

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

**FARKLI BESİ ORTAMI ve IŞIN DOZU UYGULAMALARININ GALIA VE
KIRKAĞAÇ KAVUN (*Cucumis melo* L.) GENOTİPLERİNDE HAPLOİD
EMBRIYO ELDESİ VE BİTKİ OLUŞUMUNA ETKİSİ**

Fatma Burcu ÇELİKLİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

2016

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

**FARKLI BESİ ORTAMI ve IŞIN DOZU UYGULAMALARININ GALIA VE
KIRKAĞAÇ KAVUN (*Cucumis melo* L.) GENOTİPLERİNDE HAPLOİD
EMBRYO ELDESİ VE BİTKİ OLUŞUMUNA ETKİSİ**

Fatma Burcu ÇELİKLİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FYL-2015-262 kodlu proje ile desteklenmiştir.

2016

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

**FARKLI BESİ ORTAMI ve IŞIN DOZU UYGULAMALARININ GALIA VE
KIRKAĞAÇ KAVUN (*Cucumis melo* L.) GENOTİPLERİNDE HAPLOİD
EMBRIYO ELDESİ VE BİTKİ OLUŞUMUNA ETKİSİ**

Fatma Burcu ÇELİKLİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

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

Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Ahmet BALKAYA

Prof. Dr. Ersin POLAT

ÖZET

FARKLI BESİ ORTAMI ve IŞIN DOZU UYGULAMALARININ GALIA VE KIRKAĞAÇ KAVUN (*Cucumis melo* L.) GENOTİPLERİNDE HAPLOİD EMBRİYO ELDESİ VE BİTKİ OLUŞUMUNA ETKİSİ

Fatma Burcu ÇELİKLİ

Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilimi Dalı

Danışman: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Haziran 2016, 57 sayfa

Bitki ıslahında haploid bitki kullanımı ıslah süresini kısaltmada ve kısa zamanda %100 homozigot bitki elde etmede önemli bir yaklaşımdır. Bu çalışmada Galia ve Kırkağaç kavun (*Cucumis melo* L.) ıslah genotiplerinde üç farklı besî ortamı kombinasyonu ve üç farklı ışın dozunun ıslanmış polen ile tozlanarak partenogenesis yolu ile embriyo ve haploid bitki oluşumu üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada; Galia tipinden K-7, K-12 ve K-13; Kırkağaç tipinden ise K-17 genotipleri kullanılmıştır. Araştırma Kuzey Agripark Bitki, Araştırma ve Biyolojik Mücadele San. ve Tic. Ltd. Şti. istasyonunda 2015-2016 yılları arasında gerçekleşmiştir.

Galia ve Kırkağaç kavun tiplerinin ortalama tohum sayısı bakımından karşılaştırıldığında; Galia genotiplerinde tohum sayısı daha fazla çıkmıştır. Ayrıca 350 Gy ışın dozu uygulamasında kullanılan genotiplerde azalma gözlenmiştir. 300 Gy ışın dozu uygulaması ortalama tohum sayısı her iki kavun tipinde de en yüksek düzeyde bulunmuştur. Araştırmada kavunda haploid embriyo ve embriyodan gelişen bitkiler için en uygun ışın dozu, 300 Gy olarak belirlenmiştir.

Bulgularımıza göre haploid embriyo eldesi ve embriyodan bitkiye dönüşüm genotipe, ışın dozuna ve besî ortamına bağlı olmakla beraber değişiklikler gösterebilmektedir. En yüksek embriyo yüzdesi ve en yüksek bitki sayısı Galia tipinde 300 Gy ışın dozu uygulanan ve MS besî ortamında gelişen grupta gözlenmiştir. Haploid bitki elde etmek için 300 Gy ışın dozu ve MS besî ortamı kullanılması tavsiye edilebilir.

ANAHTAR KELİMELEER: Kavun, *Cucumis melo* L., ıslanmış Polen, Partenogenesis, Haploid

JÜRİ: Prof. Dr. A. Naci ONUS (Danışman)

Prof. Dr. Ahmet BALKAYA

Prof. Dr. Ersin POLAT

ABSTRACT

EFFECT OF DIFFERENT NUTRIENT MEDIA AND IRRADIATION DOSES ON HAPLOID EMBRIO AND PLANT FORMATION IN GALIA AND KIRKAGAC MELON (*Cucumis melo* L.) GENOTYPES

Fatma Burcu ÇELİKLİ

MSc Thesis in Horticulture Department

Supervisor: Prof. Dr. A. Naci ONUS

June 2016, page 57

Use of haploid plants in shortening the breeding period and obtaining 100% homozygote plants in short time are important tools in plant breeding. In this research, the effects of combinations of three different media and three different pollen irradiation doses on embryo and haploid plant obtention in Galia and Kırkağaç melon types were investigated. In the study K-7, K-12 and K-13 genotypes from Galia type; K-17 genotype from Kırkagac type of Kuzey Agripark Company were used and this research was carried out Kuzey Agripark Company Greenhouses in 2015-2016 years.

Comparasion of the melon types in terms of the average seed number, Galia types gave better results than the Kırkağaç type. Besides, 350 Gy pollen irradiation doses decreased the number of seeds obtained. The best irradiation dose was found as 300 Gy in terms of average seeds number for both melon types. Likewise 300 Gy dose gave better results on embryo and plant growing from embryo.

According to the results, obtaining haploid embryo and conversion of embryo to plant depend on irradiation dose and medium. The highest percentage of embryos and plant were found in Galia type melon irradiated with 300 Gy. Therefore, the use of 300 Gy irradiation dose and MS nutrient media for obtaining haploid plant is recommended for further studies.

KEYWORDS: Melon, *Cucumis melo* L., Irradiated pollen, Parthenogenesis, Haploid

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

Prof. Dr. Ahmet BALKAYA

Prof. Dr. Ersin POLAT

ÖNSÖZ

Günümüzdeki en önemli sorunlardan biri olan açlık dünya nüfusunun artışına paralel olarak ilerlemektedir. Açlık sorununun önüne geçebilmek için üretimin ve birim alandan elde edilen verimin artırılması gerekmektedir. Kullanılan kimyasal gübre ve ilaçlar üretim etkinliğini bir nebze olsun artırabilmekte fakat gelecekte artan nüfusun taleplerini karşılamada bir adım olarak görülmemektedir.

Bitkilerin istenilen özellik, verim ve kalitede yetiştirilmesine olanak sağlayan iyileştirme yöntemi olan bitki ıslahı, modern tekniklerin kullanılmasıyla hem verim artışına hem de yeni çeşitlerin geliştirilip piyasaya sürülmesine olanak sağlamaktadır.

Klasik ıslah yönteminde, yabancı döllen türlerde heterozigoti oranı çok yüksek olduğundan, bunlarda homozigot hatların elde edilmesi için 10-12 generasyon boyunca kendilemeler yapmak gerekmekte ve süreç çok uzamakta ayrıca saflaştırma %100 olamamaktadır. Haploidler modern ıslah programlarının önemli bir basamağıdır. Araştırmacılar doublehaploidizasyon yöntemi ile önce haploid bitki elde edip sonra tohum alabilmek için bu bitkilerin kromozom sayılarını katlayarak bu süreci kısaltma ve %100 homozigot bireyler elde etme imkanı bulmaktadır.

Bu amaçla yürüttüğümüz bu çalışma, kavun ıslahı yapan işletmelere fayda sağlamış olacak ve bilim dünyasına büyük katkı sağlayacaktır. Sürekli mutasyona uğrayarak direnç kazanan hastalık ve zararlılarla yarışabilecek pozisyona gelinip, kavun çeşitlerinde tüketicinin değişen isteklerine cevap verilecektir. Yaptığım bu çalışmanın Kırkağaç ve Galia kavun genotipleri için uygun ışın dozu ve besi ortamı kombinasyonlarının haploid embriyo ve bitki eldesinde yardımcı bilgiler sunarak elde edilen bulguların diğer ürünlerle haploid konusunda yapılacak olan çalışmalara katkı sağlamasını ve temel oluşturmasını dilerim.

Tez konumun belirlenmesinde beni yönlendiren, her aşamasında her türlü olanağı sağlayan, bana bu araştırma konusunda yüksek lisans yapma imkânı veren, hocam olmasının yanı sıra manevi babam olan çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. A. Naci ONUS'a,

Tezimin savunulmasındaki katkılarından dolayı değerli jüri üyeleri Sayın Prof. Dr. A. Naci ONUS'a, Sayın Prof. Dr. Ahmet BALKAYA'a, Sayın Prof. Dr. Ersin POLAT'a, Sayın Prof. Dr. Nurgül ERCAN'a ve Sayın Prof. Dr. İbrahim DEMİR'e,

Tez çalışmam süresince beni her konuda destekleyen ve hiçbir yardımı esirgemeyen, tezimin planlanması, yürütülmesi ve sonuçlarının değerlendirilmesi sırasında içten desteğini ve katkılarını aldığım sayın Uzm. Biyolog Zehra Özgecan TANYOLAÇ YAZAN'a

Ayrıca çalışmalarımın çeşitli aşamalarında fikirleriyle destek olan Öğr. Gör. Esmenur DEMİREL'e, manevi yönden her zaman yanımda olan Arş. Gör. Buse ÖZDEMİR'e, yardımlarıyla destek olan Arş. Gör. Tuğçe ÖZSAN'a, Arş. Gör. Adem DOĞAN'a ve doktora öğrencisi İsmail TANTAWY'e,

Bana sera ve laboratuvarlarında tez çalışmamı yürütme imkanı sağlayan Sayın Hasan ÜNAL'a, laboratuvar uygulamaları esnasında yardımcı olan sevgili arkadaşlarım Tuğba TIRAŞ'a, Sevgi ACARBULUT'a ve diğer tüm Kuzey Agripark ailesine,

Hayatımın her aşamasında beni cesaretlendiren, bana yol gösteren, beni koşulsuz seven, yol arkadaşım, canım, sevgili annem Nebiye ÇELİKLİ'ye, şuan hayatta olmayan ama varlığını hep hissettiğim sevgili babam Rafet ÇELİKLİ'ye teşekkürü bir borç bilirim.



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI	6
2.1. <i>Cucurbitaceae</i> Familyasında Işınlanmış Polen Tekniği Çalışmaları	6
3. MATERYAL VE METOT	13
3.1. Materyal	13
3.2. Metot	13
3.2.1. Bitkilerin yetiştirilmesi	13
3.2.2. Işınlanmış polenler ile <i>in situ</i> partenogenesis uyartımı	15
3.2.2.1. Emaskülasyon	15
3.2.2.2. Erkek çiçeklerin toplanması, ışınlanması ve muhafazası	15
3.2.2.3. Tozlama	15
3.2.3. <i>In vitro</i> çalışmaları	16
3.2.3.1. Dezenfeksiyon	16
3.2.3.2. Tohumların çıkartılması ve besi ortamına yerleştirilmesi	17
3.2.3.3. Tohumlardaki embriyo tespiti ve embriyoların çıkartılması	23
3.2.4. Ploidi seviyesinin belirlenmesi ve morfolojik incelemeler	24
4. BULGULAR	28
4.1. Hasat Edilen Meyve Sayıları	28
4.2. Tohumların Çıkartılması	28
4.3. Meyve Başına Düşen Ortalama Tohum Sayısı	29
4.4. Tohumların Besi Ortamına Yerleştirilmesi	31
4.5. Tohumlardan Embriyoların Çıkartılması	33
4.6. Embriyoların Bitkiye Dönüşmesi	41
4.7. Seçilen Bitkilerde Ploidi Seviyesinin Belirlenmesi ve Morfolojik Gözlemler	46
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ	50
7. KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Co ⁶⁰	Kobalt 60
Gy	Gray
%	Yüzde
g	Gram
ml	Mililitre
mg/l	Miligram/litre
W	Watt
n	Haploid
2n	Diploid
M	Molar
μM	Mikromolar
kRad	Krad

