATCAGCCATCCT
296	SCK15	TCCTGCCAAATAAGAGA	TGCCAATCGATCCTAAAAC
297	SCAO12	CCTGTCATCTTTGCTCCTAACTAA	CTACGGATAAATCACCTGGACCTT
298	CMGA15	CGGCAAGACGATTGGCAGC	ATCACCGTAGCGAAGCACC
299	CMCT44	TCAACTGTCCATTTCTCGCTG	CCGTAAAGACGAAAACCTTC
300	CMACC146	CAACCACCGACTACTAAGTC	CGACCAAACCCATCCGATAA
301	CMCTT144	CAAAAGGTTTCGATTGGTGGG	AAATGGTGGGGTTGAATAGG
302	CMTC47	GCATAAAAGAATTTGCAGAC	AGAATTGAGAAGAGATAGAG
303	CMCCA145	GAGGGAAGGCAGAAACCAAAG	GCTACTTTTGTGGTGGTGG
304	CMGA172	CAATCGCAGATACTTCCACG	TGCTTGTCCTAACGGTGTCTAT
305	CMTC123	CGGATTGTACTTATTGCCAAG	CATGTGCATGTGTGCATGTAC
306	CMGT108	CTCCTTCAAACATTGTGTGTG	GAGATAGGTATAGTATAGGGG
307	CMTAA166	GGAACAGACACCTCTTCTGAG	TCCGTCTACAAGCGTGAATGT
308	CMGA165	CTTGTTTCGAGACTATGGTG	TTCAACTACAGCAAGGTCAGC
309	CMCT160A	GTCTCTCTCCCTTATCTTCCA	ACGGTGTGGTGTGTGAGAAG
310	CMTC160A	GTCTCTCTCCCTTATCTTCCA	GATGGTGCCTTAGTTGTTCCTG
311	CMCT505	GACAGTAATCACCTCATCAAC	GGGAATGTAAATTGGATATG
312	CSCTTT15	GTTTGATAATGGCGGATTGT	GTAGAAATGAAGGTATGGTGG
313	CSGTT15b	ACCTTGTTGATTCGGTTCTCC	AGTTCGGTTTAACTACCCACG
314	CSTCC813	GTTGTGCTGCCCAATAGTTG	CACCACTTCTTCCACCGAA
315	CSCT335	CCTTCACTTCCATCTTCATC	CGGTCCTTCATTCATAGAC
316	CMTC51	ATTGGGGTTCTTTGAGGTGA	CCATGTCTAAAAACTCATGTGG
317	CSAT214	TTGAGTACCATTGTCATAGAT	TTAGTTTAAATTTCATCTCTGT
318	CSAT425	TAGGGCAGGTATTATTTCAG	ACGGACTGATTTAGTATAGGC
319	CSCCT571	CCTTCTGCTGTTTCTTCTTC	GAAGGAAGGAGTGAGGGGAAG
320	CSTA050	GAATTATGCAGATGGGTCTT	CAAGAAGATCAAATGATAGC
321	UW044613	GGCATTCGCATCTTTATCC	CCAGAATCATTACATGGCA
322	UW044536	GGTATGTGTCAATGCTCCACA	CAAATCTCAAACCCCTTAGTCG
323	SSR11654	AGACCCCTTCCAGGAACCAT	CAGAGGTGTCTAAGCTCCCG
324	SSR20705	CCTTCTCTTACCCATCCCAT	ACCCATTTGAATCAGCTTCG
325	UW045196	CGGCTGGGTCATAAAAAGAA	CATGTGCTCGCTTTTCCATA
326	SSR14697	GGGTCAACCTACCAACCGT	CCTTACAGGGAAAACGGTGA
327	SSR10018	CTTTTGTTCTTGTGGAATGTGA	ATTTGGGGATGGAGAGGTTT
328	SSR16881	CCCTCTCAACATTTTCCACAA	CGAGGAGACTTGATGGGATG
329	SSR10839	TTGAATTCCTCTGCCCAATC	TGGAATTTTGTAGGGGGAA
330	UW084469	AAAAATAACCAAGAAAATAGACATTGA	ATGGGATTTTAAATCACCTTATA
331	UW073856	TGCAAACTCCTTACTTTTTCGG	TCCAAATGGTTAGAAAATGGAGA

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
332	SSR01816	GCCATTATGTAGGGGTATGAAAA	TCGAACTGATTAAGATTGCAAAA
333	UW005572	CAAATTGCAACATTATGTCTGTG	CCATCATTTTCCACGTTAGGA
334	SSR16055	CATCCTTTGACTTTGATGC	CTGCAAACGTGAAGAGAGCC
335	UW073923	CCTCCAGCAACATACAATGG	TTGGATCATGCTTGTTTTGA
336	UW073982	CATGCCGTCTTTTGTTCCT	CCAACTCACAACCCCTCTA
337	UW085111	GCGTATTCAATGGCACAAC	CAAAATCCAATCAAATGCCTG
338	UW049617	TGGTTTTGGCCTTTGATTC	GCCTTGAACCCACATGCTAT
339	SSR00420	TAACAACCACCGATCTTCGC	TTGTATAAAGCTACCAAGGTTTC
340	SSR17196	GGGTCGAGATAAAGCCGTAA	TCGAGCTCGTTGTGCAATAA
341	SSR03962	ATGGAGCCCTAATCACGTTG	CCGGCCAAACCCCTATAAGAG
342	UW084481	TTTTCATTTGATTTTATAACAGTGGA	TGATCTGCATCGCTTCTTCA
343	SSR19914	ATGGTCCACCAACAAATGG	GCTGTACTTGAATCACTTCCC
344	SSR05079	GAGGAAAATTCCAAAAATTGC	TGCGAATTGGTCTCCTCTTT
345	SSR03680	AAATGAGTGCCAAAAGCCAT	CCACCGAAAGAGATCAAACAA
346	SSR21747	CAGCTGTTGAGATTCCGAG	GAACAAATGGGGAGAGCAAA
347	SSR10963	AGCATGCAATTAATAGGCCA	CAAACAAAAGTAAGAACAAAAAT
348	SSR11820	ACGACGCCGTATTGCTTAG	AAGCTCGTTCATTATTACCCAA
349	UW084642	GGAATAATGGGACCCCTACAA	TGAACCAAGTCCACAATTGCTA
350	UW084812	AAACAAATTTCTTCAAATTGTGATATG	GCATTATTGACAAGATGGTAATG
351	SSR00204	AACCCTATTTGCACGCATTC	GAGAAACAGCTGGAATTGGG
352	UW084796	CAAAAGGTCAAAAAGGTGGTG	TGCATTAAATTAGATTAGAAAAA
353	UW084786	GCTCCCTATTTCAATTTGTGG	TGAAATTCAACCCAATATAAAGA
354	UW084848	TTTAAGCGCAACTCAACTCG	GAAGGCTACTACCGTCTTTGTAT
355	UW084632	TTGTACGGATGTTGGGCTCT	TCCTCCAACCTGATCATCACC
356	UW084849	AAGGAGGGGACAAACAACATT	TTCAAAAGCAAATTCATTACCC
357	UW041214	GGGAAGATCAATCGTCCAGA	TCAAAGCATGATGATGAACGA
358	UW085088	CTGCGACATGCGATTTTCTA	TTTAATTGGAATATTTTACAATAC
359	SSR00378	TCCCTAAAATTTGACAACCC	TTAGTATGGCTTGAACACCCA
360	SSR22203	GGTGAGCAAGGGTTTCTTG	AAGGCGTCCGATGATTTTT
361	SSR10518	TCTAATTCGCTCCGGATGAT	TTGCAGCGAACAATCCTGTA
362	UW082429	AGTTGTAGCCATGTGGAGGC	AAATTGCGTTAGTCTGATGGA
363	UW082557	CCACACTTCCTTCCTCATGC	CAAAATAGTGGTTGCCCAAAA
364	UW084618	AATCCTCCATGGTTAGGGTAGA	TGAAAATAAATGTGTTCTTGCAA
365	UW083140	CCACTTCCACTTTCACCACC	TGAAACCAAAGTCCCACTCC
366	UW083192	CCCATCACTTACCCTTTCCA	TCATGTCCGAAACCCCTTAC
367	SSR11909	AATAATACCAGTGGCCCCATC	AAAGCTCCCTCCTCCCTAC
368	SSR16916	AGCATGATGAGGATCCCTTG	CCGAACTGCACAAAGTATGG

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
369	SSR12383	AACCATGGCTTAACGAGCAT	TGCGAACTTTTTCCGTTTTTC
370	UW084457	TCATAACTCCTTGGGGGTTG	GTAAAGTTTGGATTCTATATGGTC
371	SSR15029	CCTGCTTCCCGTTCAAATTA	TTGTTTCTCAGTCAAATAGCTTCG
372	SSR18640	GGCGTTGGGTAAAGCATTTA	CGTGGGTTTTTACCGTCATT
373	SSR17769	CAATCAACTTCAAGTGTGGGA	AAAAGCTTCATTAGTCGCATGTT
374	SSR01573	CGTTAGGCCAAACAAAATTGA	TGCAAACGTTTCTCTAGGCA
375	SSR02771	AAGTACACCAGCACTTGGGC	CACACTCTTATGGCTTTCGTCA
376	SSR22545	TGATGAGCGATGCAGAGAAT	TGCTTTGGTTTGGTGATTTG
377	SSR02051	CAGGTCATCTTCTCTTGGACTATACTT	TGCTTTTATCCCCACTTTTCTT
378	UW084286	GATGAGATGGAGAGGGTTGG	CACACGAAATAATGTCACTAAA
379	SSR03552	CCAACTTGGAATAATTGCTACA	TTCAGTTCGCTCGTGAAAGA
380	UW079378	TGTTCTTCACATGCAATCCAA	TTGAGCCAACACAAGAGAGC
381	SSR02132	CAATTGGTATGAGTGAAAGATAAGC	CTCTGGTCCACCCAATCCT
382	SSR18428	CCATTCACCTCCTTTCCAGC	TGGTTTCAAGACCACCTCT
383	SSR20270	TTGGGATGTAGATGTCCGGT	TCCCCAATCCAATCCCTAT
384	SSR01056	AAAGGGAAAGGTAAATTGCCA	AGCAGTTCGGATGATATTGGA
385	SSR07120	GATCAAAAAGATCCAATAAATCA	TCGTCCAAATAGTTGTTCTTACCA
386	SSR18311	GCGGATCAGAGAGGAAACAG	GAAACAAACGTCCTCCTCCA
387	SSR05328	TGCAGACTGTAAATAAATGGTGA	CCGAGGCAGTAATCCAACAT
388	UW084838	GCAGCCTTATGCATTGTCTTT	GGTCCTCATCCCTGTATTCTG
389	SSR11397	GAGGATGAAATAGTTGTCCTGAA	TGATGCCCAATAAAACCTT
390	UW084840	NNACACGTAGTCAGAAAAACATATAAA	TTAAACAAACCCAAATCTTTCTT
391	UW084841	GACAAACATGTTAATCAGACACAAA	TTGGCGGAGGTAAATCACAT
392	SSR06031	TGGGAAGAGAACCCTAGGAAA	TTGCAATTACTCATCGCTGC
393	SSR23177	TGGATGAATGATGCCACAGT	CAAAAGCCTGTCTTGGTAAAAA
394	SSR30236	TCAATTAAACGAGTGGCAAAGA	GCCACGGGTTGACTACAAAT
395	SSR03066	CAAACTTAAGGACCGAAAGGA	ACATGGTTGGTTAGTGGCCT
396	SSR06791	TTTGTAGTTTGAGAACTCAAGTTGG	TGGTGTGGTTGTCTCTGAG
397	SSR10783	TGGGAAAATGGGAGTTTCAA	CGAACCACCAGTATTGGACC
398	SSR07209	CTGTCTGCAGAGCCATCTGA	CCATCAAGTTGAGGAGCAAA
399	SSR23549	TCACCCCCACTTTACTCCTC	AGTCAATCAGTCAGCGCCTT
400	UW084401	CTTCATTCCCCCTTCCAAAT	CGTCCATACATTGGGATCTTC
401	SSR14026	TACCGGAGAAATCATCGAGC	TCGCTAAACTCCAACACGAA
402	UW018193	CATGCGATTCAATTGTGAAAA	TGCAATTTGTCTTTACACCTG
403	UW084415	TTCATTGAGTTTTACTAATGCCAAA	GTCGTCGAAGCATTTTGTGA
404	SSR00012	TCTCACCATGGTCACCTAATG	GGTCATTGAAGAGTCAAGTTGG
405	UW024693	TGAAAGAAAGATGGGGGAGA	TTCCCCCTCAAATATTGCTG

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
406	SSR05899	TAAGAGCAAAAATCCCACGC	AGCTCAATCAACGTCAAGAGAA
407	UW049135	TTATGAGGGGTCAGGTTGGA	AAAAGGGGAAGGGAATTGTG
408	SSR22706	CATAAGCCTTCAAGCTGGG	CTGAGGTCTCCTGATGGAGG
409	UW058682	GGTGATGAGTTGGTTTTGTCTT	GCCAAAATCGTGGCATAAGT
410	UW058714	CAAGGGTTGGCCTGTTTTTA	GGGGTGTGTGTGTGTGAGAG
411	UW083447	TGCTTGTGAAAAGTCCTCGTG	CTTTTGCTTTGCATCCCAGT
412	SSR06225	TGTATCATTCCAATCCCTCCA	CGAAGTCCAAATTGATAAAGGC
413	SSR17389	AAGGACAAAGACAACATTAACAAAAA	GGGTTCTACGAAGGAGAGCA
414	SSR11043	AGGTACGAAACAACGGCAAT	TCGCACTCACTCTTTACCGA
415	SSR13456	ATGTGGGTGTGGAAAAATGG	TAAAGGGGCAATTTGGTGAA
416	UW084381	TGACACGCTACCTGAATTCTG	AGGAACTGGAAGTGCATGGT
417	SSR05415	GGGCATCATGACTAAATTCTCC	GTCTTCCTGGGTTAGTGGGG
418	SSR03481	TGTCTGTCCTTTTCCCTCCTT	AGAAACATGGTATGATATGTTGG
419	UW084598	TACCTCCATGCTCCATCACA	TGGTGAAGTTAAAGGGTAAATCG
420	UW084449	TTTGTTTGTGACCCAAAATAG	TCCTTTATACTTGAAACCAAAAAG
421	SSR00276	CCAATTAATTATCCTCCACGA	AATTAAAGTGAGGAGTGGAATTT
422	SSR03820	AGAGGGCAAATTGGTGAATG	TCCATCCTGTATGATTTGAGTTG
423	UW084372	GGCTCCATATGCCAAATGAC	TGGTGAAAACCTCCATGGTTG
424	SSR05515	TCATTTTGGCTGCAATTCAA	GATTCTCCATCTCCACGCAT
425	UW084851	CCCAAATTACCTCATCAATTTTT	TTTTTGAAGGATTTTGGGTATG
426	SSR18549	GACACATCGCATTTTCCAGA	ATTAGGGGCTCCACAAAACA
427	UW084559	GGGGGAGATTGATAGTTGGAC	CGCCTGTTCTTTCAACCATT
428	UW084196	TATCACCGCTTTGGATTATT	CCCTTCCTCCTCATACTTTT
429	UW084295	GAGCAAGAACAGGAACAATC	ATAGATATGTGGGTGTGGGA
430	UW084212	GACAACTGATAACCCATGCT	TAATCATCCCCAACAAATACC
431	UW084519	GGTAAGAGATGATCTTCGAAAGG	TTCCATTCATATTCTTCCAATGC
432	UW084691	GTTGTCGTCGAGGTCCCTAT	CTTTGCATGTAACGCCAAGT
433	SSR20165	CAATGGAGGAGGAGTTGGAG	GGGGCAGGGTAGAAGAAATC
434	UW084351	GAAACACAAAGTTAAAAACAAAATCC	GACATCACGACGTGGAACC
435	SSR07711	CCCAGGCATTTTCAAACACT	ATGGTTGGTCCATCTTGCAC
436	UW084461	GGCTACAGGGACATAAATACACTT	CGTTGTAATTACTTGGCCATCA
437	UW084654	GAAAACAGATTGATTGGTATCATTG	CAAAGCAAGAAGTTTGGAGGT
438	UW084852	TCCACTAAAATTTAACTTGGTATCAAAA	CACTTGTGTGCAAGAAAATATTG
439	SSR10725	TGACCATCGGTGATAGAATTT	CAAACCAACTCAACCTTGATAGA
440	SSR15321	TCAATGTAGGTAGAGCACCACG	TCCAATTGCTTGACCAATGA
441	UW083711	AGCCTTGGTGAAGGAAAT	GCCTACAATGACACACCAACC
442	UW002466	TGGAACCCAGAATCTAGCCTT	GCCTACAATGACACACCAACC

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
443	UW084357	AAAACAAAACATAGTAATTAAGCCTTC	TGAAATCTCTAGAAACAGGCGAC
444	SSR03529	TGAATTGAATAGACACAACAATATGC	ACATGTTGGGACTCCATGTG
445	SSR00772	AGAAGCGTTGGGGGAAAATA	TGCTACCTCACATGGTTTTG
446	SSR07100	CACACCATTTACGGTTATGGG	CATTTGGTTCAGAAAGGGGA
447	SSR14180	TGGCAACATTGTGAATTGTG	GAAGGGAGTACTGAGTTGCGA
448	UW084533	TTCCCTCTATCAACAATGTCCA	TTTCCTTCTAAAAATTGAACTATC
449	SSR10911	CAGTACCAAGTCCCTTCCCA	TGGGATCCTAACAACCTCCATTT
450	SSR06303	AGCTCTCAACAACGAAGGGA	TGACTTTCTTGATGGTACCGC
451	SSR15196	CAAACCTTTGTCAAAATCTCACCA	AAAAGCAAACCTAGGGAGCA
452	UW084823	GGAAAGTGAAGAAGTAGGGTTTCA	GGGTTTCCGCTGTTTCTTC
453	SSR03514	TAGGGTCCCCCTCCCTCATA	GGGTACCCAAAAGCAAGTGA
454	SSR03943	TTTTTGGTGAAAAGGAACGTG	CACAAAGCAAATTTAGGGGAA
455	SSR10224	AAGTGAGTTGCAATGGCTGA	TCCATTGAGGTGATCTGAAAAA
456	SSR19343	ACCACGTGTATCTTCGCCTC	TCAAATGCATTGAAGGCTGT
457	UW084824	AAGATCACTGCCTCAATCTCGTAT	CTCACGTGCCGAGATTAAGAA
458	UW084820	AACCCTATGATTTAATTGGTTTTTC	ACAAAACGCCAAAGTGGTTC
459	SSR16163	CCAATATTTGCATATGGTTTATCA	CAATCTTTGCATTTTGCTTTTG
460	SSR11858	CCCTTCTCTCTCCTCAATCC	GTTTGCATGGTGAAATGTGG
461	SSR11219	GCCATTCAAGGTGTAAGACCA	ATGTTGGTTGGGTGGGGTTA
462	SSR11343	GTGGGGTTGCTTTTGGATAA	CAATGGTTGCTTTGCTTCAA
463	SSR02764	CCAAGAACCACAAAAGTGGC	GTGAGGACGGAGATGAGAGC
464	SSR00019	ATTCTCGTGAACCATCACCC	ACTTTTGCCACTTGGCACTT
465	SSR14290	TGAAACAAAATTTCGAGGTGTGA	TCACCACATTCTTTTGGCA
466	SSR03940	GATTCTCCGGAAACGGATTT	GTCGTTTCCGCGATTCTAC
467	SSR21318	GACACCCCATTCCTCATCAT	GCTTCATCACTCCCAATTCAG
468	SSR10954	TGCAAAACCAATTATTTGATATAGAGA	TTTCGGCAAAAGAACTAGGAG
469	SSR10829	TGTAATGCCACGTACACCT	AAGCCAAAGGGGTTTGAAT
470	SSR07248	CGATTGAAAATATCGGCAC	CGAATCGCCTTCAGTTCTTT
471	SSR03768	GATGCTTGTGAAAACCTGGGG	TTCCGTGGTTCAGTACCTTT
472	SSR13996	CAAATCTTAACCTTCTTTGCATCA	TTGAATCCAACCTCAAACCTATTG
473	SSR18564	CCAACGTTCCATATCCACCT	AGTAGCCGACATGCATCAAA
474	UW084569	GATACAACCGCCGAGATCC	TGTATTCCAATGCACTGTTGG
475	UW039897	CCCAGTTCGTGACTTTTCGT	CCCAATTCTGTTTCTTAATTGA
476	UW084428	GCCATGTTACATGACCAAA	CCCATGGATTCTTGGATCTG
477	SSR00126	TCCACTCTTGACCAATTTTGAG	CACAAGAGGAAGCTATCGCA
478	SSR04252	AAAGAACACACATGGTGGTGG	AAGGAGTGTTGAATAGGCCG
479	SSR11985	GCTGCATTTCATTTAACGCTT	TGGTCCATCCTCACCAATTT