Kısaltmalar

MS	Murashige ve Skoog Besi Ortamı
CP	Kavun besi ortamı
E20A	Kavun besi ortamı
B12	Siyanokobalamin
IAA	Indolacetic acid
BAP	6-Benzylaminopurine
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
K-7	Kuzey Agri Park Galia Genotipi
K-12	Kuzey Agri Park Galia Genotipi
K-13	Kuzey Agri Park Galia Genotipi
K-17	Kuzey Agri Park Kırkağaç Genotipi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Çalışmanın yürütüldüğü yer	13
Şekil 3.2. Seçilen genotiplere ait tohumların ekimi; a) Tohumların viyole yerleştirilmesi b) Viyollere ekilen tohumların üzerinin torf ile örtülmesi, c) Viyollere ekimi yapılan tohumların çimlenmesi, d) Çimlenen tohumlardan fidelerin eldesi, e) Elde edilen fidelerin topraksız koşulda yetiştirilmek üzere kokopit içeren torbalara dikilmesi	14
Şekil 3.3. <i>In situ</i> çalışmalar; a) Anthesisten bir gün önce izole edilen dişi çiçek, b) Işınlanmak üzere toplanmış erkek çiçekler, c) Işınlanmış erkek çiçeklerin polenlerinin emasküle edilmiş dişi çiçeğin stigmasına sürülerek tozlanması, d) Tozlanan dişi çiçeğin başka polen girişini engellemek üzere izole edilmesi.....	16
Şekil 3.4. a) Hasat aşamasına gelen Galia ve Kırkağaç genotipli kavun meyveleri, b) Meyvenin kuru yakma yöntemi için alkol ile muamele edilmesi, c) Meyvenin kuru yakma yöntemi ile dezenfekte edilişi	17
Şekil 3.5. a) Meyvenin boyuna kesim, b) Meyvenin ikiye ayrılmış hali, c) Tohumların meyveden çıkarılması, d) Steril kaşık ile filtre kağıdına koyulması, e) Tohumların besi ortamına yerleştirilmesi.	18
Şekil 3.6. a,b) Petrilerin inkübe edildiği kültür odası	19
Şekil 3.7. a) Embriyoların ışıktaki tespiti, b) Embriyo tespit edilen tohumların işaretlenmesi, c) Embriyoların çıkarılması, d) Kalp aşamasına gelen embriyo	23
Şekil 3.8. a) Tüplere alınan embriyoların birkaç gün sonraki hali, b) Yaklaşık 1 hafta sonraki bitkicik, c) Yaklaşık iki hafta sonraki bitkicik, d) Tüp boyuna erişip kolhisin uygulaması aşamasına gelen bitkicik	25
Şekil 3.9. a) Kolhisin filtre sterilizasyonu yapılışı, b) Mikro çeliklerin kesilmesi, c) Mikro çeliklerin kolhisin çözeltisine atılması, d) Mikro çeliklerin kolhisin çözeltisinde bekletilmesi, e) Kolhisin uygulanan çeliğin besi ortamına dikilmesi, f) Besi ortamındaki köksüz çelik	26
Şekil 3.10. a) Tüplerdeki Double Haploid bitkicikler, b) Bitkiciğin tüpten çıkarılması, c) Bitkiciğin steril torf içeren saksılara dikilmesi, d) Saksıların mini seralara alınması, e) Mini seralardan saksıların çıkarılması, f) Saksıların seraya getirilmesi, g) Bitkilerin torf torbalarına yerleştirilmesi, h) Seralarda gelişen bitkiler.....	27
Şekil 4.1. Galia ve Kırkağaç tiplerinde ortalama tohum sayısı	30
Şekil 4.2. Işın dozlarına göre ortalama tohum sayısı	31

Şekil 4.3. Galia ve Kırkağaç tiplerine göre meyve başına kurtarılan ortalama embriyo sayısı	33
Şekil 4.4. Işın dozuna göre Galia ve Kırkağaç tiplerinde meyve başına kurtarılan ortalama embriyo sayısı.....	35
Şekil 4.5. Ortam bazında ortalama embriyo yüzdesi	40
Şekil 4.6. Işın dozu bazında ortalama embriyo yüzdesi.....	40
Şekil 4.7. Genotip bazında ortalama embriyo yüzdesi.....	41
Şekil 4.8. Kavun tipleri bazında embriyodan dönüşen bitki sayısı.....	45
Şekil 4.9. Işın dozu bazında embriyodan dönüşen bitki sayısı.....	45
Şekil 4.10. Stomadaki kloroplast sayılarının gösterimi, a) Haploid kavun bitkisi stoması, b) Double-haploid kavun bitkisi stoması.....	46
Şekil 4.11. Haploid ve double haploid bitkilerin yaprakları	47
Şekil 4.12. Haploid ve double haploid bitkilerin çiçekleri.....	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. CP Besi Ortamının Kimyasal İçerikleri (Chee vd 1992)	20
Çizelge 3.2. E20A Besi Ortamının Kimyasal İçerikleri (Sauton vd 1987)	21
Çizelge 3.3. MS Besi Ortamının Kimyasal İçerikleri (Murashige ve Skoog 1962)	22
Çizelge 4.1. Galia ve Kırkağaç genotiplerinde hasat edilen meyve sayısı (Adet)	28
Çizelge 4.2. Galia ve Kırkağaç genotiplerinden çıkan tohum sayısı (Adet)	29
Çizelge 4.3. Galia ve Kırkağaç genotiplerinin meyvelerinden çıkan ortalama tohum sayısı (Adet/Meyve)	30
Çizelge 4.4. Galia ve Kırkağaç genotiplerinin besi ortamlarına yerleştirilen ortalama tohum sayısı (Adet)	32
Çizelge 4.5. Genotiplere göre meyve başına kurtarılan ortalama embriyo sayısı (Adet/Meyve)	33
Çizelge 4.6. Işın dozlarına göre meyve başına kurtarılan ortalama embriyo sayısı (Adet/Meyve)	34
Çizelge 4.7. K-7 Genotipinin (Galia) tohumdan çıkan embriyo sayısı (Adet)	35
Çizelge 4.8. K-12 Genotipinin (Galia) tohumdan çıkan embriyo sayısı (Adet)	36
Çizelge 4.9. K-13 Genotipinin (Galia) tohumdan çıkan embriyo sayısı (Adet)	37
Çizelge 4.10. K-17 Genotipinin (Kırkağaç) tohumdan çıkan embriyo sayısı (Adet)	37
Çizelge 4.11. Tohum sayısına göre embriyo sayısı ve embriyo yüzdesi	39
Çizelge 4.12. K-7 Genotipinin embriyodan dönüşen bitki sayısı (Adet)	41
Çizelge 4.13. K-12 Genotipinin embriyodan dönüşen bitki sayısı (Adet)	42
Çizelge 4.14. K-13 Genotipinin embriyodan dönüşen bitki sayısı (Adet)	42
Çizelge 4.15. K-17 Genotipinin embriyodan dönüşen bitki sayısı (Adet)	43
Çizelge 4.16. Embriyo başına oluşan bitki sayısı (Adet/Meyve)	44

1. GİRİŞ

“İnsanın sebze yi besin olarak kullanması, insanlık tarihi kadar eskidir” diyen Oraman (1956) aslında sebzeciliğin ilk insanlara dayandığını savunmaktadır. Nitekim de ilk insanlar yabancı olarak yetişen bitki dal, kök, yaprak ve meyvelerini tüketerek yaşamlarını idame ettirmişler ve ihtiyaçlarını karşılamak üzere beğendikleri bitkinin tohumlarını alıp ekerek zamanla sebze yetiştirmeye başlamışlardır. Sebzecilik faaliyetleri yerleşik hayata geçince ve hastalıkları tedavi edici özellikleri fark edilince daha da hız kazanmış ve artık sebze insanlar için önemli bir unsur haline gelmiştir. Günümüzde de giderek değeri anlaşılan sebzeler arasında en çok yetiştirilip tüketilenler patlıcangiller ve kabakgiller familyasına ait olan sebze türleridir. Patlıcangillerden domates ve biber; Kabakgillerden ise karpuz, hıyar ve kavun başı çekmektedir. Cucurbitaceae yani kabakgiller familyasının önemli bir türü olan kavun tarihte de önemini korumuş ve Fatih Sultan Mehmet’in en sevdiği yemek olarak adından söz ettirmiştir.

Kavunun (*Cucumis melo* L.) anavatanı ile ilgili çeşitli spekülasyonlar mevcuttur. Araştırmacılar kavunun yabancı formlarının bulunduğu yerlere göre anavatanı hakkında çeşitli fikirler beyan etmişlerdir. Bunlardan Dillingen (1956) Küçük Asya (Anadolu), İran, Afganistan, Orta Asya ve Güneybatı Asya bölgelerini kavunun anavatanı olduğunu ve dünyaya da bu bölgelerden yayıldığını savunurken; Robinson ve Decker-Walters (1997) Afrika’nın anavatanı olduğunu ve Türkiye, İran, Hindistan, Afganistan, Çin’in ikincil gen merkezi olduğunu belirtmişlerdir. Pitrat vd (1999) ise kavunun anavatanının Afrika ve Hindistan olabileceği hususunda iki farklı görüş bildirmişler, ikincil gen merkezi olarak da Akdeniz’den Japonya’ya kadar olan tüm Asya Kıtası’nı göstermişlerdir. Bugün Amerika ve Avrupa’da beğenilerek tüketilen meşhur Kantalop kavununun anayurdu da Diyarbakır ve Van bölgesidir. Buradan tohumları önce misyonerler tarafından alınıp İtalya’ya götürülmüş, Papa’nın “Kantalupi” çiftliğinde yetiştirilmiş sonra diğer Avrupa ülkelerine yayılmıştır (Ekinci 1959).

Kavun, 1.1 milyar tonluk dünya sebze üretimi içerisinde 31.9 milyon tonluk üretim ile ticarete konu olan sebzelerin başında gelmektedir. Dünyada kavun üretiminde, Çin 13.3 milyon ton üretim ile lider konumdayken 1.7 milyon ton ile Türkiye ikinci sırada yer almaktadır (FAO 2014). Ülkemizde toplam sebze üretiminin %80’ini meyvesi yenen sebzeler oluşturmaktadır (Yanmaz vd 2015). 29.3 milyon ton olan ülkemiz sebze üretiminin Cucurbitaceae familyasına ait sebze türlerinden olan kavun bu familya içerisinde üretim bakımından karpuz ve hıyardan sonra üçüncü sırada yer almaktadır (TÜİK 2015).

Cucurbitaceae familyası içerisinde yaklaşık 130 cins ve 820 kadar tür bulunmaktadır (Jeffery 2005). Kavun; *Cucurbitales* takımı, *Cucurbitaceae* familyası, *Cucurbitoideae* alt familyası, *Cucumis* cinsine ait, kromozom sayısı 24 olan ve diploid bir sebze türüdür (Robinson ve Decker-Walters 1997, Pitrat vd 1998).

Bölüm: *Spermatophyta*
 Alt Bölüm: *Angiospermae*
 Sınıf: *Dicotyledoneae*
 Takım: *Cucurbitales*
 Familya: *Cucurbitaceae*
 Cins: *Cucumis*
 Tür: *Cucumis melo* L.

Birçok araştırmacı tarafından kavunlar farklı şekillerde sınıflandırılır. Bazı yazarlar kavunları kışlık ve yazlık kavunlar olarak iki gruba ayırırken bazıları da meyve özelliklerine göre sınıflandırma yapmaktadır. Meyvelerin şekil ve dış görünüşlerine göre yapılan gruplama en tercih edilen gruplamadır. Dillingen (1956), meyve şekillerini baz alarak kavunları 5 farklı gruba ayırmıştır:

- a) Kantalop kavunları (*C. melo* L. var. *cantalupensis* Ser.)
- b) Kabuğu ağ şeklinde olan kavunlar (*C. melo* L. var. *reticulata* Ser.)
- c) Kabuğu düz olan kavunlar (*C. melo* L. var. *melitensis* Ser.)
- d) Yılanvari kavunları (*C. melo* L. var. *flexuosus* Naud.)
- e) Sarılicı kavunlar (*C. melo* L. var. *dudaim* Naud.)

Dünya’da üretimi yapılan kavun tipleri ve üretim miktarları şu şekildedir:

- Cantalope veya Kokulu Kavunlar; Turuncu meyve etli ve kabuğu ağıl tiplerdir. Kuzey Amerika’da popülerdir.
- Casaba (Beyaz meyve etli) ve Honeydew (Yeşil meyve etli) Kavunlar; Amerika, Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika’nın bazı bölgelerinde önemlidir.
- Ananas Tipi Kavunlar; Orta Doğu kökenlidir. Meyve kabukları sarı ve ağıldır. Meyve iç renkleri krem ya da turuncu olabilir. Orta Doğu ülkelerinde tercih edilmektedir.
- Fransız (Charanteis) Tipi Kavunlar; Fransız kökenli kavunlardır, meyve eti turuncu renklidir. Genel olarak dilimlidir. Avrupa’da birçok önemli noktada tercih edilmekte ve yoğun olarak üretimi yapılmaktadır.
- İspanyol Tipi Kavunlar (Piel de Sapo, Amarillo, Yellow canary, Branco, Smooth Round); Bu tiplerin tamamı İspanya kökenlidir. Özellikle Piel de Sapo tipi birçok Avrupa ülkesinde de tercih edilmektedir. Branco ve yellow canary tipleri ise İspanya’nın yanı sıra Güney Amerika ve Brezilya’ da da tercih edilmektedir.
- İtalyan Tipi Kavunlar; Geanun, Sutured netted, Shipper, İtalya’ da tercih edilmektedir.
- Galia Tipi Kavunlar; Meyve eti yeşil, meyve kabuğu sarı ve tamamen ağıl kavunlardır. Avrupa ve Orta Doğu’da popülerdir.
- Türk Tipi Kavunlar; Yuva, Kırkağaç, Hasanbey, Gönen. Bu tip kavunlar Türkiye kökenli kavunlardır. Özellikle Kırkağaç kavunu ülkemizin birçok bölgesinde yetiştirilmekte ve sevilerek tüketilmektedir (Seçim 2009).

Türkiye’de üretilen kavunların çoğu *Cucumis melo* var. *inodorus* grubuna ait kokusuz kışlık kavunlardır. Bu kavun genotipleri içerisinde Ege ve Orta Anadolu bölgelerinde yetiştirilen Kırkağaç, Yuva ve Hasanbey gibi genotipler ise en önemlileridir. Türkiye’de kavun üretiminin % 85’ini, Kırkağaç, Hasanbey, Yuva ve Kışlık Sarı (Kuşçular), geriye kalan kısmını da Ananas ve Galia kavun çeşitleri oluşturmaktadır (Abak 2001).