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
480	SSR16005	CTCCACGAACCTTCCTTCAC	ATTGTTGGGCTTGGTTCAAT
481	SSR21885	AAGATTCAGGAGGAGGGGAA	AGTTCCACAAGGCACAGGTC
482	SSR19165	AATCCACGTTGGTTGTCGTT	GAAGGGCCAAAAATGTTTCA
483	SSR13741	TTTCGCCCATGAAATCTTC	CAAAGAGGTTACAGTGGGTT
484	SSR10466	TGTTGTGAGCGTTGTGATT	CTGATGCTCACACGTGTCCT
485	SSR21936	TTGGTTGGAAAAAGGAAGGTT	GGGCAGAGGCTTTTTCAATA
486	SSR01148	CGGAGAAAGGCTCAGAAACA	TGCACGCACATAAACTAGGG
487	SSR21561	TTGGAATCAAACAAAGAAAGAAA	GGCAAATTTTGGGTAGACGA
488	SSR00193	GCCAATCCAATGGAACAAGT	TTGTAAACCAAAACCTTACCCC
489	SSR19755	TATCAGCGAGGGAAGGAAGA	TAATTGCTGCATCGAAGACG
490	SSR19291	ATGGGAAGAAAAGTGGGACC	AGATTTCTCCCCAATTTTCG
491	UW084828	TGAAATGACCCTAAAATTAAGCA	TGTGTGTCTCCAGTAGTGTG
492	SSR14861	ATTTCTTCCCCACCAAAAC	ATGAATCCTCCTCCAGAGC
493	SSR18771	GCACGTGGGTCAAAGAATTT	GTTGGTCAGCAAAAACGACA
494	UW084615	AAGGATTACATAAACCTACCATGA	AAGCAAAAATTGGCTGCTTTA
495	SSR18133	CGATTTCAAACAAATTGCTAACTG	GGAGAGTCAAATCAAACATCCC
496	UW084364	CGGACGTTTTAGAGATTTTGC	AAGTACTCCATGAGGGGGAAA
497	SSR05271	GGTACAATAGGGAGGCCCAT	AGTGGGGGATGTAATGAAGG
498	UW085071	GGACTGAAATGCTATTTTCCA	CAAGTGTTGTGTGATTATGAAGC
499	SSR05682	TGAAGGTTTTTCTCCAGCGT	ATTCGCTCACTCCGAAAAG
500	SSR20063	CCCACATTGGTCTCAACAAG	GCAGTTATATTTGAGGGGAGA
501	SSR17062	AGCTAGCCACGTAACACCGT	CACTCTCAAAATTTAGCCACACA
502	UWSTS012	TTGGCTAATTTATGGTTGGTATG	TCAAACCTCCTACCTCAACATTCA
503	UW084662	CACGGCTCTTATCGGTTAGT	CACTAGGTCGTCAAAGCAA
504	51-6CAPS	CACACTCCTAAATTACGAAGTTGAAA	AGATTTTCAGCCTTCATTCCA
505	UW062953	ACCAAATCGCTTCTGAGGTT	GGCATGAAAGAAACACCGTT
506	51-14CAPS	CGTGAACTCAACAAATAAAAAAGACG	AAACTGGGCAGCTAGAAAACA
507	UW084680	TGAGGCTTGATGTTGTGTT	CITTATGCTGGATGATCCCC
508	UW084975	CAATCCTCGTTCATCGACAC	GCCAACATCCACTTGTCAAC
509	CKX-indel	GAAACGGTTCAGGTAAGCA	TCCCATTTCTTTATTACTTCAGC
510	UW084979	CCTCACTGCCATTCTCTTCA	CATTGGCCATTGTGAAAAAG
511	UW084686	AAACACCTTCTTGGTCTACG	GGACCCCTACCTAATGCTCA
512	UW084870	TTAATTTGGATTTCGGCCTTC	AAAATGGGGTGAGTGAGGAG
513	UW084875	CAAACTCCCAAGGGAAAAA	CATTCTTCTCGTCCCTCCAT
514	SSR18551	GATGTGCATGTGATCCAACAG	TGAATCTACTGGGTTCGTTGTT
515	UW084189	GAATCATGGAAGATTGGAGA	TTTGAAACACACAGATTCA
516	UW084033	GATATTTTCCAACCTTCCC	TGTGTGATTTTCATTGCTGT

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
517	UW084716	GATCCATTCCCCTTTCTTCA	GAAAAGCATAGGACACGTCG
518	EC11	TCTTCGCAGTCACCATTTTC	CCTTCCTCTGTTTCTGTTCC
519	EC12	TATTCTTCTTTGCTACCCAT	TAAGTTTATTTTCTGCTGTCTA
520	EC13	GCAATGAATCATGACCTCCA	CTGAGAATTGGGAAGGGACA
521	EC15	ACCAAAAACAGACCCCTATG	GAAAGGGAAAACAAACGAGG
522	EC18	TGCCATTTTCATCGACTCTTC	GCATTTCTGCTGTGGCTTAG
523	EC19	TTTCTCTCCAACCTACCCCTG	TACATCGGCTTTTGCTCATCT
524	EC20	AAAGTTGCTCTTGTTTGTC	GAGGTGAATGGTGGTGGCT
525	EC22	CAGCAGAGAACTCAATCCA	CTGTTTACGGCTGCATTGGT
526	EC24	ACAACACAACCGCTTCTCGT	TGAGCCCAAGCACATAACAG
527	EC27	GTTGGAAGGCACACAAAGTC	CGAGATGATTGGAGGATGATG
528	EC28	CTGAGTTATGGGGAAAGCAA	TGTTAGTGATGTTGTTGGACC
529	EC31	CTAACCAGCAGAACCCAATG	GTATCCTGTTTCCAGCGAGA
530	EC34	GATCCCCATCATAATCACCC	CAAAGGGCTACAATAACAAAC
531	EC35	ATCCACAACACAAAAACCAC	AAGAAGAACAGCCAAGAATG
532	EC39	CCAAGTTTAAGTTATTTAGGAG	GAAGAGGACGATAAAGATGA
533	EC41	AGCATGTGGAGGAGAAAGCA	TTCATCATCGAGTGGGTCTG
534	EC47	CGATCTTTGTCATCCGACCT	AGAACGAGCACGTTTGTAGC
535	EC49	CGTGTTTCTCAGATTTCCTCA	CACTTCCCTTATCAACCCCA
536	EC50	GGAACAGGGAAATCCACCAT	TCGTTTCATCTCCCTCCTCC
537	EC52	TCAAACACGAACCCGAAACG	CAAGAAATTGCCAGGACGAG
538	EC56	TTTTTGGGGTTTTTGAGAG	AGCTTTGTTCCCTATCTTCC
539	CM01	TTGGAGGAGACAAAGGCATC	TGCTTCAACCTCTTCTTCTGG
540	CM04	CATGGCGATGTTTCTTTCA	AAGGGAAAATTTTGAAGTGG
541	CM05	TCCAACGAAATCCCACTGTT	AGCCGTTCTTCCGGATAGTT
542	CM07	TTTCCCGCATTGATTTTCTC	GAGAAACGCTTCCACAAAC
543	CM09	GTCAAAGCATCAGCAGCAA	CAAGTTAGGCAAACCCCAAA
544	CM15	ACCATCCTCCCTTCCAAATC	CAGAGAAGCAAGTGCAGCAG
545	CM16	TGCCTGTGTGATTGAGGAG	TTCTTCTTACCTCCGCCAAA
546	CM17	CCTTCATCATCATCATCGTCA	GACCGGCAGTGGACATAGTT
547	CM21	CGGGGAATTTGTGCTCTATG	CCCAAACAAAGCCAAAAGAA
548	CM22	AAGGATTTGGTGGTGTGAC	TTTCCATCTTGGGTCCAAAC
549	CM23	TTCTTCATTTAGGGGCACTG	AAAGGGGGCTCAACATTTTT
550	CM26	CCCTCGAGAAACCAGCAGTA	CACCTCCGTTTTTCATCACC
551	CM28	GCCGCTGTAACGAATAATGG	GAAGAAAACAGGGCATCCAA
552	CM30	TCAAACCTAAACCCTAAACCTAACC	AGGATGATCGGGGAAGAAAT
553	CM33	TGGCTTTTGCTAATCTCC	TGAAGGGGTAAGGTTAAAAA

Ek-1 devam. Hıyar SSR markırları ve primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
554	CM38	TAGCATCTGATCGGAAAACC	CAACCTCATCCGCCAAGAAT
555	CM39	GATTTCCCTCCGAACCTCTC	TTGCCCTAAAACCCTCACAC
556	CM43	CTCTTCCAATCACCGCCTCT	AAGGAGGAGCATGAGGGAAT
557	CM46	GCTCCGGCAAACCTTTTAT	GTGGACACGGTGATCACAAA
558	CM49	CCCCATCAGAAAGATGATGAA	TCTTTGTTTCTTCAATGGGGTA
559	CM53	CTGCCGTGAAGGAGAAGAAC	AGCCTCAATCCCCAATCTCT
560	CM55	CCTCTCTCTTTCCACCTC	GAAACAGAAGGAGCCACAGC
561	CMAGN33	CTGTCTGCTATTCTCCACTTGG	TGTATGCCACGTAGCGAAAC
562	CMAGN45	CCCACAAGAGAGAGAGAGAG	GTGTGACAGGTAGATTGTTGG
563	CMAGN52	CCACCAACATAACACACAAC	CTCTCACACTGTGGGAAGA
564	CMAGN61	GGAGACACAAGGAATATGTG	ATAACAAAGGGGCATAACAC
565	CMAGN68	GGAAGGAAATTAGCATGCAC	GCCACTCTGTCTTTCTTCC
566	CMAGN73	ATCCAACCTCGACCAAGAAAC	CAGCTCTACAACAACATCTC
567	CMAGN75	TGGGTTTCTTCTACTACTG	TGCTTTTACTCTCATTC AAC
568	CMAGN79	CTTCACTAAAAC TACAAGAG	TTCCAAC TTATTCATCCAC
569	CMAT141	AAGCACACCACCACCGTAA	GTGAATGGTATGTTATCCTTG
570	CMAT35	GTGGGTCATCATTATTGTTA	GCTTTTAGCCTATTAAGTTGC
571	CMATN101	GCTTGTCTTTGTGTTTGC	GAGAACAAGACTCCTTAATCC
572	CMATN22	CGGCAATCATCTTATCTTTC	AAGATTGAAGTGGGAAAATG
573	CMATN89	CACTACCTTAAAACAGAATTG	GGACAATTTAGGGAGGATC
574	CMBR1	AGATGACCAAACCAAACCCA	CAACGTTATGGGGATGAAGG
575	CMBR10	CCGTTTGGATT CAGGCTAGA	ACCGGTTATCAAGGGTCCAT
576	CMBR100	GGACCAAACCAAACCCATTA	ATGGGGATGAAGGAGAAAAG
577	CMBR101	GGTATTATTTGCCCCACCT	CAAAAGGAAAAGATAGGCC
578	CMBR102	GGGAGCCCCTCATTTTCTC	TTTTCAACCAACATCCACCC
579	CMBR103	TGGTTGAGGAAGACTACCATCC	TCCACTAAAGTTTCCTTATGTTAT
580	CMBR104	CAAAAGGAAAAGAAAAGACCAA	GGTATTATTTGCCCCACCT
581	CMBR105	TGGTAAGCATTTTGAAATCACTTTT	TTTGTATGGTTGGAGGGGAA
582	CMBR106	GTACCTCCGCCGTTGATCT	TGAGATAATAAGAAATCCAACCC
583	CMBR107	TATGAAGCGGCATAAACAG	CGAATGTGAAATCTCTTCTCCC
584	CMBR108	TGTATTGCCACCGTGTCC	GGCAAAGAAGAAGGAAGAGTGA
585	CMBR109	TGGAATGTACCGTGATGGGT	ATACAGCAGATCCACAGGGG
586	CMBR011	CGTCAAAGATGAACATGGGA	CCGCCAAGTTATTTTAGGTG

Ek-2. SRAP primer kombinasyonları ve sekans bilgileri

Primer No	Primer Adı	Primer Sekansı	Primer No	Primer Adı	Primer Sekansı
1	ME1	TGAGTCCAAACCGGATA	1	EM1	GACTGCGTACGAATTAAT
2	ME2	TGAGTCCAAACCGGAGC	2	EM2	GACTGCGTACGAATTTGC
3	ME3	TGAGTCCAAACCGGAAT	3	EM3	GACTGCGTACGAATTGAC
4	ME4	TGAGTCCAAACCGGACC	4	EM4	GACTGCGTACGAATTTGA
5	ME5	TGAGTCCAAACCGGAAG	5	EM6	GACTGCGTACGAATTGCA
6	ME6	TGAGTCCTTTCCGGTAA	6	EM8	GACTGCGTACGAATTCTG
7	ME7	TGAGTCCTTTCCGGTCC	7	EM9	GACTGCGTACGAATTGAT
8	ME8	TGAGTCCTTTCCGGTGC	8	EM14	GACTGCGTACGAATTCAG
9	ME9	TGAGTCCAAACCGGAGG	9	EM18	GACTGCGTACGAATTCCT
10	ME10	TGAGTCCAAACCGGAAA	10	EM20	GACTGCGTACGAAATCTT
11	ME11	TGAGTCCAAACCGGAAC			
12	ME12	TGAGTCCAAACCGGTAG			
13	ME13	TGAGTCCAAACCGGCAT			
14	ME14	TGAGTCCAAACCGGTCT			
15	ME21	TGAGTCGTATCCGGTCT			
16	ME22	TGAGTCGTATCCGGAGT			
17	ME23	TGAGTCGTCTACGGTAG			