Günümüzde artan dünya nüfusu, yetersiz beslenme, açlık ve sağlık sorunlarından birçok insan hayatını kaybetmektedir. Bunun önlenmesi için üretimin artırılması gerekir. Üretimin artırılabilmesi için ise ya üretim alanları artırılmalı ya da birim alandan elde edilen verim artırılmalıdır. Dünya nüfusunu beslemek adına tarıma açılacak daha fazla tarımsal özellikte arazi bulunmadığından birim alandan elde edilen verimin artırılması gündeme gelmektedir. Son yıllarda verimin artırılabilmesi için gübreleme, sulama gibi kültürel işlemlerin yanında hastalık ve zararlılarla mücadele edilmektedir. Gübre ve ilaçların bilinçsizce kullanımı sonucu kimyasallar topraktan yeraltı sularına oradan da denize ulaşmakta, topraktan buharlaşarak ozon tabakasını olumsuz yönde etkilemekte ; neticede doğaya ve çevreye zarar vermektedir. Yabancı ot ilaçları (herbisit) ve böcek ve hastalık ilaçları (pestisitler) tarım alanlarında ekolojiyi bozarak daha dirençli hastalık ve zararlıların ortaya çıkmasına, kimyasal kalıntı sorununa ve biz tüketicilerin kanser gibi kötü ve tehlikeli hastalıklara yakalanmalarına neden olmaktadır. Daha fazla kimyasal gübre ve ilaç kullanımı verimi yeterli ölçüde artırmadığı için; üretimde verim artışını sağlayabilmede bitkilerin genetik yapılarını değiştirerek ve geliştirerek bitkileri ıslah etmek en etkili yöntemlerden biridir (Hatipoğlu 2001).

Islahı geliştirebilmek için bilim adamları tarafından çok büyük adımlar atılmıştır. Bu adımlardan bir tanesi de “melez azmanlığı ya da F₁ Hibrit Gücü”dür ve ıslahta önemli bir yere sahiptir. Verimde sağlanan büyük artış nedeniyle F₁ hibrid gücü son 50-60 yıldaki tarımda sağlanan en büyük başarı olarak kabul edilmektedir. F₁ hibrid varyeteleri standart çeşitlerin yerini almaya başlamıştır. Bugün F₁ hibrit tohum üretimi oldukça büyük boyutlara ulaşmış ve her yıl piyasaya yüzlerce yeni çeşitler girmeye başlamıştır. Bu çeşitlerin hepsinde birbirinden farklı özelliklere sahiptir. Çeşitler üzerine yapılan çalışmalar da yetiştirme koşullarına uygunluk, verimlilik, hastalık ve zararlılara dayanıklılık, kültürel işlemlerin kolay uygulanabilirliği gibi konular ele alınmaktadır (Akyüz 1988).

Verim, kalite ile canlı (biyotik) ve cansız (abiyotik) stres faktörlerine dayanıklılık gibi birçok özellik bakımından üstün olan hibrit sebze çeşitlerinin ıslahında ilk aşama saf hatların elde edilmesi ve özelliklerinin tanımlanmasıdır (Sarı vd 2014). Cucurbitaceae familyasına giren türlerin çiçek yapılarının çok değişik olması (monoik, andromonoik, gynomonoik, androik, gynoik, erselik) ve doğal olarak yabancı döllenenleri nedeni ile ıslah çalışmaları uzun süre almaktadır (Lower ve Edwards 1986). Homozigot bitkilerin elde edilmesi özellikle yabancı döllenen bitkilerde büyük önem taşır. Bu tip bitkilerde yabancı döllene sonucu heterozigotluk artar. Hibrid çeşit ıslahında haploid bitki elde edilmesi büyük önem taşır. Çünkü hibrid çeşit elde edilebilmesi için melezlemede kullanılacak ebeveynlerin kendilenmiş homozigot hatlar olması gerekir (Hatipoğlu 2002).

Ülkemizde; tohum üretimde ıslah çalışmalarının uzun yıllar alması, hibrit tohum üretiminin zorluğu ve yavaşlığı, yurt dışından tohum girişi gibi sebeplerle ve bilinen klasik ıslah yöntemleri ile çözümü zor olan problemlere çözüm getirerek daha kaliteli, daha verimli, daha ekonomik ve daha kısa sürede bitkisel üretim gerçekleştirmek amacıyla biyoteknolojik yöntemlere başvurulmaktadır. Bitki doku kültürü çalışmaları ıslah çalışmalarında kullanılan biyoteknolojik yöntemlerin başında gelmektedir. Bitki doku kültürünün kullanılmasıyla uzun süre gerektiren yeni çeşitlerin ıslahı daha kolay ve kısa sürede yapılabilmektedir. Bitki doku kültürü teknikleri içerisinde de haploid bitkilerin elde edilmesini sağlayarak ıslah çalışmalarına hizmet eden yöntemlerin ayrı bir önemi vardır (Ercan vd. 1997). Haploid bitki, somatik hücrelerindeki kromozom sayısı, ait oldukları bitki türünün gamet hücrelerindeki kromozom sayısı kadar olan bitkilere denir (Khush ve Virmani 1996). Haploid bitkilerin diploid bitkilerin küçültülmüş olduğunu savunan Sarı vd (1994), bu bitkilerin boylarının kısa, yapraklarının dar ve küçük; çiçeklerinin küçük ve kısır olması sebebiyle meyve oluşturmama ve tohum verememe özellikleri olduğunu bildirerek haploid bitkilerin nesillerini devam ettirebilmeleri için kromozomlarının katlanması gerektiğini ileri sürmüşlerdir. Bu yöntem “Dihaploidizasyon” tekniği denilmekte ve haploid bitkiler diploid hale getirilerek ıslahta kullanılabilmektedir.

Haploid bitki ıslah ve genetik çalışmalarında araştırmacılara birçok avantajlar sunmaktadır. (Reinert ve Bajaj 1977, Pochard ve Dumas de Vaulx 1979, Hermesen ve Ramanna 1981, Abak 1982, Emiroğlu 1982, Bajaj 1983, Lespinasse vd 1983, Dunwell 1985, Abak 1988, Chambonnet 1988, Abak 1993, Demarly ve Sibi 1989, Pierik 1989, Bhojwani 1990, Gallais 1990, Sangwan ve Sangwan- Norell 1990, Thorpe 1990, Zhang vd 1990, Kuckuck vd 1991, Emiroğlu ve Gürel 1993a, Sarı 1994, Abak vd 1996, Kurtar vd 2002). Mutlak homozigot double haploid hatların elde edilmesine olanak tanıyan haploidi tekniğinin; uzun zaman alan, fazla emek gerektiren kimi zaman da etkin olmayan klasik ıslah yöntemlerinin verimliliği ve hızını artırması en önemli avantajdır (Chen vd 2011).

Haploid bitkiler doğada spontan olarak; ginogenesis, androgenesis, semigami, soliembriyoni ve kromozom eliminasyonu yollarıyla oluşabilmekte ancak bu durumun ortaya çıkma sıklığı çok düşük olmaktadır (Gürsöz-Sarı 1990).

Saf hatlar doğrudan çeşit olarak kullanılabildiği gibi, çeşitli genetik ve ıslah çalışmalarının da temel materyalidirler. Saf hatların elde edilmesinde klasik ıslah yöntemleri kullanılabilmekle birlikte; bu yöntemin oldukça zaman alıcı olması ve saflaştırmanın % 100 olamaması ıslahçıları katlanmış haploidizasyon tekniklerine yönlendirmiştir (Sarı vd 2014). Haploid (H) ve doubled (Katlanmış) haploid (DH) teknolojisi; uzun yıllardan bu yana bilinen ve bitki ıslahında kullanılan “gametik embriyogenesise” dayalı bir yöntemdir (Germeena 2011). Haploid bitkiler kısır oldukları için meyve tutma yetenekleri yoktur ve tohum oluşturmazlar. Haploid bitkilerin ürün vermeleri ve yeni döller oluşturabilmeleri için kromozom sayılarının kolhisin (kolkisin), azot protoksit, kafein, kloral hidrat, asenaften, sulfinilamid, etil merkuriklorid, heksakloosikloheksan gibi bazı kimyasallarla katlanıp iki katına çıkarılması gerekmektedir (Çağlar ve Abak 1999). Kromozom katlamada en fazla kullanılan

kimyasal, antimitotik bir ajan olan kolhisindir. Kolhisin, metafaz aşamasındaki kromozomların kutuplara çekilmesini engelleyerek kromozom sayısının iki katına çıkmasına sebep olmaktadır (Sarı vd 2014).

Haploid bitki elde etmenin iki yolu vardır. Bunlar, ovül-ovaryum kültürü (ginogenesis) ve anter kültürü (androgenesis)'dür. Cucurbitaceae familyasında haploidi anterlerde ve ovül kültüründe denenmiştir. Her iki teknikte de ya embriyo elde edilmemiş ya da elde edilen bitki sayısı yeterli oranda olmamıştır. Araştırmacılar daha sonra ışınlanmış polen uyartımıyla partenogenetik haploid embriyo eldesi yolunu denemişlerdir. Böylelikle haploid embriyolar elde etmişlerdir. Cucurbitaceae familyasında ilk haploid embriyolar yazlık kavun (Sauton ve Dumas de Vaulx 1987); kışlık kavun (Sarı vd 1992b), hıyar (Niemirowicz-Szczytt ve Dumas de Vaulx 1989), karpuz (Gürsöz-Sarı vd 1991) ve kabak (Kurtar vd 2002) türlerinde elde edilmiştir.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

In situ haploid embriyo uyartımını teşvik amacıyla uzak akrabalar arası melezlemeler, tozlamamanın geciktirilmesi, eksik veya yetersiz (ışınlanmış) polenle tozlama, değişik kimyasalların uygulanması, sıcaklık şokları, X ve UV ışınlarının uygulanması gibi yöntemler kullanılmaktadır (Yılmaz 2005).

Polenlere yapılan bu uygulamalar sayesinde polen generatif çekirdeği inaktif hale geçirilmekte, bununla birlikte çimlenme yeteneğini koruyan polenler dışıkcık tepesi üzerinde çimlendiklerinde oluşturdukları uyartım sonucunda, partenogenetik olarak haploid embriyolar meydana gelmektedir.

İşınlanmış polen tekniğı ile embriyo elde edilmesinden sonra, bu embriyoların bitkiye dönüşümünün sağlanması gerekmektedir. Embriyo kesesi içerisinde gelişen haploid embriyo, normal bir dölleme sonucu oluşmadığı için, endospermde de yoksundur. Dolayısıyla canlılığını uzun süre koruması ve normal bir tohum gibi çimlenerek bitkiye dönüşümü söz konusu değildir. Uyartım sonucu oluşan haploid embriyoların bitkiye dönüştürülebilmesi için embriyo kültürü yapılması gerekmektedir. Oluştugu tohumun içerisinden kurtarılarak *in vitro* koşullarda kültüre alınan embriyoların bitkiye dönüşümleri, birkaç gün gibi oldukça kısa sürede gerçekleşmektedir (Ellialtıoğlu vd 2001).

2.1. Cucurbitaceae Familyasında İşınlanmış Polen Tekniğı Çalışmaları

Custers ve Bergervoet (1984), çalışmada *Cucumis sativus* var. *hardwickii* 'yi; 0, 10, 100 ve 1000 Gy dozlarında işınlanan *Cucumis melo* var. Noy Yizrael'in polenleri ile tozlamışlardır. Tozlamadan 3 hafta sonra meyveleri hasat etmişlerdir. Endospermli embriyosu olan ovül sayılarını tespit ederek embriyo ve endosperm boyutlarını incelenmişlerdir. Kontrol Grubu ile 10 Gy ışın dozu uygulananların sonuçlarında bir değişiklik bulunmadığını; ışın dozu yükseldikçe ölçülen değerlerde düşüşler meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Sauton (1987), kavunda işınlanmış polenlerle tozlama yoluyla parthenogenesis üzerinde çalışmalar yürütmüştür. Yaptıkları araştırma sonucunda kavunda normal döllemenin olmaması için 30 kRad'dan (Krad) daha yüksek dozda ışın kullanılması gerektiğini bildirmiştir. Araştırmacı, tozlamadan 3-5 hafta sonra hasat edilen meyvelerde, 100 adet tohumdan elde ettikleri haploid embriyo sayısının ışın dozuna bağlı olarak değişiklik gösterdiği ve sayısının 3'e ulaştığını söylemiştir. Bitkiye dönüşen embriyoların bitki rejenerasyonu gerçekleştikten sonra mikro çoğaltım ile bitki sayısının artırıldığı bildirmiştir. Araştırmacı, *in vitro* kromozom katlamalarında çekiklerin, 5 g/L kolhisin solüsyonunda 2 saat süreyle tutulmasının en iyi sonucu verdiğini bildirmektedir.

Sauton ve Dumas de Vaulx (1987), Védrañtais kavunlarının polenleri 10, 30 ve 100 kRad dozlarında gama ışınına maruz bırakmışlardır. Arizona ve Virka kavun çeşitlerini bu polenler ile tozlayarak çiçeklerin % 35'inin meyve tuttuğunu ve bu meyvelerin hasadı için en uygun zaman diliminin tozlamadan itibaren 3. ve 4. haftalarda olması (tam olgunlaşmamış) gerektiğı sonucuna varmışlardır. 10 kRad ışın dozunda %

0.3 diploid, % 0.8 haploid embriyo, 30 ve 100 kRad dozlarında ise sırasıyla % 1.8 ve % 1.6 oranında sadece haploid embriyoların olduğu gözlenmiştir. Bunun yanında bir dişi çiçeğin iki adet ışınlanmış erkek çiçek ile tozlanmasıyla ortalama % 1.81 olan haploid embriyo oranının, tozlamada 4 adet çiçek tomurcuğu kullanıldığında önemli ölçüde arttığını ve ortalama % 2.54'e yükseldiğini tespit etmişlerdir.