Ek-3. InDel primer sekans bilgileri

No	Markır Adı	İleri Primer Sekansı	Geri Primer Sekansı
1	AB032936_2	TCTCAACCATTCCTAAGACGG	GTTGTGAGTTATGAGGAGATTG
2	CM1.15	ATTTCTTTTCTCTAATATTTAAC	GAGAACTAATTCGTATGGTTTA
3	CM1.41	TTCATTTCAGATCTGGCTCTCTG	AACAGCCTGAAAGTGAACCT
4	CM2.20	GATGATGGTTGAAGTTGGAGA	TCATCACCAAAATGTTCAATTAAGC
5	EAACMCAC391-395STS	GAATTCAACCAAAAACCATAATCA	ATATCAGGTCAAATCTATAATCCC
6	EAAGMCAG154STS	GAATTCAAGGGCAGTGGTGCAAC	TTAACAGAGTCTCCTCACCCTGATTT
7	EAAGMCAT280-282STS	AACACTCCTGCTTTAACAGCATC	AATGTAATCGTCATTACAGCAGTGT
8	EAAGMCTG171-179STS	GAATTCAAGGTTATTTCTCATCA	TTAACTGGCAAGCGTCTTCTAAG
9	L18-2H19A	CCATCATAGTCAAATAAGAAATGA	GGTAGATATGTGTGCGCTATTTTG
10	MC224	GCTTGCTACTTAACGTTTG	GACATGCATAATGTGAGAAG
11	N6-1RTRANS	TCTATGATTTTCAACAATTGGAAG	GGTTTCTTAAATAGAAGAACACC

Ek-4. 308 adet AFLP primer kombinasyonları

	M- CA C	M- CA G	M- CA A	M- CC A	M- CAT	M- CT C	M- CC G	M- CG T	M- CG A	M- CC T	M- CT G	M- CT T	M- CG C	M- CG G	M- CT A	M- CG	M- CC	M- CT	M- CG	M- CA
E- AC A	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X		X
E- AA C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X		X
E- AA G	X	X	X	X	X					X							X	X	X	X
E- AC C	X	X	X	X	X					X							X	X	X	X
E- AC C						X	X	X	X		X			X						
E- AA G						X	X	X	X		X			X						
E- TA	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- TG	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- CC	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- CT	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- AT	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- AA	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- CG	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- CA	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- AG	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- TT	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- TC	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- AC	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- GG	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- GT	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- GC	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
E- CA	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					

Ek-5. DAS-ELISA testleri sonucu elde edilen F₂ populasyonu ZYMV dayanıklılık sonuçları

												Negatif	Pozitif	
TEST SIRASI	BİTKİ NUMARASI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
	ANA EBEVEYN	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	10	0	N
	BABA EBEVEYN	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0	10	P
1	F2_1_1	N	N	N	P	N	N	N	N	P	P	7	3	NP
2	F2_1_2	P	P	P	P	P	P	P	P	P	N	1	9	P
3	F2_1_3	P	P	P	P	N	N	P	P	N	P	3	7	NP
4	F2_1_4	N	P	N	N	P	N	N	N	N	N	8	2	N
5	F2_1_5	N	P	N	N	N	N	P	N	N	N	8	2	N
6	F2_1_6	P	x	x	x	x	x	x	x	x	x	0	1	
7	F2_1_7	N	P	P	P	N	N	N	P	N	N	6	4	NP
8	F2_1_8	P	P	P	P	P	P	P	P	N	P	1	9	P
9	F2_1_9	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	1	9	P
10	F2_1_10	N	N	N	P	P	N	N	N	N	N	7	3	NP
11	F2_1_11	P	P	P	P	N	P	P	P	P	P	1	9	P
12	F2_1_12	P	N	P	N	P	P	N	P	N	P	4	6	NP
13	F2_1_13	P	N	N	N	N	N	N	N	N	P	8	2	N
14	F2_1_14	P	P	N	N	P	x	P	P	P	P	2	7	P
15	F2_1_15	P	P	P	P	N	x	P	P	P	P	3	7	NP
16	F2_1_16	N	N	P	N	N	N	P	P	P	N	6	4	NP
17	F2_1_17	P	P	P	N	N	P	P	N	N	P	4	6	NP
18	F2_1_18	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0	10	P
19	F2_1_19	P	P	N	P	N	N	P	x	P	P	3	6	NP
20	F2_1_20	N	N	P	P	P	P	N	P	P	P	3	7	NP
21	F2_1_21	P	P	N	P	P	P	P	N	N	N	4	6	NP
22	F2_1_22	N	P	N	P	N	P	P	P	P	x	3	6	NP
23	F2_1_23	N	P	N	P	N	P	P	P	P	N	4	6	NP
24	F2_1_24	P	N	x	N	N	x	N	P	P	N	5	4	NP
25	F2_1_25	P	P	N	P	N	P	P	P	N	P	3	7	NP
26	F2_1_26	P	P	P	N	N	P	x	P	P	N	3	6	NP
27	F2_1_27	P	P	P	P	P	P	x	P	P	P	0	9	P
28	F2_1_28	P	N	x	x	N	N	N	N	N	N	8	1	N
29	F2_1_29	P	N	P	N	N	N	N	P	P	P	5	5	NP
30	F2_1_30	N	P	N	N	N	P	N	N	N	N	8	2	N
31	F2_1_31	N	N	P	P	N	N	P	P	N	x	5	4	NP
32	F2_1_32	N	N	N	N	N	N	N	N	P	N	9	1	N
33	F2_1_33	x	N	N	N	N	N	N	x	N	N	8	0	N

Ek-5 devam. DAS-ELISA testleri sonucu elde edilen F₂ popülasyonu ZYMV dayanıklılık sonuçları

											Negatif	Pozitif		
BİTKİ NUMARASI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
34	F2_1_34	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	9	1	N
35	F2_1_35	P	N	P	N	N	N	P	P	P	P	4	6	NP
36	F2_1_36	N	N	P	P	N	N	P	N	P	x	5	4	NP
37	F2_1_37	N	N	N	N	N	N	N	N	P	P	8	2	N
38	F2_1_38	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N	6	4	NP
39	F2_1_39	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0	10	P
40	F2_1_40	P	P	x	P	x	P	P	P	P	P	0	8	P
41	F2_1_41	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0	10	P
42	F2_1_42	P	N	P	P	N	N	N	N	P	P	5	5	NP
43	F2_1_43	P	N	N	P	N	P	P	P	P	P	3	7	NP
44	F2_1_44	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0	10	P
45	F2_1_45	P	P	N	N	P	N	P	P	P	P	3	7	NP
46	F2_1_46	P	P	P	P	P	x	N	N	P	N	3	6	NP
47	F2_1_47	N	N	P	P	P	P	P	N	N	N	5	5	NP
48	F2_1_48	N	N	N	N	N	N	N	N	P	P	8	2	N
49	F2_1_49	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	9	1	N
50	F2_1_50	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	10	0	N
51	F2_1_51	P	P	N	x	N	N	P	N	P	N	5	4	NP
52	F2_1_52	N	N	x	x	x	x	x	x	x	x	2	0	
53	F2_1_53	N	N	x	N	N	x	N	N	N	N	8	0	N
54	F2_1_54	N	N	P	N	N	N	N	N	x	x	7	1	N
55	F2_1_55	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	9	1	N
56	F2_1_56	N	N	N	N	N	N	P	N	P	N	8	2	N
57	F2_1_57	x	N	N	N	N	P	x	x	N	N	6	1	N
58	F2_1_58	N	x	N	P	P	N	P	x	x	x	3	3	
59	F2_1_59	N	N	P	P	x	N	P	N	P	N	5	4	NP
60	F2_1_60	P	x	N	x	P	P	P	N	x	N	3	4	
61	F2_1_61	N	N	N	N	x	N	P	N	x	N	9	1	N
62	F2_1_62	P	N	P	P	P	P	N	P	P	N	3	7	NP
63	F2_1_63	P	N	P	N	N	x	N	x	x	x	4	2	
64	F2_1_64	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	10	0	N
65	F2_1_65	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	9	1	N
66	F2_1_66	N	P	P	P	P	N	N	N	N	P	5	5	NP
67	F2_1_67	N	N	P	N	N	N	x	N	N	N	8	1	N
68	F2_1_68	N	x	N	N	N	N	N	N	N	N	9	0	N

Ek-5 devam. DAS-ELISA testleri sonucu elde edilen F₂ popülasyonu ZYMV dayanıklılık sonuçları

											Negatif	Pozitif		
BİTKİ NUMARASI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
69	F2_1_69	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0	10	P
70	F2_1_70	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0	10	P
71	F2_1_71	P	P	P	P	P	N	N	N	P	P	3	7	NP
72	F2_1_72	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	10	0	N
73	F2_1_73	P	P	P	P	N	P	P	N	N	P	3	7	NP
74	F2_1_74	P	P	N	P	P	P	P	P	P	P	1	9	P
75	F2_1_75	N	P	P	N	N	P	P	P	P	P	3	7	NP
76	F2_1_76	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0	10	P
77	F2_1_77	N	N	N	N	N	x	x	N	N	N	8	0	N
78	F2_1_78	P	P	P	P	P	N	N	P	P	P	2	8	P
79	F2_1_79	N	N	P	N	P	P	N	P	P	P	4	6	NP
80	F2_1_80	N	P	N	N	N	P	N	P	P	P	5	5	NP
81	F2_1_81	P	P	P	P	P	x	P	P	P	P	0	9	P
82	F2_1_82	P	P	P	P	x	P	P	P	P	P	0	9	P
83	F2_1_83	N	P	P	N	N	x	N	P	P	N	5	4	NP
84	F2_1_84	N	P	N	N	N	P	N	N	N	N	8	2	N
85	F2_1_85	N	P	N	x	N	x	P	N	N	P	5	3	NP
86	F2_1_86	x	P	x	P	P	P	P	P	P	P	0	8	P
87	F2_1_87	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	2	8	P
88	F2_1_88	P	N	P	P	x	P	P	P	P	P	1	8	P
89	F2_1_89	x	x	P	N	N	P	x	P	P	x	2	4	
90	F2_1_90	P	P	P	P	P	x	P	P	x	x	0	7	P
91	F2_1_91	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	8	2	N
92	F2_1_92	P	N	P	P	P	x	P	N	P	P	2	7	NP
93	F2_1_93	N	P	N	P	P	N	P	P	x	N	4	5	NP
94	F2_1_94	N	x	P	P	P	P	P	P	P	P	1	8	P
95	F2_1_95	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0	10	P
96	F2_1_96	P	P	P	P	P	P	x	P	P	P	0	9	P
97	F2_1_97	P	P	P	x	P	P	P	P	P	P	0	9	P
98	F2_1_98	P	P	P	x	P	P	P	P	P	P	0	9	P
99	F2_1_99	P	P	P	P	P	P	P	P	x	P	0	9	P
100	F2_1_100	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0	10	P
101	F2_1_101	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0	10	P
102	F2_1_102	P	P	P	P	P	P	P	P	P	x	0	9	P
103	F2_1_103	P	P	P	P	P	P	P	P	P	x	0	9	P

Ek-5 devam. DAS-ELISA testleri sonucu elde edilen F₂ popülasyonu ZYMV dayanıklılık sonuçları