Troung-Andrea (1988), 400-600 Gy ışın dozu ile ışınlandıkları hıyar polenleri ile dişi hıyar çiçeklerini tozlayarak elde ettikleri 100 ovulden yaklaşık olarak 3 tane haploid bitki elde etmişlerdir. Bu yöntemin hıyar ıslah çalışmalarında kullanılmak üzere yeterli olmadığını bildirmektedirler.

Niemirowicz-Szczytt ve Dumas de Vaultx (1989), Polan F₁ hıyar çeşidinin dişi çiçeklerini, 300-900 Gy dozlarında Co⁶⁰ (Kobalt 60) kaynaklı gama ışını ile ışınlanan polenlerle tozlamışlardır. Işınlanmış polenlerle yapılan tozlamada meyve bağlama oranının % 50- 60, meyve başına düşen ortalama tohum sayısının ise 250 adet olduğunu gözlemişlerdir. Ancak tohumların çoğunun içinin boş olduğu görülmüştür. Araştırmacılar kontrol polenleri (ışınlama yapılmamış polenler) ile yapılan tozlamalarda meyve tutma oranı % 100, meyve başına düşen tohum sayısının ise ortalama olarak 400 adet olduğunu ve tohumların neredeyse tümünün normal embriyolar içerdiğini tespit etmişlerdir. Tozlamadan 20 gün sonra hasat edilen meyvelerin tohumlarının, sadece 300 Gy dozunda ışınlanmış polenlerle tozlanan çiçeklerde 13 adet yürek ve kotiledon gibi farklı safhalarda embriyolar taşıdığı belirlenmiştir. Doğal yollarla oluşmuş bir embriyodan daha küçük olan bu 13 embriyo kültüre alınmış ve 8'inde bitki rejenerasyonu görülmüştür. Bu bitkilerden 4'ünün kök ve gövde meristemlerinde yapılan kromozom sayımlarında haploid oldukları, fakat daha sonraki mikroçelik safhasında, genç kök meristemlerindeki bazı hücrelerde spontan (kendiliğinden) kromozom katlamaları olduğu belirtilmiştir.

Gürsöz (1990), karpuzda haploid embriyo uyartımı üzerine genotipin etkisini incelemiştir. Çalışmasında Panonia F₁, Sugar Baby, Halep Karası ve Crimson Sweet çeşitlerini, yine bu dört çeşide ait karışık ve 300 Gy dozda ışın uygulanmış polenlerle tozlanmıştır. Araştırmacı, polinasyonu yapılan karpuz dişi çiçeklerinden 26 adet meyve tuttuğunu ve bu meyvelerden toplam 13844 tohum elde edildiğini belirtmiştir. 100 tohumdaki embriyo sayıları karşılaştırıldığında, Halep Karası'nındığı çeşitlere göre daha fazla embriyo (% 14.2), taşıdığı tespit edilmiştir. Tozlamadan sonra 3. ve 4. haftada hasat edilen meyvelerin tohumlarının ekstrasyonu için uygun aşamada olduğu sonucuna varılmıştır .

Gürsöz (Sarı) vd (1991)'nin, karpuzda ışınlanmış polenlerle uyartım tekniği ile haploid embriyo oluşumu üzerine yaptıkları çalışmada, toplamda 761 adet embriyo elde etmişlerdir. Araştırmacılar, embriyoların % 72'sinin globüler safhada olduğunu bildirmiş ve toplam 761 adet embriyodan, 17 adet bitki dönüşümü gözlemişlerdir. En uygun tozlama döneminin 31 Mayıs-13 Haziran periyodu olduğu belirtilmiştir. Flow sitometri analizleri sonucunda elde edilen bitkilerin tamamının haploid oldukları tespit edilmiştir.

Maestro-Tejada (1992), Védrantais x PI 161375 melez kavununu, haploid bitki eldesi için Védrantais polenleriyle tozlamıştır. Meyve tutumu % 35-40 iken bir dişi

çiçeğin 8 adet erkek çiçek polenleri ile tozlaması sonucunda bu oran % 87'ye çıkartılmıştır. Kurtarılan embriyoların % 57'si bitkiye dönüşmüştür. Kolhisin uygulaması ile dihaploid hatlar elde etmiştir.

Przyborowski ve Niemirowicz-Szczytt (1994)'in hıyarda yürütmüş oldukları haploid bitki eldesi çalışmasında, ışınlanmış polen tekniğini kullanmışlardır. 300 Gy gama ışınıyla uyartılmış iki saf hattın polenleriyle tozlanan dört F₁ çeşitten elde ettiği embriyoları *in vitro*'da E20A ortamında kültüre almışlardır. En çok embriyo Polan F₁ çeşidinde gözlenirken, 100 tohumda 1.34 embriyo elde edilmiş ve bu embriyoların % 51'inin gelişme gösterdiği bildirilmiştir. Yaz aylarında yapılan tozlamaların, bahar aylarında yapılan tozlamalara göre daha iyi sonuç verdiği ortaya konulmuştur. Oluşan bitkilerden yalnızca bir tanesinin diploid, diğerlerinin ise haploid veya aneuploid olduğu belirlenmiştir.

Çağlar (1995), hıyarda ışınlanmış polenlerle uyartım yolu ile haploid embriyo elde edilmesi üzerine genotipin ve mevsimin etkili olduğunu bildirmiştir. Işın dozu 3 farklı düzey (300, 450 ve 600 Gy) uygulanarak denemede kullanılan 4 genotipte (Qamar F₁, Seraset F₁, Dere ve Çengelköy) de yıl boyu embriyo uyartımı sağlanmış olup en uygun ışınlama düzeyinin ise 300 Gy ve en iyi dönemin mayıs-eylül arasındaki dönem olduğu belirtilmiştir. Qamar F₁'den 704, Seraset F₁'den 603, Dere'den 29 ve Çengelköy'den ise 43 adet haploid bitki elde edilmiştir. Araştırmacı, bu bitkilerin double haploidlerini elde etmek için ise en uygun kolhisin dozunun % 1 ve muamele süresinin 2 saat olduğu sonucuna varmıştır.

Doré vd (1995), polen ışınlama ile birlikte embriyo kurtarma kullanıldığında haploid bitki elde edilmesi için önemli bir alternatif olduğunu bildirmişlerdir. Fransa'da 1987 yılından bu yana kavun da dahil pek çok sebze türünde haploid bitki elde etme olanağı sağlamıştır. Etkili ışın dozu, polen tipine bağlı olduğunu, bunların türden türe değiştiğini belirtmişler; genotip ve mevsim şartlarının kavunda haploid miktarını etkilediğini, ham tohumun içindeki embriyolar X ışını yardımıyla bulunabildiğini bildirmişlerdir.

Yanmaz ve Taner (1996), kavunda 300 ve 350 Gy ışın dozuyla ışınlanan polenler Yuva, Kırkağaç ve birkaç kantaloop hattını tozlamışlardır. Haploid embriyo uyartımında 300 Gy ışın dozunun etkili olduğu sonucuna varmışlardır.

Yanmaz vd (1997), acur (*Cucumis melo* var. *flexuosus*) türünde haploid embriyo elde etmek için 250, 300 ve 350 Gy ışın dozlarını denemişlerdir. Araştırmalarında embriyo ve bitkiyi 300 ile 350 Gy ışın dozlarında elde etmişlerdir.

Çağlar vd (1999), hıyarda ışınlanmış polenlerle uyartım tekniği ile haploid embriyo elde edilmesi üzerine genotipin ve mevsimin etkili olduğunu bildirmiştir. İleri gelişim safhalarındaki haploid embriyolar globüler safhadakilere göre daha kısa sürede (3.5 günde) ve daha yüksek oranda (1. yıl % 60, 2. yıl % 80) bitkiye dönüştüğü sonucuna varmıştır. Mayıs-eylül ayları arasında *in vitro* kültüre alınan embriyolardan yılın öteki dönemlerine göre daha fazla sayıda haploid bitki elde edilmiştir. İkinci yıl haziran ayında embriyoların bitkiye dönüşümleri % 80'e ulaşmıştır. Meyve basına

haploid bitki sayısı çok yüksek olmamakla beraber, iki yılın sonunda 4 genotipten toplam olarak 190 adet haploid bitki elde edilmiştir.

Faris vd (1999), ışınlanmış polen tekniği kullanarak farklı genotip ve farklı genetik seviyelerdeki hıyar hatlarında haploidizasyon çalışmalarında ışın dozu uygulaması denemişlerdir. Tüm çalışılan çeşitler arasında embriyo sayısı bakımından farklılıklar bulmakla birlikte yaklaşık bitki dönüşümünü % 3.3 olarak tespit edilmiştir. 0.05 kGy uygulanan ışın dozunda sadece diploidler oluştuğunu gözlemişlerdir. 0.1 Gy' in daha fazla sayıda haploid embriyo gelişimini teşvik ettiğini doğrulamışlardır.

Taner vd (2003), acur (250, 300 ve 350 Gy) ve kavunda (300 ve 350 Gy) gama ışını kullanarak ışınlanmış polen tekniğinin haploid embriyo oluşturmada ki etkisi ve çiçek tozu canlılığı ile ışın düzeyi arasındaki ilişki üzerine incelemede bulunmuşlardır. Acurda çiçek tozu canlılığı, 250 Gy'de % 28.8, 300 Gy'de % 28.0 oranında bulunmuş olup, en düşük canlılığın ise % 19.4 ile 350 Gy'de olduğunu bildirmektedirler. Doz ve çiçek tozu yaşı arttıkça çiçek tozu canlılığının azaldığını gözlemişlerdir. Kavunda ise, ışınlarla uyartılmış çiçek tozları ile yapılan tozlamadan 72 saat sonra, 300 Gy'lik dozda uygulama yapılan anterlerde, çiçek tozu çim borularının % 64.54'ünün yumurtalığa ulaştığı ve haploid embriyo oluşumunu teşvik ettiği tespit edilmiştir. İki tür içinde haploid embriyo oluşumunda 300 ve 350 Gy'lik dozların uygulanmasının 250 Gy'e göre daha olumlu sonuçlar ortaya koyduğu bildirilmiştir.

Lotfi vd (2003), kavunda haploid bitki elde edebilmek için ışınlanmış polen tekniği ve ovaryum kültürünü karşılaştırmışlardır. Ovaryumlar Tween 20 içerisine batırılıp çıkarıldıktan sonra su ile durulanmış sonra % 100 Clorox çözeltisinde 15 dakika bekletilip, 3 defa steril saf su ile durulanmıştır. Ovaryumlar (8 - 15 mm uzunlukta) 6 - 10 parçaya bölünüp, 0.4 mg/L thiamine, 100 mg/L myo-inositol, 40 g/L süktroz ve 0.02 mg/L (0.09 µM) TDZ, % 0.8 Phytagar ve MS temel tuzları içeren besi ortamına koyulmuştur. 4-5 gün sonra ovaryum parçalarını TDZ yerine 0.05 mg/L (0.27 µM) NAA ve 0.2 mg/L (0.88 µM) BA ile modifiye edilen aynı ortama transfer etmişlerdir. Toplam olarak iki farklı genotipten 122 ovaryum kültüre alınmış ve bu ovaryumların somatik dokularından kallus oluşumu gözlemlenmiştir. Bu ovaryumlardan 5 - 6 hafta sonra 3 bitkicik elde edilmiştir. Fakat bu bitkiciklerin ploidy seviyeleri belirlenememiştir. Araştırmacılar gynogenesisin kavunda partenogenesis (ışınlanmış polen tekniği) göre daha az etkili olduğu ve embriyo oluşumunun genotipe bağlı olduğu sonucunu elde etmişlerdir.

Bal vd (2003), kavunda mikroçeliklerin geliştirilmesinde E20A ve MS besi ortamlarını kullanarak kavun mikroçeliklerinin geliştirilmesinde hormon dozlarının etkinliğini araştırmışlardır. E20A ve MS ortamlarındaki IAA miktarı, yalnızca bir konsantrasyonu (0.01 mg/l) bulunduran veya bulundurmayan ve BAP'ın ise 0.225, 1.125 ve 2.25 mg/l olmak üzere üç farklı konsantrasyonu ile kombine etmişlerdir. Çalışmanın sonunda 0.01 mg/l oranının IAA içeren E20A ortamında tek bir sürgünü olan bitkicikler elde edilirken, 0.225 mg/l oranında BAP içeren E20A ortamında ise boğumlar arası uzunluğu kısa olan ve çoklu sürgüne sahip bitkicikler elde etmişlerdir.. En iyi sürgün gelişimi BAP içermeyen ve içinde 0.01 mg/ml IAA içeren ortamından elde etmişlerdir.