											Negatif	Pozitif		
BİTKİ NUMARASI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
104	F2_1_104	P	P	P	P	x	P	P	P	x	x	0	7	P
105	F2_1_105	P	P	P	P	P	P	P	P	P	x	0	9	P
106	F2_1_106	P	P	P	P	P	P	N	P	P	x	1	8	P
107	F2_1_107	P	N	P	P	N	P	P	P	P	N	3	7	NP
108	F2_1_108	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0	10	P
109	F2_1_109	x	P	P	P	P	x	N	N	N	x	3	4	NP
110	F2_1_110	P	P	P	N	N	x	P	P	x	x	2	5	NP
111	F2_1_111	P	P	N	N	P	N	N	P	P	P	4	6	NP
112	F2_1_112	N	P	P	x	P	P	N	N	x	P	3	5	NP
113	F2_1_113	P	P	N	P	N	P	x	x	P	x	2	5	NP
114	F2_1_114	x	x	P	P	N	P	P	P	P	N	2	6	NP
115	F2_1_115	P	N	P	P	P	P	P	P	N	N	3	7	NP
116	F2_1_116	P	N	N	N	N	P	N	N	N	N	8	2	N
117	F2_1_117	P	P	P	N	N	x	x	x	x	x	2	3	NP
118	F2_1_118	N	P	P	P	P	P	P	P	N	P	2	8	NP
119	F2_1_119	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	10	0	N
120	F2_1_120	P	x	P	P	P	P	P	x	x	P	0	7	P
121	F2_1_121	P	N	P	P	P	N	N	P	P	P	3	7	NP
122	F2_1_122	N	N	N	P	N	P	N	P	P	P	5	5	NP
123	F2_1_123	N	x	P	N	N	N	N	P	P	x	5	3	NP
124	F2_1_124	P	P	P	P	P	P	N	N	P	N	3	7	NP
125	F2_1_125	P	N	N	N	P	P	P	P	P	P	3	7	NP
126	F2_1_126	P	N	N	P	P	P	P	N	P	P	3	7	NP
127	F2_1_127	N	P	P	N	N	P	P	x	N	x	4	4	NP
128	F2_1_128	N	N	x	x	x	x	x	x	x	x	2	0	
129	F2_1_129	N	N	P	P	P	N	N	P	N	x	5	4	NP
130	F2_1_130	N	P	N	N	P	N	N	N	N	x	7	2	N
131	F2_1_131	N	N	N	N	P	N	N	N	x	x	7	1	N
132	F2_1_132	N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	8	2	N
133	F2_1_133	P	P	P	N	N	P	N	P	P	N	4	6	NP
134	F2_1_134	N	N	N	N	P	P	N	N	N	N	8	2	N
135	F2_1_135	P	P	P	N	P	N	N	N	P	P	4	6	NP
136	F2_1_136	N	N	P	N	P	N	N	P	P	P	5	5	NP
137	F2_1_137	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	9	1	N

Ek-5 devam. DAS-ELISA testleri sonucu elde edilen F₂ popülasyonu ZYMV dayanıklılık sonuçları

											Negatif	Pozitif		
BİTKİ NUMARASI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
139	F2_1_139	N	P	P	P	P	P	N	P	N	N	4	6	NP
140	F2_1_140	P	P	N	N	P	P	P	P	P	N	3	7	NP
141	F2_1_141	P	N	P	P	P	N	N	P	P	P	3	7	NP
142	F2_1_142	N	N	N	P	N	P	N	P	P	P	5	5	NP
143	F2_1_143	N	x	P	N	N	N	N	P	P	x	5	3	NP
144	F2_1_144	P	P	P	P	P	P	N	N	N	x	3	6	NP
145	F2_1_145	P	N	N	N	P	P	P	P	P	P	3	7	NP
146	F2_1_146	P	N	N	P	P	P	P	N	P	P	3	7	NP
147	F2_1_147	N	P	P	N	N	P	P	x	N	x	4	4	NP
148	F2_1_148	N	N	x	x	x	x	x	x	x	x	2	0	
149	F2_1_149	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	9	1	N
150	F2_1_150	P	P	P	P	N	P	P	P	P	P	1	9	P
151	F2_1_151	P	N	P	N	P	P	N	P	N	P	4	6	NP
152	F2_1_152	P	N	N	N	N	N	N	N	N	P	8	2	N
153	F2_1_153	P	P	N	N	P	P	P	P	x	x	2	6	
154	F2_1_154	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	9	1	N
155	F2_1_155	x	N	N	N	N	P	x	x	N	N	9	1	N
156	F2_1_156	N	x	N	P	P	N	P	x	x	x	3	3	NP
157	F2_1_157	N	P	P	P	N	N	N	P	N	N	6	4	NP
158	F2_1_158	P	P	P	P	P	P	P	P	N	P	1	9	P
159	F2_1_159	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	1	9	P
160	F2_1_160	N	N	N	P	P	N	N	N	N	N	8	2	N
161	F2_1_161	P	P	P	P	N	P	P	P	P	P	1	9	P
162	F2_1_162	P	N	P	N	P	P	N	P	N	P	4	6	NP
163	F2_1_163	P	N	P	P	P	x	P	N	P	P	2	8	P
164	F2_1_164	N	P	P	N	N	x	N	P	P	N	5	4	NP
165	F2_1_165	N	P	N	N	N	P	N	N	P	P	6	4	NP
166	F2_1_166	N	P	N	x	N	x	P	N	N	P	5	3	NP
167	F2_1_167	x	P	x	N	x	P	x	P	P	P	1	5	
168	F2_1_168	N	N	P	P	P	P	N	P	P	P	3	7	NP
169	F2_1_169	P	N	P	P	x	P	P	P	P	P	1	8	P
170	F2_1_170	x	x	P	N	N	P	x	P	P	x	2	4	
171	F2_1_171	P	P	P	P	P	x	P	P	x	x	0	7	NP
172	F2_1_172	P	N	N	N	P	N	N	N	N	N	8	2	N
173	F2_1_173	P	N	P	P	P	x	P	N	N	P	3	6	NP

Ek-5 devam. DAS-ELISA testleri sonucu elde edilen F₂ popülasyonu ZYMV dayanıklılık sonuçları

											Negatif	Pozitif		
BİTKİ NUMARASI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
174	F2_1_174	N	P	N	P	P	N	P	P	x	N	4	5	NP
175	F2_1_175	N	x	P	P	P	P	P	P	P	P	1	8	P
176	F2_1_176	P	N	P	P	P	N	N	P	P	P	3	7	NP
177	F2_1_177	N	N	N	P	N	P	N	P	P	P	5	5	NP
178	F2_1_178	N	x	P	N	N	N	N	P	P	x	5	3	NP
179	F2_1_179	P	P	P	P	P	P	N	N	P	x	2	8	P
180	F2_1_180	P	N	N	N	P	P	P	P	P	P	3	7	NP
181	F2_1_181	P	N	N	P	P	P	P	N	P	P	3	7	NP
182	F2_1_182	N	P	P	N	N	P	P	x	N	x	4	4	NP
183	F2_1_183	N	N	x	x	x	x	x	x	x	x	2	0	
184	F2_1_184	N	N	P	P	P	N	N	P	N	x	5	4	NP
185	F2_1_185	N	P	N	N	P	N	N	N	N	N	8	2	N
186	F2_1_186	P	P	P	P	N	P	P	P	P	P	1	9	P
187	F2_1_187	P	N	P	N	P	P	N	P	N	P	4	6	NP
188	F2_1_188	P	N	N	N	N	P	N	N	N	N	8	2	N
189	F2_1_189	P	P	N	N	P	P	P	P	x	x	2	8	P
190	F2_1_190	P	P	P	P	N	x	P	P	N	P	3	7	NP
191	F2_1_191	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	9	1	N
192	F2_1_192	P	P	P	N	N	P	P	N	N	P	4	6	NP
193	F2_1_193	N	P	N	N	N	P	N	N	N	N	8	2	N
194	F2_1_194	N	P	N	x	N	x	P	N	N	P	5	3	NP
195	F2_1_195	x	P	x	N	x	P	x	P	P	P	1	5	
196	F2_1_196	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	2	8	P
197	F2_1_197	P	N	P	P	x	P	P	P	P	P	1	8	P
198	F2_1_198	x	x	P	N	N	P	x	P	P	x	2	4	
199	F2_1_199	P	P	P	P	P	x	P	P	x	x	0	9	P
200	F2_1_200	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N	8	2	N

Ek-6. Ana ebeveyn, baba ebeveyn, F₁ ve F₂ bireylerinin DNA miktar ve kaliteleri

Numara	Bitki Kodu	dsDNA	Birim	260/280	260/230	A230	A260	A280	A340
--------	------------	-------	-------	---------	---------	------	------	------	------

1	BTL_HTP_1-1	56,6	µg/mL	1,130	0,990	0,114	0,113	0,100	0,066
2	BTL_HTP_1-2	119,9	µg/mL	1,170	1,040	0,231	0,240	0,205	0,149
3	BTL_HTP_1-3	74,0	µg/mL	1,380	1,250	0,118	0,148	0,107	0,041
4	BTL_HTP_1-4	30,3	µg/mL	1,760	1,980	0,031	0,061	0,034	0,000
5	BTL_HTP_1-5	64,2	µg/mL	1,360	1,190	0,108	0,128	0,094	0,043
6	BTL_HTP_1-6	60,2	µg/mL	1,370	1,270	0,095	0,120	0,088	0,041
7	BTL_HTP_1-7	290,6	µg/mL	1,130	1,000	0,581	0,581	0,515	0,403
8	BTL_HTP_1-8	246,8	µg/mL	1,090	0,970	0,507	0,494	0,454	0,376
9	BTL_HTP_1-9	325,8	µg/mL	1,160	1,010	0,643	0,652	0,562	0,402
10	BTL_HTP_1-10	69,9	µg/mL	1,300	1,060	0,132	0,140	0,108	0,057
11	BTL_HTP_1-11	332,6	µg/mL	1,160	1,060	0,629	0,665	0,574	0,431
12	BTL_HTP_1-12	11,5	µg/mL	1,370	1,340	0,017	0,023	0,017	0,007
13	BTL_HTP_1-13	57,8	µg/mL	1,350	1,090	0,106	0,116	0,086	0,041
14	BTL_HTP_1-14	323,9	µg/mL	1,160	0,840	NaN	0,648	0,557	0,389
15	BTL_HTP_1-15	167,1	µg/mL	1,350	1,160	0,289	0,334	0,248	0,121
16	BTL_HTP_1-16	149,1	µg/mL	1,330	1,230	0,242	0,298	0,224	0,120
17	BTL_HTP_1-17	268,5	µg/mL	1,170	1,000	0,539	0,537	0,460	0,339
18	BTL_HTP_1-18	296,7	µg/mL	1,190	0,900	0,659	0,593	0,498	0,336
19	BTL_HTP_1-19	112,1	µg/mL	1,380	1,000	0,224	0,224	0,162	0,072
20	BTL_HTP_1-20	186,5	µg/mL	1,260	0,960	0,388	0,373	0,297	0,174
21	BTL_HTP_1-21	265,5	µg/mL	1,190	0,970	0,549	0,531	0,447	0,300
22	BTL_HTP_1-22	472,1	µg/mL	1,060	1,000	0,940	0,944	0,888	0,781
23	BTL_HTP_1-23	226,1	µg/mL	1,220	1,000	0,452	0,452	0,370	0,235
24	BTL_HTP_1-24	127,5	µg/mL	1,210	0,960	0,267	0,255	0,210	0,140
25	BTL_HTP_1-25	63,3	µg/mL	1,330	0,960	0,132	0,127	0,095	0,048
26	BTL_HTP_1-26	155,2	µg/mL	1,250	1,130	0,274	0,310	0,248	0,166
27	BTL_HTP_1-27	67,6	µg/mL	1,450	1,260	0,108	0,135	0,093	0,039
28	BTL_HTP_1-28	87,3	µg/mL	1,350	1,320	0,132	0,175	0,130	0,071
29	BTL_HTP_1-29	168,6	µg/mL	1,320	0,980	0,344	0,337	0,255	0,132
30	BTL_HTP_1-30	335,8	µg/mL	1,100	1,010	0,666	0,672	0,613	0,514
31	BTL_HTP_1-31	195,7	µg/mL	1,370	1,140	0,342	0,391	0,286	0,137
32	BTL_HTP_1-32	162,7	µg/mL	1,290	0,870	0,375	0,325	0,252	0,130
33	BTL_HTP_1-33	147,7	µg/mL	1,250	1,010	0,293	0,295	0,236	0,139
34	BTL_HTP_1-34	104,1	µg/mL	1,330	1,130	0,185	0,208	0,157	0,080
35	BTL_HTP_1-35	159,3	µg/mL	1,200	0,890	0,357	0,319	0,265	0,176
36	BTL_HTP_1-36	104,5	µg/mL	1,120	1,010	0,207	0,209	0,186	0,145
37	BTL_HTP_1-37	52,4	µg/mL	1,240	1,060	0,099	0,105	0,085	0,044

Ek-6 devam. Ana ebeveyn, baba ebeveyn, F₁ ve F₂ bireylerinin DNA miktar ve kaliteleri

Numara	Bitki Kodu	dsDNA	Birim	260/280	260/230	A230	A260	A280	A340
38	BTL_HTP_1-38	178,6	µg/mL	1,150	0,940	0,379	0,357	0,312	0,223
39	BTL_HTP_1-39	179,2	µg/mL	1,150	NaN	0,387	0,358	0,312	NaN
40	BTL_HTP_1-40	109,3	µg/mL	1,180	1,000	0,219	0,219	0,185	0,127
41	BTL_HTP_1-41	25,6	µg/mL	1,270	0,980	0,052	0,051	0,040	0,021
42	BTL_HTP_1-42	140,4	µg/mL	1,180	0,940	0,297	0,281	0,237	0,160
43	BTL_HTP_1-43	40,3	µg/mL	1,530	1,250	0,064	0,081	0,053	0,013
44	BTL_HTP_1-44	112,4	µg/mL	1,230	1,080	0,209	0,225	0,183	0,115
45	BTL_HTP_1-45	144,4	µg/mL	1,230	1,000	0,288	0,289	0,235	0,152
46	BTL_HTP_1-46	785,7	µg/mL	1,020	0,990	1,580	1,571	1,534	1,439
47	BTL_HTP_1-47	347,4	µg/mL	1,090	1,010	0,689	0,695	0,635	0,555
48	BTL_HTP_1-48	43,0	µg/mL	1,120	0,940	0,092	0,086	0,077	0,056
49	BTL_HTP_1-49	109,9	µg/mL	1,150	0,950	0,232	0,220	0,191	0,136
50	BTL_HTP_1-50	90,8	µg/mL	1,060	1,000	0,182	0,182	0,172	0,149
51	BTL_HTP_1-51	127,9	µg/mL	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN
52	BTL_HTP_1-52	98,0	µg/mL	1,150	1,040	0,189	0,196	0,171	0,130
53	BTL_HTP_1-53	155,2	µg/mL	1,180	1,120	0,278	0,310	0,264	0,186
54	BTL_HTP_1-54	98,5	µg/mL	1,280	1,120	0,176	0,197	0,154	0,092
55	BTL_HTP_1-55	107,8	µg/mL	1,250	1,070	0,201	0,216	0,173	0,110
56	BTL_HTP_1-56	166,4	µg/mL	1,200	1,010	0,329	0,333	0,278	0,185
57	BTL_HTP_1-57	126,4	µg/mL	1,160	1,050	0,241	0,253	0,217	0,161
58	BTL_HTP_1-58	28,1	µg/mL	1,530	1,420	0,040	0,056	0,037	0,010
59	BTL_HTP_1-59	43,6	µg/mL	1,480	NaN	0,059	0,087	0,059	NaN
60	BTL_HTP_1-60	123,7	µg/mL	1,250	1,070	0,232	0,247	0,197	0,117
61	BTL_HTP_1-61	715,3	µg/mL	1,040	1,010	1,414	1,431	1,376	1,228
62	BTL_HTP_1-62	105,1	µg/mL	1,290	1,040	0,203	0,210	0,162	0,086
63	BTL_HTP_1-63	1267,9	µg/mL	1,040	NaN	NaN	2,536	2,431	2,289
64	BTL_HTP_1-64	81,9	µg/mL	1,420	1,250	0,131	0,164	0,115	0,049
65	BTL_HTP_1-65	169,3	µg/mL	1,440	1,320	0,257	0,339	0,236	0,088
66	BTL_HTP_1-66	282,9	µg/mL	1,220	1,050	0,537	0,566	0,465	0,301
67	BTL_HTP_1-67	456,5	µg/mL	1,140	1,030	0,886	0,913	0,803	0,606
68	BTL_HTP_1-68	171,3	µg/mL	1,230	1,030	0,333	0,343	0,278	0,173
69	BTL_HTP_1-69	281,7	µg/mL	1,180	1,040	0,540	0,563	0,477	0,335
70	BTL_HTP_1-70	200,6	µg/mL	1,190	0,990	0,405	0,401	0,338	0,233
71	BTL_HTP_1-71	106,8	µg/mL	1,300	1,060	0,202	0,214	0,164	0,091
72	BTL_HTP_1-72	149,4	µg/mL	1,310	1,060	0,281	0,299	0,228	0,125
73	BTL_HTP_1-73	244,1	µg/mL	1,220	0,890	0,549	0,488	0,399	0,245

Ek-6 devam. Ana ebeveyn, baba ebeveyn, F₁ ve F₂ bireylerinin DNA miktar ve kaliteleri

Numara	Bitki Kodu	dsDNA	Birim	260/280	260/230	A230	A260	A280	A340
74	BTL_HTP_1-74	431,9	µg/mL	1,060	1,040	0,832	0,864	0,818	0,714
75	BTL_HTP_1-75	279,5	µg/mL	1,250	0,950	NaN	0,559	0,446	0,265
76	BTL_HTP_1-76	751,7	µg/mL	1,080	1,000	1,511	1,503	1,388	1,169
77	BTL_HTP_1-77	70,1	µg/mL	1,720	1,570	0,090	0,140	0,082	0,007
78	BTL_HTP_1-78	84,8	µg/mL	1,560	1,390	0,122	0,170	0,109	0,030
79	BTL_HTP_1-79	217,9	µg/mL	1,290	1,040	0,420	0,436	0,337	0,189
80	BTL_HTP_1-80	71,0	µg/mL	1,560	1,420	0,100	0,142	0,091	0,025
81	BTL_HTP_1-81	331,1	µg/mL	1,220	0,910	0,731	0,662	0,544	0,342
82	BTL_HTP_1-82	88,5	µg/mL	1,300	1,220	0,145	0,177	0,136	0,064
83	BTL_HTP_1-83	149,8	µg/mL	1,240	1,100	0,271	0,300	0,242	0,158
84	BTL_HTP_1-84	93,6	µg/mL	1,260	1,060	0,177	0,187	0,149	0,092
85	BTL_HTP_1-85	771,2	µg/mL	1,080	0,960	1,606	1,542	1,432	1,196
86	BTL_HTP_1-86	88,3	µg/mL	1,090	0,870	0,202	0,177	0,162	0,136
87	BTL_HTP_1-87	54,1	µg/mL	1,600	1,210	0,089	NaN	0,068	0,013
88	BTL_HTP_1-88	286,8	µg/mL	1,160	0,960	0,596	0,574	0,496	0,362
89	BTL_HTP_1-89	178,3	µg/mL	1,300	1,090	0,328	0,357	0,275	0,162
90	BTL_HTP_1-90	284,4	µg/mL	1,330	1,040	0,548	0,569	0,429	0,223
91	BTL_HTP_1-91	191,8	µg/mL	1,300	1,080	0,354	0,384	0,296	0,167
92	BTL_HTP_1-92	342,0	µg/mL	1,190	0,960	0,710	0,684	0,575	0,393
93	BTL_HTP_1-93	179,1	µg/mL	1,200	1,020	0,351	0,358	0,298	0,199
94	BTL_HTP_1-94	268,9	µg/mL	1,220	0,950	0,566	0,538	0,439	0,282
95	BTL_HTP_1-95	472,8	µg/mL	1,110	0,970	0,973	0,946	0,850	0,679
96	BTL_HTP_1-96	53,1	µg/mL	1,560	1,390	0,076	0,106	0,068	0,020
97	BTL_HTP_1-97	35,4	µg/mL	1,250	1,020	0,070	0,071	0,057	0,036
98	BTL_HTP_1-98	198,6	µg/mL	1,210	0,970	0,411	0,397	0,330	0,218
99	BTL_HTP_1-99	114,1	µg/mL	1,090	0,940	0,243	0,228	0,209	0,177
100	BTL_HTP_1-100	195,9	µg/mL	1,090	1,030	0,380	0,392	0,361	0,317
101	BTL_HTP_1-101	277,7	µg/mL	1,100	1,050	0,527	0,555	0,506	0,419
102	BTL_HTP_1-102	294,2	µg/mL	1,080	1,020	0,577	0,588	0,543	0,474
103	BTL_HTP_1-103	277,9	µg/mL	1,110	0,970	0,574	0,556	0,500	0,413
104	BTL_HTP_1-104	334,2	µg/mL	1,160	1,030	0,648	0,668	0,576	0,436
105	BTL_HTP_1-105	207,5	µg/mL	1,150	1,060	0,393	0,415	0,361	0,278
106	BTL_HTP_1-106	58,8	µg/mL	1,530	1,370	0,086	0,118	0,077	0,027
107	BTL_HTP_1-107	170,8	µg/mL	1,170	1,040	0,328	0,342	0,293	0,213
108	BTL_HTP_1-108	35,1	µg/mL	1,640	1,180	0,060	0,070	0,043	0,006
109	BTL_HTP_1-109	58,3	µg/mL	1,240	0,990	0,118	0,117	0,094	0,061

Ek-6 devam. Ana ebeveyn, baba ebeveyn, F₁ ve F₂ bireylerinin DNA miktar ve kaliteleri