Claveria vd (2005), Yeni hıyar (*Cucumis sativus* L.) homozigot double haploid hatları dirençli çeşitlerin ıslahını hızlandırabilmek için yararlı olabileceğini savunmaktadırlar. Araştırmacılar homozigot double haploid hatları, *in vivo*da indüklenen partenogenetik embriyoları *in vitro*da kurtarılmasıyla üretmişlerdir. Bu amaçla protokol geliştirmeye çalışmışlardır. Çalışmada on adet uzun iki adet kısa F₁ hibrit hıyar genotipi anne; LP₁ saf hattı ise tozlayıcı olarak kullanılmıştır. LP₁'in polenler Co⁶⁰ kaynağı kullanılarak 250 ya da 500 Gy dozlarında ışınlanmış ve emasküle edilen anne bitkilerin çiçeklerini ertesi gün bu polenler ile tozlanmıştır. Tozlamadan 3-5 hafta sonra meyveler hasat edilmiş ve 84 adet hibrit hıyar meyveleri aseptik koşullarda açılmıştır. Tohumlar X-ray radyografi ile partenogenetik embriyolar belirlenmiştir. Araştırmacılar embriyoları E20A besi ortamını modifiye ederek E20H8 besi ortamına yerleştirmişlerdir. 4 SSR markırı ile haploid hatların homozigotesini test etmişlerdir. Haploid hatları mikroçoğaltım ile *in vitro*da kolhisin uygulamasına tabii tutmuşlardır. 100- 200 çekirdek 500 mμ kolhisin eklenmiş E20H8 ortamında 48 saat tutulduktan sonra kolhisinsiz yeni ortama alınmıştır. 4-8 hafta sonra explantlardan yeni sürgünler gelişmiş ve E20H8 besi ortamında mikroçoğaltım ile 20 sürgün kurtarılmıştır.

Dolcet vd (2006), hıyarda Co⁶⁰ kaynaklı gama ışını 0.5 kGy (Kilo Gy) dozunda ışınlama yaparak partenogenetik haploid embriyo uyartımını sağlamışlardır. X ışını ile embriyoları tespit etmişler ve *in vitro*da gelişmeleri sağlamıştır. Dönüşen bitkilerin plodi seviyeleri "Flow sitometri yöntemi" ile belirlenmiştir. Haploid olarak belirlenen bitkilerin kromozomlarını katlamak için kolhisin çözeltisi kullanılmıştır. Bitkilerde kendileme yapılarak tüm hatlardan tohum elde edilmiştir.

YongBing vd (2007) kavunda haploid bitki elde edebilmede donör bitki ve dozun etkili olduğunu bildirmişlerdir. 300 ve 600 Gray'lık dozlarda gama ışını kullanmışlardır. Işınlanmış polenler ile tozlamada 5 genotip kullanmışlar, iki genotipten haploid embriyolar elde edilmiştir. Embriyo elde edilen iki genotipin biri ince (*C. melo* subsp. *melo*), diğeri ise kalın (*C. melo* subsp. *conomon*) kabukludur. Ortalama embriyo elde etme oranı % 29 olarak tesbit etmişlerdir. 300 Gray ışın dozunda kalın kabukluda % 0.55, ince kabukluda % 0.63 oranında haploid embriyo elde etmişlerdir. 600 Gray ışın dozu uygulamasından hiç embriyo elde edilememiştir.

Lotfi vd (2008), 250 Gy ile ışınladıkları hıyar polenleri ile hıyar ovaryumlarını tozlamışlardır. Ovaryumları 21 gün sonra hasat ederek, hasat edilen meyvelerden alınan tohumlar E20A ortamının sıvı kültürüne aktararak 10 gün boyunca 16 saat aydınlık-8 saat karanlık koşullarda bekletmişlerdir. Işık düzeneğinde içinde embriyo bulunan tohumlar tespit edilerek aseptik koşullarda embriyoları kültüre almışlardır. Toplamda 48 kurtarılan embriyodan 25 tane bitki rejenerasyonu gerçekleşmiştir.

Kurtar ve Balkaya (2010), Kışlık kabakta (*Cucurbita maxima* Duchesne ex Lam.) *in situ* indüklenen haploid embriyolardan *in vitro* haploid bitkilerin üretiminde ışınlanmış polenin etkisini araştırmışlardır. Poleni 50, 100, 200 ve 300 farklı gamma ışın dozlarıyla 9,11,15, 21 ve 28 temmuzda ışınlamışlardır. Olgunlaşmamış meyveler sterilize edildikten sonra steril kabin içerisinde tohumlar alınıp katı E20A ortamına koyulmuştur. *In vitro* haploid bitkiciklerin üretimi ışın dozundan, ışınlama süresinden, genotipten ve embriyo aşamasından, embriyo tipinden etkilenmiştir. Kışlık kabakta embriyolar yalnızca düşük ışın dozlarında (50 ve 100 Gy) ve erken süreçlerde (9,11 ve

15 temmuzda) elde edilmiştir. Meyve başına en yüksek embriyo sayısı 50 Gy ışın dozu uygulanan “G14” ve “55SI06” genotiplerinden üretilmiştir. Elde edilen bitkiciklerin ploidi seviyeleri direkt ve indirekt olarak belirlenmeye çalışılmıştır.

Baktemur vd (2010), kavunda ışınlanmış polen tekniğini kullanarak elde edilen embriyoların daha kolay, hızlı, etkili şekilde ayırıp çıkarabilmek için kullanılabilecek yöntemler üzerinde çalışmışlardır. Çalışmalarında kontrol uygulaması olarak “tohumların tek tek açılarak embriyoların kurtarılması” yöntemini kullanmışlardır. Bu yöntem alternatif olarak “tohumların doğrudan besi ortamına ekimi”, “tohumlara ışıktaki bakarak embriyolu tohumların ayrılması” ve “tohumların sıvı ortama ekimi” olmak üzere 3 yeni yöntem denemişlerdir. Tohumların hepsinin sıvı ortama ekimi uygulamasında embriyo gelişimi sağlanamamış ve yüksek oranda enfeksiyon sorunu ile karşılaşıldığı için embriyo gelişimi sağlanamamıştır. Diğer yöntemlerle kıyaslandığında; doğrudan besi ortamına ekimi” yönteminin süre açısından en iyi uygulama yöntemi olduğu sonucuna varmışlardır.

Berber vd (2012), çalışmaları esas olarak iki amaca yönelik yapılmıştır. Birincisi kabuksuz çekirdek kabaklarında (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*) ışınlanmış polen uyarımıyla haploid bitki elde edilmesi; ikincisi bu amaca yönelik olarak en uygun ışın dozunun araştırılmasıdır. Bitki materyali olarak on beş genotipin kullanıldığı araştırmada 50, 100 ve 150 Gray ışın dozlarını denemişlerdir. Çalışmada tüm genotiplerde toplam 2073 embriyo kurtarılmış ve bu embriyoların 979 adedi bitkiye dönüşmüştür. Araştırmada kullanılan tüm genotiplerde haploid embriyo elde edilebilmiş, genotipler arasında önemli fark çıkmamıştır. Test ettikleri her üç ışın dozu da iyi sonuç vermiştir. Fakat 150 Gray ışın dozundan daha çok haploid bitki elde etmişlerdir. Dış koşullara alıştırılan 75 bitkide indirekt yöntemlerle (çiçek tozu varlığı, yaprak ve çiçek özellikleri, stoma yoğunluğu, stomaların bekçi hücrelerinde bulunan kloroplastların sayısı) ve flow sitometri ile yapılan gözlemler sonucunda bu bitkilerin %43’nün haploid, %57’ sinin ise diploid olduğunu belirlemişlerdir. 50 Gy, 100 Gy ve 150 Gy için haploid bitki yüzdeleri sırasıyla %36.7, % 60.0 ve %100 olduğunu bildirmişlerdir.

Baktemur vd (2013), kavunda ışınlanmış polen tekniği ile oluşan embriyoların tespitinde kullanılan yöntemler üzerine bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışma ile, en kısa sürenin ve etkili bir metodun belirlenmesi amaçlanmıştır. Tek tek açma yöntemini kontrol grubu olarak ele almışlar ve bununla doğrudan CP ortamına (Kavun besi ortamı) ekim, ışıktaki bakma yöntemi, sıvı ortamda yüzdürme tekniklerini karşılaştırmışlardır. Sıvı ortamda yüzdürme tekniğinde enfeksiyon problemi yaşamışlar ve haploid bitki elde edememişlerdir. Çalışan için embriyo kurtarmada en hızlı ve en etkili yöntemin doğrudan CP ortamına ekim ve ışıktaki bakma yöntemi olduğunu bildirmişlerdir.

Taşkın vd (2013),biri ticari karpuz çeşidi (Üstün F₁) olan 2 karpuz genotipini ve Co⁶⁰ kaynağından gelen 5 farklı gamma ışın dozunu (50, 150, 200, 275 ve 300 Gy) karpuzda haploidizasyon prosedürü geliştirmek için test etmişlerdir. Tozlamadan 25 gün sonra hasat edilen meyvelerden alınan tohumları steril kabin içerisinde teker teker açmışlardır. Kurtarılan embriyoları, 30 g/l sükröz, 0.08 mg/l B12 (Siyanokobalamin), 0.02 mg/l IAA (Indolacetic acid) ile kombine edilmiş CP ortamına aktarmışlardır. Araştırma sonucunda 100 tohumdan 3.57 haploid embriyo elde ettiklerini, 1. genotipin

en başarılı genotip olduğunu belirtmişlerdir. Hasat edilen 43 meyveden 60 adet haploid embriyo elde etmişlerdir. Diğer ışın dozları arasında 275 Gy ışın dozunun 100 tohumda 5.76 haploid embriyo ile diğer dozlardan daha iyi olduğu sonucuna varmışlardır. 275 Gy ışın dozu ile ışınlanmış 1. genotipte 100 tohumdan 6.25 haploid embriyo oranı ile haploid embriyoların maksimum sayısını elde etmişlerdir.

Baktemur vd (2014), Kabakta etkili bir haploidizasyon tekniği geliştirmek için 14 genotip ve 3 farklı ışın dozunu test etmişlerdir. Bunun için erkek çiçekleri anthesisten 1 gün önce toplayıp; 150, 200 ve 300 Gy gamma ışın dozu ile ışınlamışlar, aynı gün dişi çiçekler yabancı polen girişini engellemek için pens ile kapatmışlar ve ertesi gün ışınlanmış olan bu polenler ile dişi çiçekleri tozlamışlardır. Çalışmanın ilk yılı 150 ve 200 Gy ışın dozunu ertesi yıl 300 Gy ışın dozunu kullanmışlardır. Kabak meyvelerini tozlamadan 35 gün sonra hasat edip su ile yıkayarak ön sterilizasyona tabii tutmuşlardır. Kuru yakma yöntemi ile meyveleri sterilize edip; tohumları steril kabin içerisinde elde etmişlerdir. Daha sonra binoküler mikroskop altında tüm tohumlar tek tek açılıp embriyolarını kontrol etmişlerdir. Elde edilen embriyolar CP besisi ortamı içeren kültür tüplerine alınmış ileriyeleyen dönemlerde tohum sayısı, haploid ve diploid embriyo sayısı her bir genotip ve ışın dozu için ayrı ayrı sayılmıştır. İlk yıl çalışmalarında 219 meyveden 1858 embriyo elde etmişler; 150 Gy uygulanandan 1358 embriyo, 200 Gy uygulanandan 500 embriyo elde etmişlerdir. % 12.42 embriyo ile Genotip 3, en başarılı genotip bulunmuştur. 150 ve 200 Gy ışın dozu uygulanan meyvelerden sırasıyla % 9.12, % 3.53 haploid embriyo elde edilmiştir. Denemenin 2. yılında 14 genotipten 8 genotip seçilmiştir. 217 meyveden 2625 haploid, 1378 diploid embriyo elde edilmiş; 150 Gy, 200 Gy ve 300 Gy'den sırasıyla 2010, 539 ve 76 haploid embriyo elde edilmiştir. % 13.35 embriyo oranı ile en başarılı genotip ise Genotip 6 bulunmuştur.

Kosmrlj vd (2014), çalışmalarında styrian yağlık bal kabağı (*Cucurbita pepo* L. subsp. *pepo* var. *styriaca* Greb.) için uygun optimal çimlenme ortamı oluşturmaktır. Farklı pH değerlerinde ve süktroz, mannitol, and polyethylene glycol eklenmiş Brewbaker and Kwack çimlenme ortamı test edilmiş; optimum ortam koşulları pH 9 ve % 12 lik süktroz içeren ortam olduğunu bulmuşlardır.

3. MATERYAL VE METOT

Araştırma 2015-2016 yılları arasında Kuzey Agripark Bitki, Araştırma ve Biyolojik Mücadele San. ve Tic. Ltd. Şti. istasyonunda gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Çalışmanın yürütüldüğü yer

3.1. Materyal

Yapılan çalışmada bitkisel materyal olarak Kırkağaç ve Galia tipi kavun ıslah materyalleri Kuzey Agripark Firması'na ait olup firma tarafından yetiştirilmiştir. Galia' dan K-7, K-12, K-13 ; Kırkağaç'tan ise K-17 hatları bitkisel materyal olarak kullanılmak üzere belirlenmiştir.

3.2. Metot

Araştırmanın amacı kavunda Kırkağaç ve Galia genotipleri için en uygun ışın dozu ve en uygun besi ortamı kombinasyonunu belirleyerek haploid bitkiler elde etmektir.

3.2.1. Bitkilerin yetiştirilmesi

Denemelerde kullanılacak genotiplerin tohumları torf ve perlit karışımı içeren viyollere ekilmiş (Şekil 3.2.a) ve viyollerin üzerleri vermikulit ile örtülüp, sulanmıştır (Şekil 3.2.b). Daha sonra violler 25°C ve min %85 nem içeren çimlenme odalarında çimlenmeye bırakılmışlardır. Tohum çimlenmesi ve çıkışını takiben usulüne uygun sulama ve gübreleme işlemleri ile gerekli ilaçlamalar yapılmıştır. Denemede kullanılacak genotiplerin tohumların çimlenmesinde başarı sağlanmış ve sağlıklı başlangıç materyallerine sahip olunmuştur (Şekil 3.2.c).

Bitkicikler, topraktan kaynaklanabilecek olumsuz şartların etkisini azaltmak için daha kontrollü olarak sağlayan topraksız kültürde yetiştirilmek üzere seralara getirilmişlerdir (Şekil 3.2.d). Dikimden önce kokopitler uygun hale getirilmiştir. Daha sonra her çeşit için uygun bir lot numarası verilmiş ve her bir hattın ayrı olarak dikimi yapılmıştır (Şekil 3.2.e). Dikimi yapılan fidelere sırasıyla;

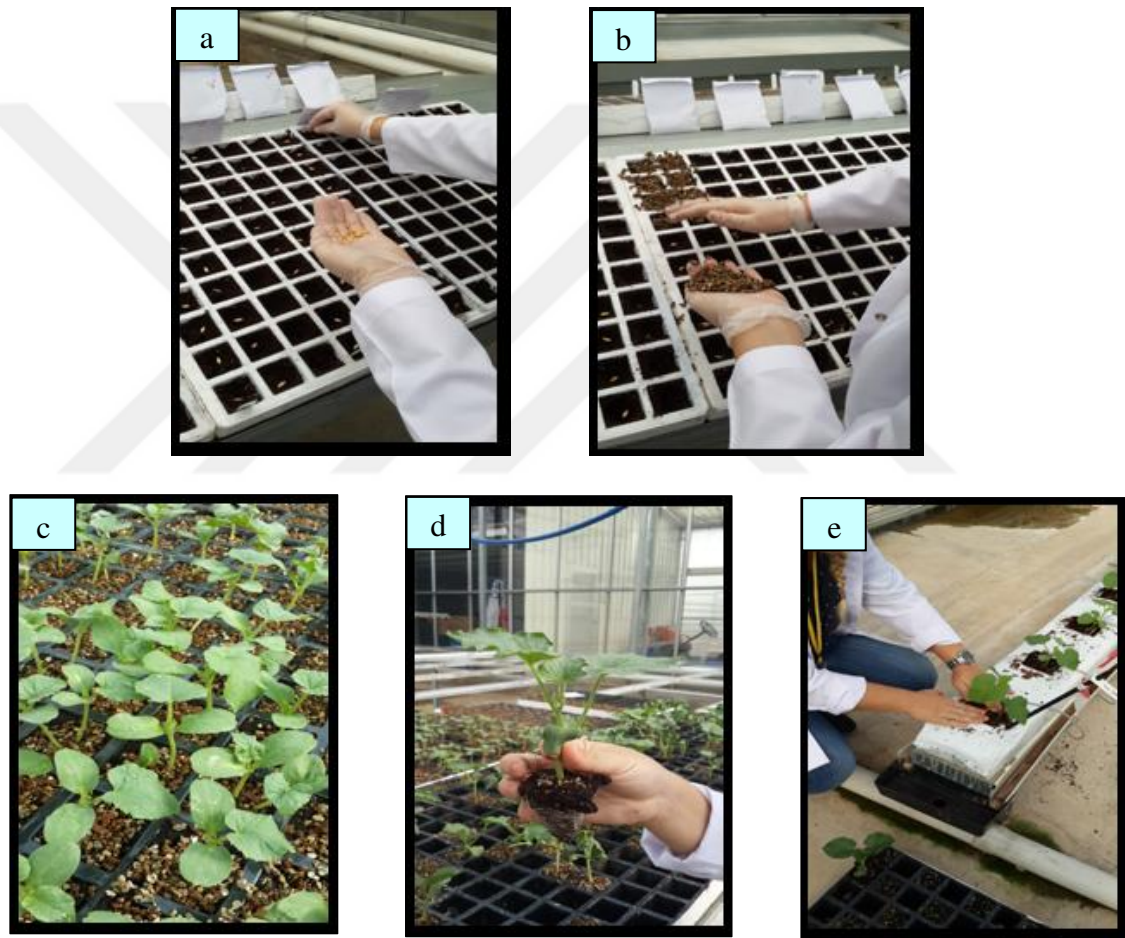
-Uzayan sürgünlerin iplerle desteklenmesi ve ipe dolanması (İpe alma ve dolama)

-Bitkinin dipten 50 cm yüksekliğe kadar büyüyen sürgünlerinin alımı, üstteki sürgünlerin meyve tutumundan sonra 1-2 yaprak bırakılarak tepe alınması (Budama)

-Ürünün sera içerisinde mevsim koşullarına uygun yetişebileceği ortamın sağlanması, gerekli sulama rejiminin uygulanması ve takibinin yapılması, bitkiyi gözlemleyerek ihtiyaç duyduğu gübreleme programını yapılıp uygulanması (Sulama ve gübreleme)

-Bitkinin hastalık ve zararlı kontrollerinin düzenli olarak yapılması ve gözlemler sonucunda ilaçlama programının uygulanması (İlaçlama) işlemleri yapılmıştır.

Işınlanmış polenle tozlama ve tohum alımı işlemlerinin gerçekleştirilebilmesi için tüm genotiplerden sağlıklı ve güçlü bitkiler elde edilmiştir.



Şekil 3.2. Seçilen genotiplere ait tohumların ekimi; a) Tohumların viyole yerleştirilmesi b) Viyollere ekilen tohumların üzerinin torf ile örtülmesi, c) Viyollere ekimi yapılan tohumların çimlenmesi, d) Çimlenen tohumlardan fidelerin eldesi, e) Elde edilen fidelerin topraksız koşulda yetiştirilmek üzere kokopit içeren torbalara dikilmesi

3.2.2. Işınlanmış polenler ile *in situ* partenogenesis uyartımı

3.2.2.1. Emaskülasyon

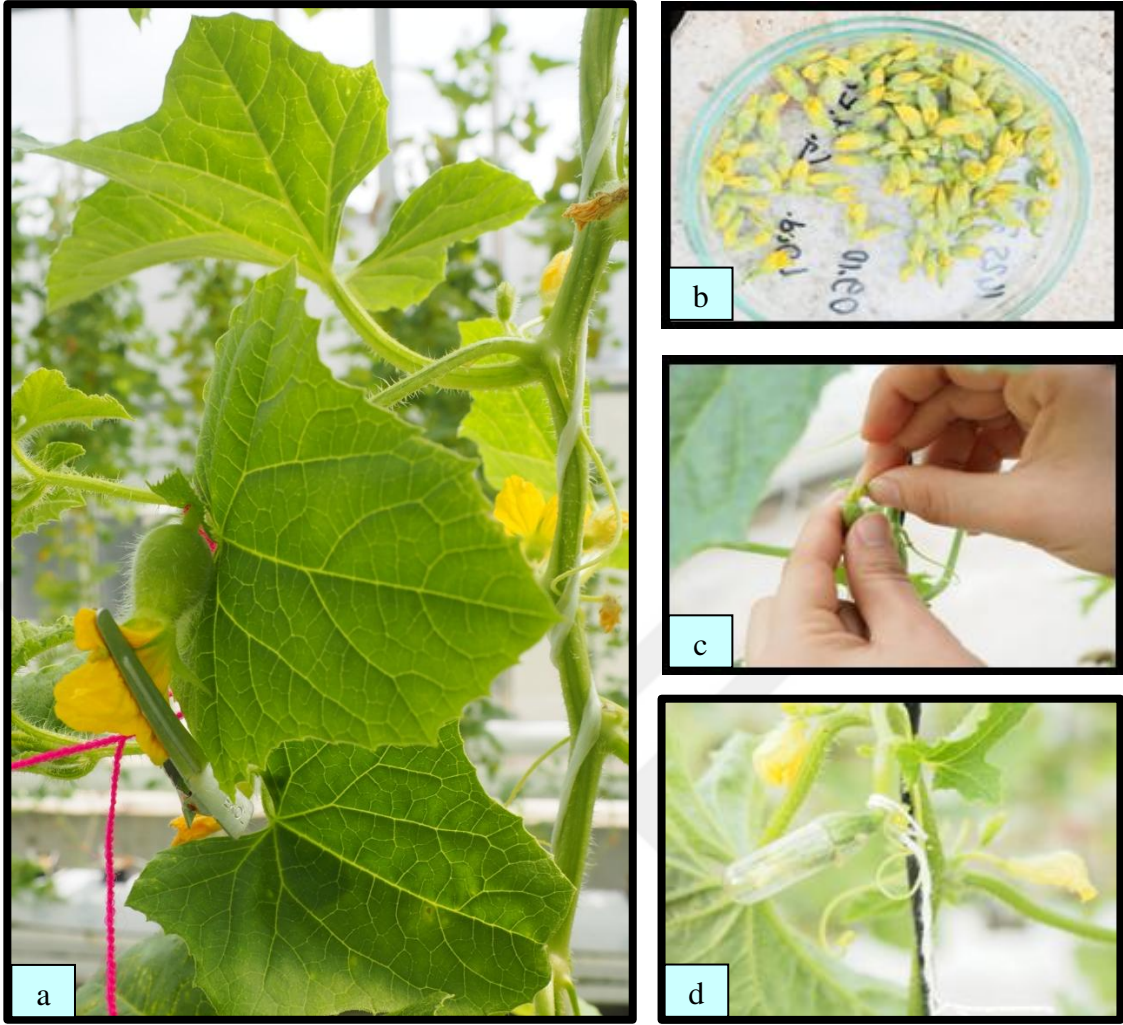
Emaskülasyon işlemi anthesisten 1 gün önceki aşamada bulunan çiçek tomurcuklarına (kapalı durumda bulunan taç yaprakların uç kısımlarının yeşilden sarıya dönüşme aşamasında) uygulanmıştır. Kullanılan tomurcuklar henüz kapalı iken ince uçlu bir pens yardımıyla emasküle edilmiştir. Emaskülasyon işleminden sonra yabancı çiçek tozlarının girişini engellemek için dişi çiçekler penslerle kapatılarak izole edilmiştir (Şekil 3.3.a).

3.2.2.2. Erkek çiçeklerin toplanması, ışınlanması ve muhafazası

Çiçek tozlarının elde edilmesi için anthesisten bir önceki güne rastlayan büyüklükte, henüz açılmamış fakat iyi gelişmiş erkek çiçek tomurcukları seçilerek toplanmıştır. Bu tomurcuklar taç ve kısmen çanak yapraklardan ayrıldıktan sonra çiçek tozu taşıyan anterler, 9 cm çaplı cam petri kaplarına konularak gama ışınıyla muameleye tabii tutulmuştur (Şekil 3.3.b). Işınlama işlemi için Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoterapi biriminde bulunan ışın kaynağından yararlanılmıştır. Co⁶⁰ kaynağından gelen ve daha önce yapılan çalışmalar esas alınarak, çalışma amacı doğrultusunda 250, 300 ve 350 Gy dozlarında gama ışını kullanılmıştır. Işınlanan anterler oda koşullarında 1 gece bekletilerek patlamaları sağlanmıştır.

3.2.2.3. Tozlama

Tozlama ışınlamanın ertesi günü sabahın erken saatlerinde emasküle edilmiş her dişi çiçek için 1-2 erkek çiçek tomurcuğunun stigma üzerine sürülmesi şeklinde yapılmıştır (Şekil 3.3.c). Tozlamadan sonra böcek ya da yabancı polen girişini engellemek için çiçekler izolasyon tüpleri ile izole edilmiştir (Şekil 3.3.d). İlerleyen günlerde çiçeklerdeki döllenme durumu kontrol edilerek, dişi çiçeğin şişkinleşmeye başladığı ve stigmanın kuruduğu dönemde izolasyon için kullanılan tüpler çıkarılmıştır.