Numara	Bitki Kodu	dsDNA	Birim	260/280	260/230	A230	A260	A280	A340
110	BTL_HTP_1-110	101,0	µg/mL	1,360	1,060	0,191	0,202	0,148	0,079
111	BTL_HTP_1-111	262,9	µg/mL	1,210	0,940	0,557	0,526	0,436	0,290
112	BTL_HTP_1-112	63,8	µg/mL	1,430	0,980	0,131	0,128	0,089	0,038
113	BTL_HTP_1-113	180,4	µg/mL	1,270	1,000	0,360	0,361	0,284	0,179
114	BTL_HTP_1-114	218,4	µg/mL	1,210	1,020	0,427	0,437	0,360	0,252
115	BTL_HTP_1-115	249,8	µg/mL	1,170	1,010	0,495	0,500	0,429	0,322
116	BTL_HTP_1-116	267,6	µg/mL	1,150	0,940	0,571	0,535	0,466	0,354
117	BTL_HTP_1-117	202,8	µg/mL	1,260	0,960	0,424	0,406	0,323	0,197
118	BTL_HTP_1-118	139,6	µg/mL	1,230	1,010	0,276	0,279	0,228	0,160
119	BTL_HTP_1-119	156,9	µg/mL	1,230	1,000	0,313	0,314	0,256	0,171
120	BTL_HTP_1-120	111,8	µg/mL	1,220	1,050	0,214	0,224	0,184	0,125
121	BTL_HTP_1-121	201,5	µg/mL	1,160	0,980	0,411	0,403	0,348	0,269
122	BTL_HTP_1-122	340,3	µg/mL	1,080	1,020	0,664	0,681	0,630	0,534
123	BTL_HTP_1-123	68,5	µg/mL	1,610	1,200	0,114	0,137	0,085	0,019
124	BTL_HTP_1-124	191,2	µg/mL	1,140	1,000	0,384	0,382	0,336	0,265
125	BTL_HTP_1-125	151,5	µg/mL	1,270	1,000	0,304	0,303	0,239	0,147
126	BTL_HTP_1-126	120,0	µg/mL	1,380	1,150	0,208	0,240	0,174	0,086
127	BTL_HTP_1-127	136,6	µg/mL	1,370	1,100	0,249	0,273	0,199	0,102
128	BTL_HTP_1-128	59,5	µg/mL	1,640	1,260	0,095	0,119	0,072	0,020
129	BTL_HTP_1-129	138,3	µg/mL	1,380	1,190	0,233	0,277	0,201	0,103
130	BTL_HTP_1-130	563,4	µg/mL	1,060	1,000	1,130	1,127	1,062	0,929
131	BTL_HTP_1-131	798,7	µg/mL	1,030	1,040	1,541	1,597	1,554	1,449
132	BTL_HTP_1-132	377,8	µg/mL	1,060	1,010	0,747	0,756	0,710	0,624
133	BTL_HTP_1-133	155,6	µg/mL	1,270	1,010	0,309	0,311	0,246	0,153
134	BTL_HTP_1-134	99,5	µg/mL	1,250	0,970	0,206	0,199	0,160	0,110
135	BTL_HTP_1-135	130,6	µg/mL	1,200	1,050	0,249	0,261	0,218	0,150
136	BTL_HTP_1-136	385,9	µg/mL	1,050	1,020	0,760	0,772	0,732	0,644
137	BTL_HTP_1-137	128,0	µg/mL	1,230	1,040	0,246	0,256	0,208	0,138
138	BTL_HTP_1-138	149,2	µg/mL	1,200	0,990	0,300	0,298	0,250	0,181
139	BTL_HTP_1-139	74,6	µg/mL	1,370	1,130	0,132	0,149	0,109	0,058
140	BTL_HTP_1-140	1122,8	µg/mL	1,020	1,030	2,186	2,246	2,195	2,129
141	BTL_HTP_1-141	119,8	µg/mL	1,230	1,010	0,238	0,240	0,195	0,133
142	BTL_HTP_1-142	84,2	µg/mL	1,260	1,050	0,160	0,168	0,134	0,088
143	BTL_HTP_1-143	176,1	µg/mL	1,150	1,000	0,354	0,352	0,307	0,238
144	BTL_HTP_1-144	89,6	µg/mL	1,150	1,220	0,127	0,155	0,110	0,051
145	BTL_HTP_1-145	19,4	µg/mL	1,410	0,980	0,039	0,039	0,028	0,015

Ek-6 devam. Ana ebeveyn, baba ebeveyn, F₁ ve F₂ bireylerinin DNA miktar ve kaliteleri

Numara	Bitki Kodu	dsDNA	Birim	260/280	260/230	A230	A260	A280	A340
146	BTL_HTP_1-146	30,6	µg/mL	1,670	1,080	0,057	0,061	0,037	0,003
147	BTL_HTP_1-147	197,7	µg/mL	1,190	0,910	0,434	0,395	0,331	0,243
148	BTL_HTP_1-148	18,8	µg/mL	4,700	1,100	0,034	0,038	0,008	-0,022
149	BTL_HTP_1-149	52,5	µg/mL	NaN	1,370	0,008	NaN	-0,011	-0,029
150	BTL_HTP_1-150	118,3	µg/mL	3,270	1,240	0,030	0,037	0,011	-0,008
151	BTL_HTP_1-151	119,1	µg/mL	NaN	NaN	-0,013	0,018	-0,011	-0,037
152	BTL_HTP_1-152	74,9	µg/mL	1,320	0,990	0,151	0,150	0,114	0,071
153	BTL_HTP_1-153	77,7	µg/mL	1,410	1,220	0,127	0,155	0,110	0,051
154	BTL_HTP_1-154	60,6	µg/mL	1,900	1,790	0,068	0,121	0,064	0,000
155	BTL_HTP_1-155	72,5	µg/mL	NaN	NaN	-0,009	0,005	NaN	NaN
156	BTL_HTP_1-156	120,5	µg/mL	NaN	NaN	-0,013	0,001	-0,015	-0,030
157	BTL_HTP_1-157	35,4	µg/mL	1,520	1,030	0,069	0,071	0,047	0,021
158	BTL_HTP_1-158	34,9	µg/mL	2,780	1,960	0,036	0,070	0,025	-0,020
159	BTL_HTP_1-159	31,7	µg/mL	1,850	1,030	0,061	0,063	0,034	0,001
160	BTL_HTP_1-160	46,8	µg/mL	1,820	1,540	0,060	0,092	0,051	0,007
161	BTL_HTP_1-161	66,8	µg/mL	1,570	1,210	0,110	0,134	0,085	0,036
162	BTL_HTP_1-162	46,3	µg/mL	2,980	1,900	0,049	0,093	0,031	-0,030
163	BTL_HTP_1-163	25,3	µg/mL	2,570	1,210	0,042	0,051	0,020	-0,011
164	BTL_HTP_1-164	35,9	µg/mL	1,980	1,550	0,046	0,072	0,036	0,000
165	BTL_HTP_1-165	146,8	µg/mL	1,130	1,110	0,265	0,294	0,259	0,229
166	BTL_HTP_1-166	22,0	µg/mL	8,810	NaN	0,000	0,044	0,005	-0,030
167	BTL_HTP_1-167	31,6	µg/mL	2,030	1,790	0,035	0,063	0,031	0,000
168	BTL_HTP_1-168	120,4	µg/mL	NaN	NaN	-0,021	0,000	-0,024	-0,043
169	BTL_HTP_1-169	111,4	µg/mL	NaN	0,730	0,031	0,023	-0,009	-0,040
170	BTL_HTP_1-170	122,2	µg/mL	22,100	5,540	0,008	0,044	0,002	-0,032
171	BTL_HTP_1-171	58,6	µg/mL	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN
172	BTL_HTP_1-172	79,8	µg/mL	1,770	1,620	0,099	0,160	0,090	0,017
173	BTL_HTP_1-173	35,9	µg/mL	3,780	1,030	0,070	0,072	0,019	-0,036
174	BTL_HTP_1-174	67,9	µg/mL	2,460	1,500	0,090	0,136	0,055	-0,030
175	BTL_HTP_1-175	52,8	µg/mL	3,170	2,200	0,048	0,106	0,033	-0,043
176	BTL_HTP_1-176	96,6	µg/mL	1,340	1,300	0,149	0,193	0,144	0,095
177	BTL_HTP_1-177	42,1	µg/mL	3,440	4,150	0,020	0,084	0,024	-0,039
178	BTL_HTP_1-178	30,2	µg/mL	2,700	4,000	0,015	0,060	0,022	-0,016
179	BTL_HTP_1-179	28,1	µg/mL	8,030	28,000	0,002	0,056	0,007	-0,040
180	BTL_HTP_1-180	130,5	µg/mL	NaN	NaN	-0,012	-0,001	-0,027	-0,046
181	BTL_HTP_1-181	59,7	µg/mL	1,880	1,310	0,091	0,119	0,064	0,000

Ek-6 devam. Ana ebeveyn, baba ebeveyn, F₁ ve F₂ bireylerinin DNA miktar ve kaliteleri

Numara	Bitki Kodu	dsDNA	Birim	260/280	260/230	A230	A260	A280	A340
182	BTL_HTP_1-182	27,0	µg/mL	2,870	1,210	0,044	0,054	0,019	-0,015
183	BTL_HTP_1-183	34,9	µg/mL	3,780	1,300	0,054	0,070	0,018	-0,033
184	BTL_HTP_1-184	69,4	µg/mL	1,730	0,910	0,153	0,139	0,080	0,006
185	BTL_HTP_1-185	62,4	µg/mL	1,840	1,480	0,085	0,125	0,068	0,001
186	BTL_HTP_1-186	68,1	µg/mL	1,690	1,120	0,121	0,136	0,080	0,017
187	BTL_HTP_1-187	34,5	µg/mL	2,150	1,020	0,067	0,069	0,032	-0,007
188	BTL_HTP_1-188	94,1	µg/mL	1,520	1,160	0,162	0,188	0,124	0,043
189	BTL_HTP_1-189	211,9	µg/mL	1,410	1,120	0,377	0,424	0,300	0,124
190	BTL_HTP_1-190	108,3	µg/mL	1,660	1,350	0,161	0,217	0,130	0,025
191	BTL_HTP_1-191	99,3	µg/mL	1,460	1,120	0,177	NaN	0,136	0,052
192	BTL_HTP_1-192	201,8	µg/mL	1,160	1,030	0,393	0,404	0,347	0,281
193	BTL_HTP_1-193	44,8	µg/mL	NaN	NaN	0,077	0,090	NaN	NaN
194	BTL_HTP_1-194	89,1	µg/mL	1,970	1,690	0,105	NaN	0,090	-0,012
195	BTL_HTP_1-195	88,5	µg/mL	1,620	NaN	0,162	0,177	0,109	NaN
196	BTL_HTP_1-196	129,4	µg/mL	1,670	1,460	0,177	0,259	0,155	0,033
197	BTL_HTP_1-197	172,7	µg/mL	1,240	0,640	0,543	0,345	0,279	0,119
198	BTL_HTP_1-198	50,5	µg/mL	1,320	1,010	0,100	0,101	0,076	0,046
199	BTL_HTP_1-199	76,5	µg/mL	1,680	1,240	0,123	0,153	0,091	0,014
200	BTL_HTP_1-200	171,9	µg/mL	1,190	1,020	0,339	0,344	0,289	0,205

Ek-7. Ana ebeveyn, baba ebeveyn, F₁ ve F₂ bireylerinin fenotipik ve genotipik karakterizasyon kıyaslaması.

		Fenotipik Karakterizasyon	Genotipik Karekterizasyon
--	--	---------------------------	---------------------------

TEST SIRASI	BİTKİ NUMARASI	Negatif	Pozitif		
1	ANA EBEVEYN	10	0	N	0
2	BABA EBEVEYN	0	10	P	1
3	F2_1_1	7	3	NP	1
4	F2_1_2	1	9	P	0
5	F2_1_3	3	7	NP	1
6	F2_1_4	8	2	N	0
7	F2_1_5	8	2	N	0
8	F2_1_6	0	1		
9	F2_1_7	6	4	NP	1
10	F2_1_8	1	9	P	1
11	F2_1_9	1	9	P	1
12	F2_1_10	7	3	NP	1
13	F2_1_11	1	9	P	1
14	F2_1_12	4	6	NP	0
15	F2_1_13	8	2	N	0
16	F2_1_14	2	7	P	1
17	F2_1_15	3	7	NP	1
18	F2_1_16	6	4	NP	1
19	F2_1_17	4	6	NP	1
20	F2_1_18	0	10	P	1
21	F2_1_19	3	6	NP	1
22	F2_1_20	3	7	NP	1
23	F2_1_21	4	6	NP	0
24	F2_1_22	3	6	NP	1
25	F2_1_23	4	6	NP	1
26	F2_1_24	5	4	NP	1
27	F2_1_25	3	7	NP	1
28	F2_1_26	3	6	NP	1
29	F2_1_27	0	9	P	1
30	F2_1_28	8	1	N	1
31	F2_1_29	5	5	NP	1
32	F2_1_30	8	2	N	0
33	F2_1_31	5	4	NP	1
34	F2_1_32	9	1	N	0
35	F2_1_33	8	0	N	0
36	F2_1_34	9	1	N	0
37	F2_1_35	4	6	NP	1
38	F2_1_36	5	4	NP	1
39	F2_1_37	8	2	N	0
40	F2_1_38	6	4	NP	1

Ek-7 devam. Ana ebeveyn, baba ebeveyn, F₁ ve F₂ bireylerinin fenotipik ve genotipik karakterizasyon kıyaslaması.