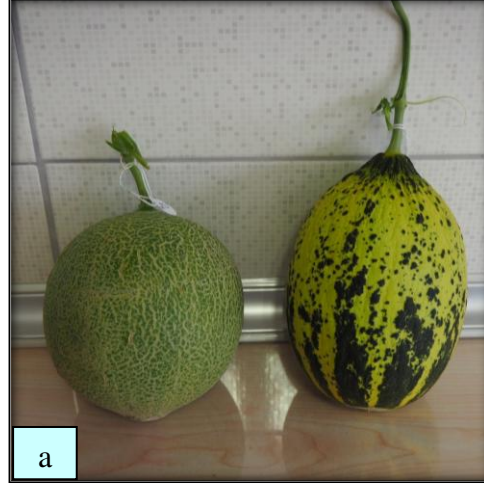


Şekil 3.3. *In situ* çalışmalar; a) Anthesisten bir gün önce izole edilen dişi çiçek, b) Işınlanmak üzere toplanmış erkek çiçekler, c) Işınlanmış erkek çiçeklerin polenlerinin emasküle edilmiş dişi çiçeğin stigmasına sürülerek tozlanması, d) Tozlanan dişi çiçeğin başka polen girişini engellemek üzere izole edilmesi

3.2.3. *In vitro* çalışmaları

3.2.3.1. Dezenfeksiyon

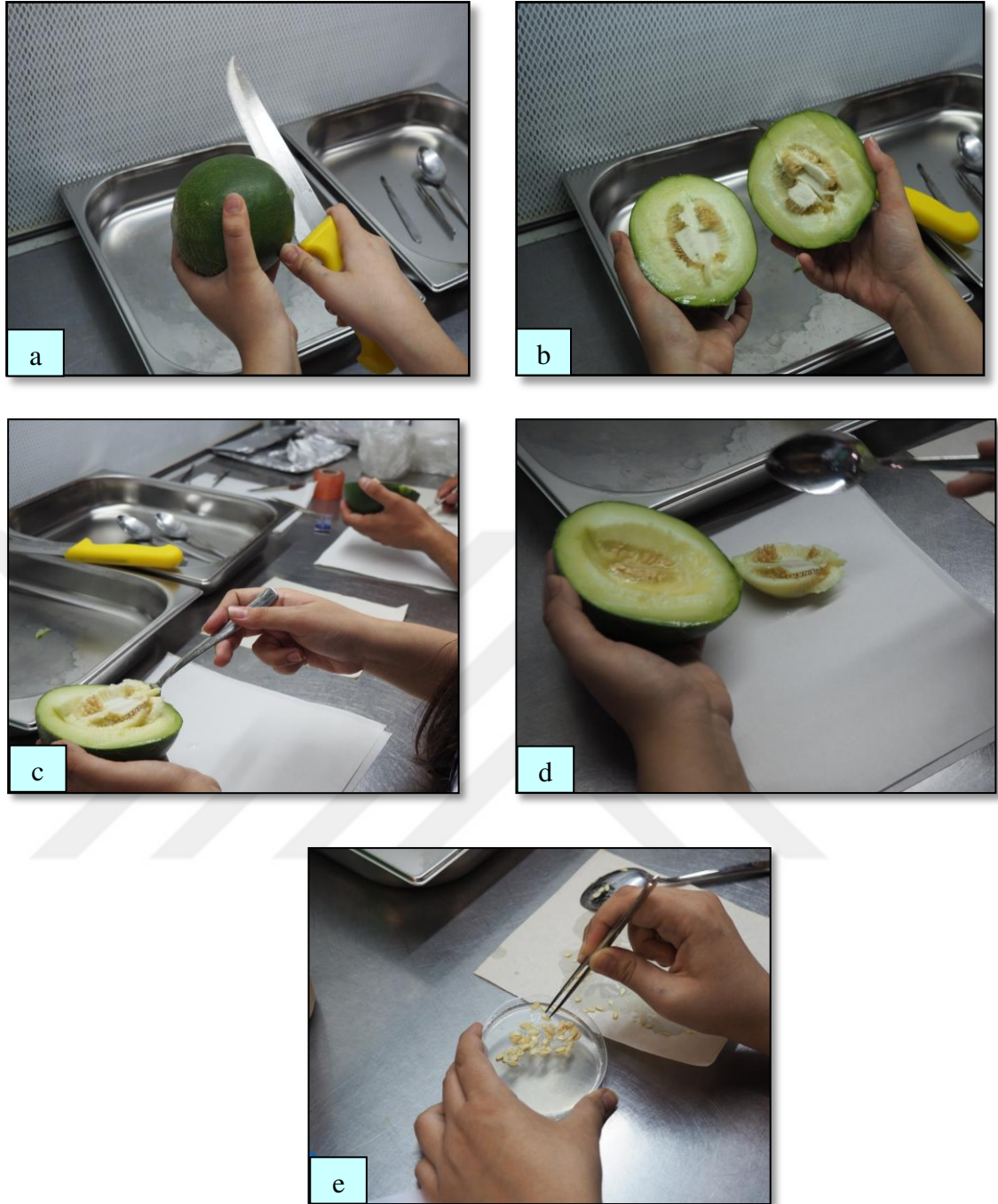
Tozlamadan 25-30 gün sonra irileşen “kelek” diye tabir edilen meyveler laboratuvara getirilmiştir (Şekil 3.4.a). Meyveler önce bulaşık deterjanı ile yıkanıp sonra % 15 lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 10 dk muamele edilip durulanmıştır. Ardından steril kabin içerisine alınan meyveler % 96 lık saf etil alkol kullanılarak (Şekil 3.4.b) kuru yakma yöntemi ile dezenfekte edilmiştir (Şekil 3.4.c).



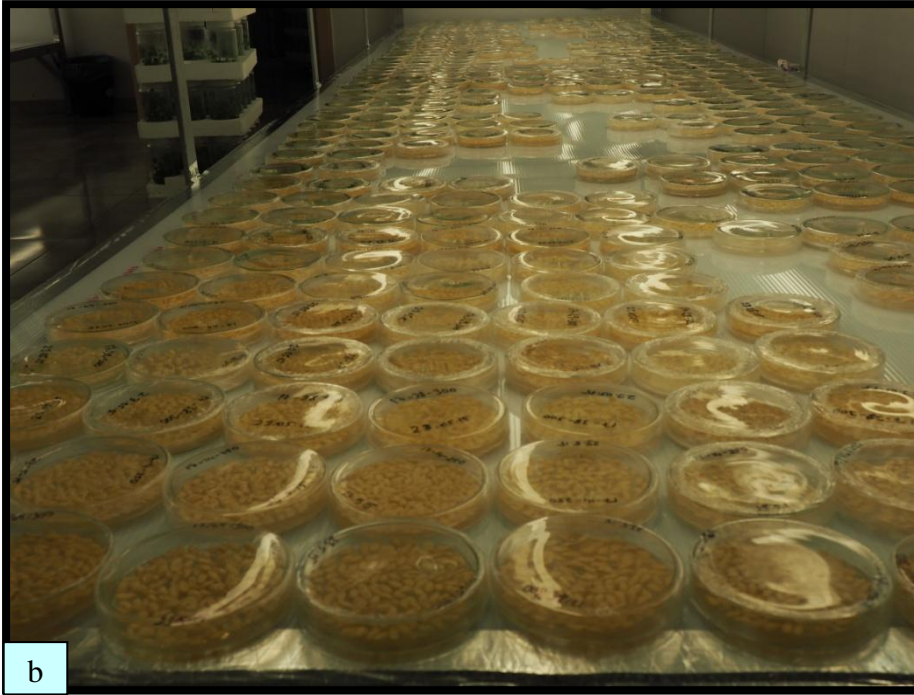
Şekil 3.4. a) Hasat aşamasına gelen Galia ve Kırkağaç genotipli kavun meyveleri, b) Meyvenin kuru yakma yöntemi için alkol ile muamele edilmesi, c) Meyvenin kuru yakma yöntemi ile dezenfekte edilmesi

3.2.3.2. Tohumların çıkartılması ve besi ortamına yerleştirilmesi

Steril kabin içerisinde kuru yakma yöntemi ile dezenfekte edilen meyveler steril edilmiş bıçak yardımıyla çok derin olmadan çekirdek evine değdirmeden kanırtmak suretiyle boyuna kesilmiştir (Şekil 3.5.a). Kesilen meyveler ikiye ayrılmış (Şekil 3.5.b) ve tohumlar steril filtre kağıdı üzerine steril bir kaşık yardımıyla koyulmuştur (Şekil 3.5.c). Kaşık ve pens yardımıyla meyve etinden temizlenen tohumlar temiz bir diğer filtre kağıdı üzerine koyularak (Şekil 3.5.d) meyve suyu emdirilmiştir. Çalışma kapsamında üç besi ortamından Daha sonra tohumlar sırasıyla CP (Chee vd, 1992), E20A (Sauton, 1987) ve MS (Murashige ve Skoog, 1962) besi ortamlarını ihtiva eden petrilere ekilmiştir (Şekil 3.5.e). Kullanılan CP (Çizelge 3.1), E20A (Çizelge 3.2) ve MS (Çizelge 3.3) besi ortamlarının kimyasal içerikleri verilmiştir. Tohum ekimi gerçekleştirilen petrilere sıcaklığı $25 \pm 1^\circ\text{C}$ olan ve 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak şekilde hazırlanmış iklim odasında 1 hafta inkübe edilmiştir (Şekil 3.6 a,b).



Şekil 3.5. a) Meyvenin boyuna kesim, b) Meyvenin ikiye ayrılmış hali, c) Tohumların tohumların meyveden çıkarılması, d) Steril kaşık ile filtre kağıdına koyulması, e) Tohumların besi ortamına yerleştirilmesi



Şekil 3.6. a,b) Petrilerin inkübe edildiği kültür odası

Çizelge 3.1. CP Besi Ortamının Kimyasal İçerikleri (Chee vd 1992)

Makro Elementler	Miktarı (mg/l)	Mikro Elementler	Miktarı (mg/l)
CaCl ₂	332.02	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
KCl	2237.00	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
KH ₂ PO ₄	170.00	H ₃ BO ₃	6.20
KNO ₃	2022.00	KI	0.83
MgSO ₄	180.54	MnSO ₄ .H ₂ O	16.90
NH ₄ NO ₃	1601.00	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0.25
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	250	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.60
		FeNa ₂ EDTA	36.70
Vitaminler	Miktarı (mg/l)	Büyüme Düzenleyiciler	Miktarı (mg/l)
Myo-inositol	9.01	IAA	0.01
Nikotonik Asit	0.123		
Pyridoxine HCl	0.103		
Thiamine HCl	0.169		
B ₁₂	0.008		

Çizelge 3.2. E20A Besi Ortamının Kimyasal İçerikleri (Sauton 1987)

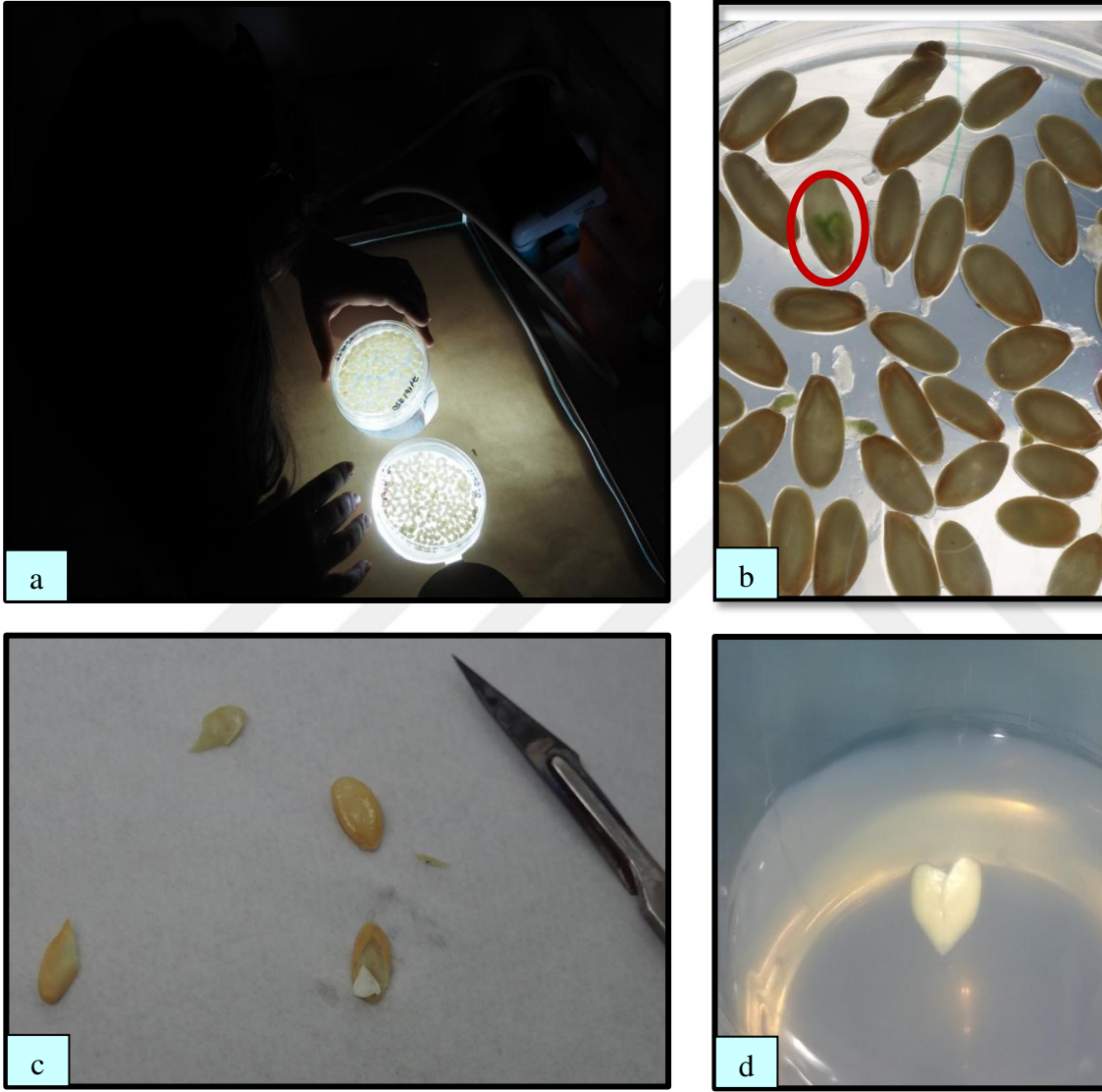
Makro Elementler	Miktarı (mg/l)	Mikro Elementler	Miktarı (mg/l)
KNO ₃	1075.0	MnSO ₄ .H ₂ O	11.065
NH ₄ NO ₃	619.0	ZnSO ₄ .7H ₂ O	1.812
MgSO ₄ .7H ₂ O	206.0	H ₃ BO ₃	1.575
CaCl ₂ .2H ₂ O	156.5	KI	0.345
KH ₂ PO ₄	71.0	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.094
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	25.0	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.008
NaH ₂ PO ₄ .4H ₂ O	19.0	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.008
(NH ₄) ₂ SO ₄	17.0	FeNa ₂ EDTA	36.70
KCl	3.5		
Vitaminler ve Amino Asitler	Miktarı (mg/l)	Büyüme Düzenleyiciler	Miktarı (mg/l)
Myo-inositol	50.300	IAA	0.01
Pyridoxine HCl	5.500		
Nikotinik Asit	0.700		
Thiamine HCl	0.600		
Calcium Pantothenate	0.500		
Biotine	0.005		
Glycine	0.100		