		Fenotipik Karakterizasyon			Genotipik Karakterizasyon
		Negatif	Pozitif		
TEST SIRASI	BİTKİ NUMARASI				
41	F2_1_39	0	10	P	1
42	F2_1_40	0	8	P	1
43	F2_1_41	0	10	P	1
44	F2_1_42	5	5	NP	1
45	F2_1_43	3	7	NP	1
46	F2_1_44	0	10	P	1
47	F2_1_45	3	7	NP	1
48	F2_1_46	3	6	NP	1
49	F2_1_47	5	5	NP	1
50	F2_1_48	8	2	N	0
51	F2_1_49	9	1	N	1
52	F2_1_50	10	0	N	0
53	F2_1_51	5	4	NP	0
54	F2_1_52	2	0		
55	F2_1_53	8	0	N	0
56	F2_1_54	7	1	N	0
57	F2_1_55	9	1	N	0
58	F2_1_56	8	2	N	0
59	F2_1_57	6	1	N	0
60	F2_1_58	3	3		
61	F2_1_59	5	4	NP	1
62	F2_1_60	3	4		
63	F2_1_61	9	1	N	0
64	F2_1_62	3	7	NP	1
65	F2_1_63	4	2		
66	F2_1_64	10	0	N	0
67	F2_1_65	9	1	N	0
68	F2_1_66	5	5	NP	1
69	F2_1_67	8	1	N	0
70	F2_1_68	9	0	N	0
71	F2_1_69	0	10	P	1
72	F2_1_70	0	10	P	1
73	F2_1_71	3	7	NP	1
74	F2_1_72	10	0	N	0

Ek-7 devam. Ana ebeveyn, baba ebeveyn, F₁ ve F₂ bireylerinin fenotipik ve genotipik karakterizasyon kıyaslaması.

		Fenotipik Karakterizasyon			Genotipik Karakterizasyon
		Negatif	Pozitif		
TEST SIRASI	BİTKİ NUMARASI				
75	F2_1_73	3	7	NP	1
76	F2_1_74	1	9	P	1
77	F2_1_75	3	7	NP	1
78	F2_1_76	0	10	P	0
79	F2_1_77	8	0	N	0
80	F2_1_78	2	8	P	1
81	F2_1_79	4	6	NP	1
82	F2_1_80	5	5	NP	1
83	F2_1_81	0	9	P	1
84	F2_1_82	0	9	P	1
85	F2_1_83	5	4	NP	1
86	F2_1_84	8	2	N	0
87	F2_1_85	5	3	NP	1
88	F2_1_86	0	8	P	1
89	F2_1_87	2	8	P	1
90	F2_1_88	1	8	P	0
91	F2_1_89	2	4		
92	F2_1_90	0	7	P	1
93	F2_1_91	8	2	N	0
94	F2_1_92	2	7	NP	1
95	F2_1_93	4	5	NP	1
96	F2_1_94	1	8	P	1
97	F2_1_95	0	10	P	1
98	F2_1_96	0	9	P	1
99	F2_1_97	0	9	P	1
100	F2_1_98	0	9	P	1
101	F2_1_99	0	9	P	1
102	F2_1_100	0	10	P	1
103	F2_1_101	0	10	P	1
104	F2_1_102	0	9	P	1
105	F2_1_103	0	9	P	1
106	F2_1_104	0	7	P	1
107	F2_1_105	0	9	P	0
108	F2_1_106	1	8	P	1

Ek-7 devam. Ana ebeveyn, baba ebeveyn, F₁ ve F₂ bireylerinin fenotipik ve genotipik karakterizasyon kıyaslaması.

		Fenotipik Karakterizasyon			Genotipik Karakterizasyon
		Negatif	Pozitif		
TEST SIRASI	BİTKİ NUMARASI				
109	F2_1_107	3	7	NP	1
110	F2_1_108	0	10	P	0
111	F2_1_109	3	4	NP	1
112	F2_1_110	2	5	NP	1
113	F2_1_111	4	6	NP	1
114	F2_1_112	3	5	NP	1
115	F2_1_113	2	5	NP	1
116	F2_1_114	2	6	NP	1
117	F2_1_115	3	7	NP	1
118	F2_1_116	8	2	N	0
119	F2_1_117	2	3	NP	1
120	F2_1_118	2	8	NP	1
121	F2_1_119	10	0	N	0
122	F2_1_120	0	7	P	1
123	F2_1_121	3	7	NP	0
124	F2_1_122	5	5	NP	1
125	F2_1_123	5	3	NP	1
126	F2_1_124	3	7	NP	1
127	F2_1_125	3	7	NP	0
128	F2_1_126	3	7	NP	1
129	F2_1_127	4	4	NP	1
130	F2_1_128	2	0		
131	F2_1_129	5	4	NP	1
132	F2_1_130	7	2	N	0
133	F2_1_131	7	1	N	0
134	F2_1_132	8	2	N	0
135	F2_1_133	4	6	NP	1
136	F2_1_134	8	2	N	0
137	F2_1_135	4	6	NP	1
138	F2_1_136	5	5	NP	1
139	F2_1_137	9	1	N	0
140	F2_1_138	4	6	NP	1
141	F2_1_139	4	6	NP	1
142	F2_1_140	3	7	NP	1

Ek-7 devam. Ana ebeveyn, baba ebeveyn, F₁ ve F₂ bireylerinin fenotipik ve genotipik karakterizasyon kıyaslaması.

		Fenotipik Karakterizasyon			Genotipik Karakterizasyon
		Negatif	Pozitif		
TEST SİRASI	BİTKİ NUMARASI				
143	F2_1_141	3	7	NP	1
144	F2_1_142	5	5	NP	1
145	F2_1_143	5	3	NP	1
146	F2_1_144	3	6	NP	1
147	F2_1_145	3	7	NP	1
148	F2_1_146	3	7	NP	1
149	F2_1_147	4	4	NP	1
150	F2_1_148	2	0		
151	F2_1_149	9	1	N	0
152	F2_1_150	1	9	P	0
153	F2_1_151	4	6	NP	1
154	F2_1_152	8	2	N	0
155	F2_1_153	2	6		
156	F2_1_154	9	1	N	0
157	F2_1_155	9	1	N	0
158	F2_1_156	3	3	NP	1
159	F2_1_157	6	4	NP	1
160	F2_1_158	1	9	P	1
161	F2_1_159	1	9	P	1
162	F2_1_160	8	2	N	0
163	F2_1_161	1	9	P	1
164	F2_1_162	4	6	NP	1
165	F2_1_163	2	8	P	1
166	F2_1_164	5	4	NP	0
167	F2_1_165	6	4	NP	1
168	F2_1_166	5	3	NP	1
169	F2_1_167	1	5		
170	F2_1_168	3	7	NP	1
171	F2_1_169	1	8	P	1
172	F2_1_170	2	4		
173	F2_1_171	0	7	NP	1
174	F2_1_172	8	2	N	0
175	F2_1_173	3	6	NP	1
176	F2_1_174	4	5	NP	1

Ek-7 devam. Ana ebeveyn, baba ebeveyn, F₁ ve F₂ bireylerinin fenotipik ve genotipik karakterizasyon kıyaslaması.

		Fenotipik Karakterizasyon			Genotipik Karakterizasyon
		Negatif	Pozitif		
TEST SIRASI	BİTKİ NUMARASI				
177	F2_1_175	1	8	P	1
178	F2_1_176	3	7	NP	1
179	F2_1_177	5	5	NP	1
180	F2_1_178	5	3	NP	1
181	F2_1_179	2	8	P	1
182	F2_1_180	3	7	NP	1
183	F2_1_181	3	7	NP	1
184	F2_1_182	4	4	NP	1
185	F2_1_183	2	0		
186	F2_1_184	5	4	NP	1
187	F2_1_185	8	2	N	0
188	F2_1_186	1	9	P	1
189	F2_1_187	4	6	NP	1
190	F2_1_188	8	2	N	0
191	F2_1_189	2	8	P	1
192	F2_1_190	3	7	NP	1
193	F2_1_191	9	1	N	0
194	F2_1_192	4	6	NP	1
195	F2_1_193	8	2	N	0
196	F2_1_194	5	3	NP	1
197	F2_1_195	1	5		
198	F2_1_196	2	8	P	1
199	F2_1_197	1	8	P	1
200	F2_1_198	2	4		
201	F2_1_199	0	9	P	1
202	F2_1_200	8	2	N	0

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Hasan Özgür Şığva
Doğum Yeri ve Tarihi : Gaziantep/1978
Yabancı Dili : İngilizce
Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)
Lise : Gaziantep Cumhuriyet Lisesi/1994
Lisans : Ege Üniversitesi/2004
Yüksek Lisans : İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü/2008
Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü/2005-2009
MAY Agro Tohumculuk San. Tic. A.Ş./2009-....
İletişim (e-posta) : hasansigva@gmail.com
Yayınları :

Frary, A., Sigva, H.O., Tan, A., Taskin, T., Inal, A., Mutlu, S., Haytaoglu, M., Doganlar, S. 2013. Molecular genetic diversity in the Turkish national melon collection and selection of a preliminary core set. *J AmerSocHortSci.*, 138:50-56.

Selale, H., Sigva, H.O., Celik, I., Doganlar, S., Frary, A. 2012. Water-soluble antioxidant potential of melon lines grown in Turkey. *Inter J Food Prop.*, 15:145-156.

Okmen, B., Sigva, H.O., Gurbuz, N., Ulger, M., Frary, A., Doganlar, S. 2011. **Quantitative** trait loci (QTL) analysis for antioxidant and agronomically important traits in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Turk J Agric Forest.*, 35:501-514.

Frary, A., Göl, D., Keleş, D., Ökmen, B., Pınar, H., Şığva, H.O., Yemenicioğlu, A., Doğanlar, S. 2010. Salt tolerance in *Solanum pennellii*: antioxidant response and related QTL. *BMC Plant Biology*, 10:58.

Okmen, B., Sigva, H.O., Mutlu, S., Doganlar, S., Yemenicioğlu, A., Frary, A. 2009. Total antioxidant activity and total phenolic contents in different Turkish eggplant (*Solanum melongena* L.) cultivars. *Inter J of Food Prop.*, 12:616-624.

Sigva, H.O., Secmen, O. 2009. Ethnobotanic Survey of Işklı (Çarpın), Dağdancık and Tokdemir in Gaziantep, Turkey, *IUFS Journal of Biology*, 68: 19-27

Frary, A., Keceli, M.A., Okmen, B., Sigva, H.O., Yemenicioğlu, A., Doganlar, S. 2008. Water soluble antioxidant potential of Turkish pepper cultivars. *Hortscience*, 43:631-636