Çizelge 3.3. MS Besi Ortamının Kimyasal İçerikleri (Murashige ve Skoog 1962)

Makro Elementler	Miktarı (mg/l)	Mikro Elementler	Miktarı (mg/l)
KNO ₃	1900	H ₃ BO ₃	6.2
NH ₄ NO ₃	1650	MnSO ₄ .7H ₂ O	15.6
MgSO ₄ .7H ₂ O	370	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
CaCl ₂ .2H ₂ O	440	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
KH ₂ PO ₄	170	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
		CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
		KI	0.83
		FeNa ₂ EDTA	36.70
Vitaminler	Miktarı (mg/l)	Büyüme Düzenleyiciler	Miktarı (mg/l)
Myo-inositol	100	IAA	0.01
Nikotonik Asit	0.123		
Pyridoxine HCl	0.103		
Thiamine HCl	0.169		

3.2.3.3. Tohumlardaki embriyo tespiti ve embriyoların çıkartılması

Petri kaplarında ortama alınan tohumlarda 1 hafta içinde embriyo kontrolü ışık altında yapılmıştır. Embriyo gelişimi olan tohumlar işaretlenmiştir. Embriyolar pens ve bisturi yardımıyla tohum içinden zedelenmeden çıkarılmış ve embriyo gelişimi için kullanılan tüplerdeki besin ortamına konulmuştur (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. a) Embriyoların ışıktaki tespiti, b) Embriyo tespit edilen tohumların işaretlenmesi, c) Embriyoların çıkarılması, d) Kalp aşamasına gelen embriyo

3.3.4. Ploidi seviyesinin belirlenmesi ve morfolojik incelemeler

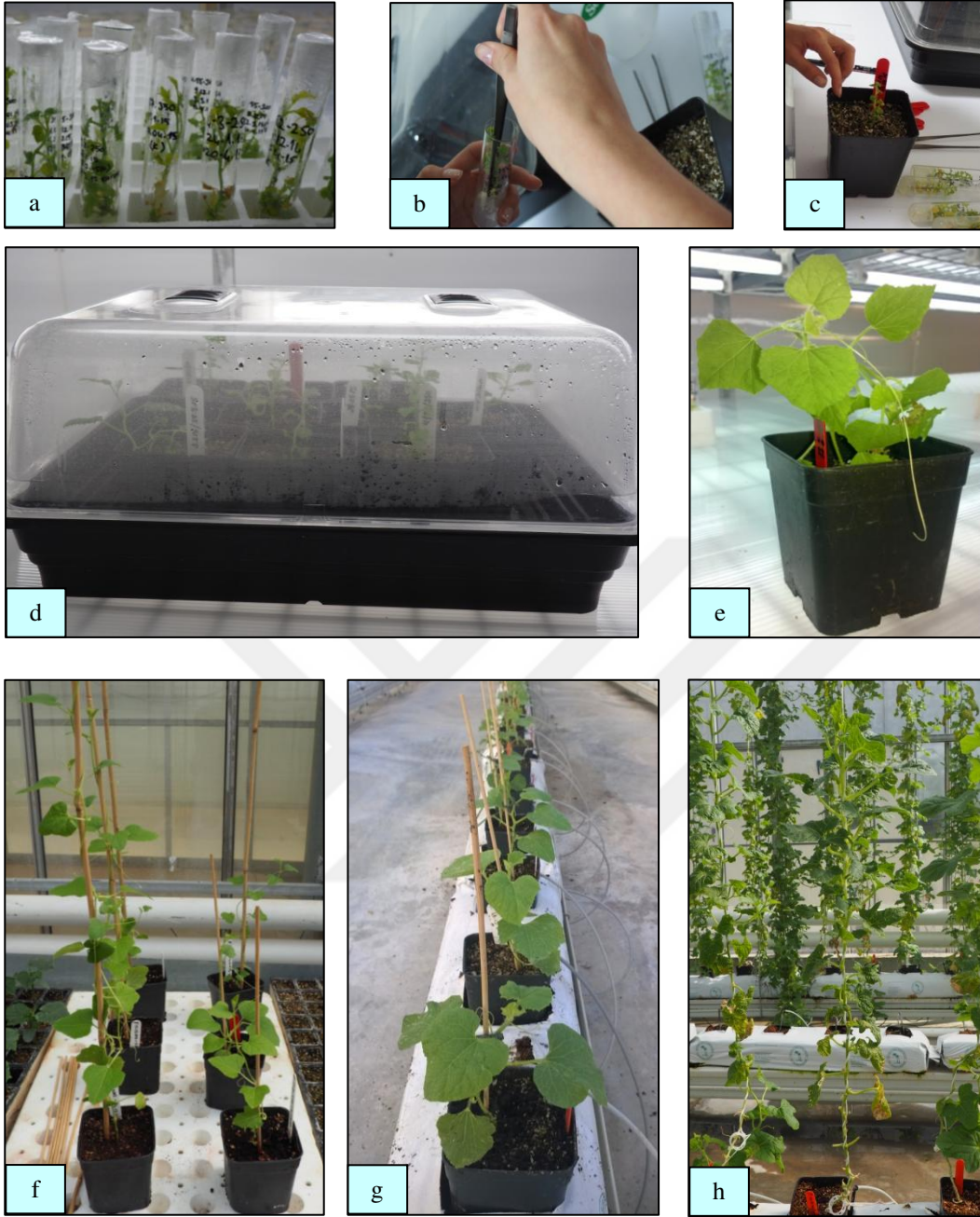
Tüplere alınan kalp aşamasındaki haploid embriyolar yaklaşık 3 hafta sonra tüp boyuna erişmiş ve kolhisin uygulaması aşamasına gelmiştir (Şekil 3.8). Kolhisin, double-haploid bitki elde edebilmede kromozom katlamasını teşvik etmek amacıyla kullanılmıştır. Steril ortamda kökleri uzaklaştırılan bitkiler 3 boğum arası uzunluğa kadar bekletilip, her bir eksplantta 1 tomurcuk olacak şekilde kesilerek bir bitkicikten 3-4 adet mikro çelik elde edilmiştir. Elde edilen mikro çelikler % 0.5' lik kolhisin çözeltisinde 2 saat bekletildikten sonra çelikler besi ortamı içeren tüplere aktarılacak köklenmeleri sağlanmıştır (Şekil 3.9). Daha sonra bitkiler fide aşamasına gelinceye kadar laboratuvar koşullarında büyütülmüştür. Büyüyen bitkicikler steril torf içeren mini saksılara şaşırtılmış; mini saksılar da in vitro koşullarda mini seralara konularak alıştırma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Fide aşamasına gelen double haploid bitkiler seraya aktarılmıştır (Şekil 3.10). Sera koşullarına aktarılan bitkilerden, yaklaşık olarak 2 hafta sonra yaprak örnekleri toplanmıştır. Laboratuvar ortamına getirilen yapraklar, yaprak eti ile zar kısmı ayrılacak şekilde yırtılmıştır. Ayrılan zar, lam üzerine bistüri yardımı ile alınarak yerleştirilmiş ve üzerine 1 damla saf su damlatılmıştır. Hava boşluğu kalmayacak şekilde lamel ile kapatılarak preperat hazırlanmıştır. Hazırlanan preperat floresan mikroskobu (Olympus Marka) yardımı ile incelenmiştir. Sayıma göre; stomalar üzerindeki kloroplast sayıları ve büyüklükleri göz önüne alınmıştır.



Şekil 3.8. a) Tüplere alınan embriyoların birkaç gün sonraki hali, b) Yaklaşık 1 hafta sonraki bitkicik, c) Yaklaşık iki hafta sonraki bitkicik, d) Tüp boyuna erişip kolhisin uygulaması aşamasına gelen bitkicik



Şekil 3.9. a) Kolhisin filtre sterilizasyonu yapılışı, b) Mikro çeliklerin kesilmesi, c) Mikro çeliklerin kolhisin çözeltisine atılması, d) Mikro çeliklerin kolhisin çözeltisinde bekletilmesi, e) Kolhisin uygulanan çeliğin besi ortamına dikilmesi, f) Besi ortamındaki köksüz çelik



Şekil 3.10. a) Tüplerdeki Double Haploid bitkicikler, b) Bitkiciğin tüpten çıkarılması, c) Bitkiciğin steril torf içeren saksılara dikilmesi, d) Saksıların mini seralara alınması, e) Mini seralardan saksıların çıkarılması, f) Saksıların seraya getirilmesi, g) Bitkilerin torf torbalarına yerleştirilmesi, h) Seralarda gelişen bitkiler

4. BULGULAR

4.1. Hasat Edilen Meyve Sayıları

K-7 genotipinden 250 Gy ışın dozu kullanarak tozlanan çiçeklerden 13'ü, 300 Gy ışın dozu kullanılanlardan 14'ü, 350 Gy ışın dozu kullanılanlardan ise 3 adeti meyveye dönüşmüştür. K- 12 genotipinden 250 Gy ışın dozu uygulanarak tozlanan çiçeklerden 6'sı, 300 Gy ışın dozu kullanılanlardan 12'si, 350 Gy ışın dozu kullanılanlardan 8 adeti meyveye dönüşmüştür . K-13 genotipinden ise 250 Gy ışın dozu uygulanarak tozlanan çiçeklerden 8'i, 300 Gy ışın dozu uygulanandan 14'ü, 350 Gy ışın dozu uygulanandan ise 11 adeti meyveye dönüşmüştür. Toplamda 250, 300 ve 350 Gy ışın dozu kullanarak tozlanan K-7 genotipinden 30, K-12 genotipinden 26, K-13 genotipinden 33 meyve olmak üzere toplamda Galia genotipinden 89 meyve hasat edilmiş ve denemede kullanılmıştır.

K-17 genotipinden ise 250 Gy ışın dozu uygulanarak tozlanan çiçeklerden 14'ü, 300 Gy uygulanandan 20'si, 350 Gy uygulanandan ise 12 adeti meyveye dönüşmüş olup; Kırkağaç genotipinden toplamda 46 adet meyve hasat edilmiş ve denemede kullanılmıştır.

Çizelge 4.1. Galia ve Kırkağaç genotiplerinde hasat edilen meyve sayısı (Adet)

Genotip	Işın Dozu (Gy)	Meyve Sayısı (Adet)
K-7 (Galia)	250	13
	300	14
	350	3
K-12 (Galia)	250	6
	300	12
	350	8
K-13 (Galia)	250	8
	300	14
	350	11
K-17 (Kırkağaç)	250	14
	300	20
	350	12

4.2. Tohumların Çıkartılması

Tozlamadan 21-25 gün sonra olgunlaşmamış ham meyveler hasat edilip laboratuvara getirilmiştir. Dezenfeksiyon sonrası kabin içerisinde steril koşullarda çıkarılan tohumlar E20A,CP ve MS besi ortamı içeren petrilere direkt olarak ekilmiştir. 250, 300 ve 350 Gy ışın dozlarıyla tozlanarak elde edilen meyvelerin Galia tipinden K-7, K-12 ve K-13 genotipleri ve Kırkağaç tipinden K-17 genotipinin tohumlarının ortalama olarak sayıları Çizelge 4.2'te verilmiştir. Çizelge 4.2 ye bakılacak olunursa; K-7 genotipinin 250 Gy ışın dozu uygulanarak elde edilmiş tohum sayısı 2801, 300 Gy ışın dozu uygulanarak elde edilmiş tohum sayısı 2802; 350 Gy ışın dozu uygulanarak elde

edilmiş tohum sayısı ise 603 adettir. Genel olarak toplamda K-7 genotipinin meyvesinden elde edilen tohum sayısı 6206 adettir. K-12 genotipinin tohum sayılarına bakılacak olunursa; 1194 adet 250 Gy ışın dozu uygulanandan, 2414 adet 300 Gy ışın dozu uygulanandan, 1605 adet ise 350 Gy ışın dozu uygulanmış polenlerle tozlanarak elde edilmiş meyvelerden alınan tohum sayılarıdır. K-12 genotipinden toplamda 5213 adet tohum elde edilmiştir. K-13 genotipinin tohum sayıları ise; 250 Gy ışın dozundan 1602, 300 Gy ışın dozundan 2805 ve 350 Gy ışın dozu uygulanandan da 2205 adet olmak üzere toplamda 6612 adet tohum elde edilmiştir. Kırkağaç genotipli K-17'nin ise; 250 Gy ışın dozu uygulanması sonucu elde edilmiş tohum sayısı 2808, 300 Gy ışın dozu uygulanandan 3519 ve 350 Gy'den 2533 adettir.

Çizelge 4.2. Galia ve Kırkağaç genotiplerinden çıkan tohum sayısı (Adet)

Genotip	Işın Dozu (Gy)	Tohum Sayısı (Adet)
K-7 (Galia)	250	2801
	300	2802
	350	603
K-12 (Galia)	250	1194
	300	2414
	350	1605
K-13 (Galia)	250	1602
	300	2805
	350	2205
K-17 (Kırkağaç)	250	2808
	300	3519
	350	2533

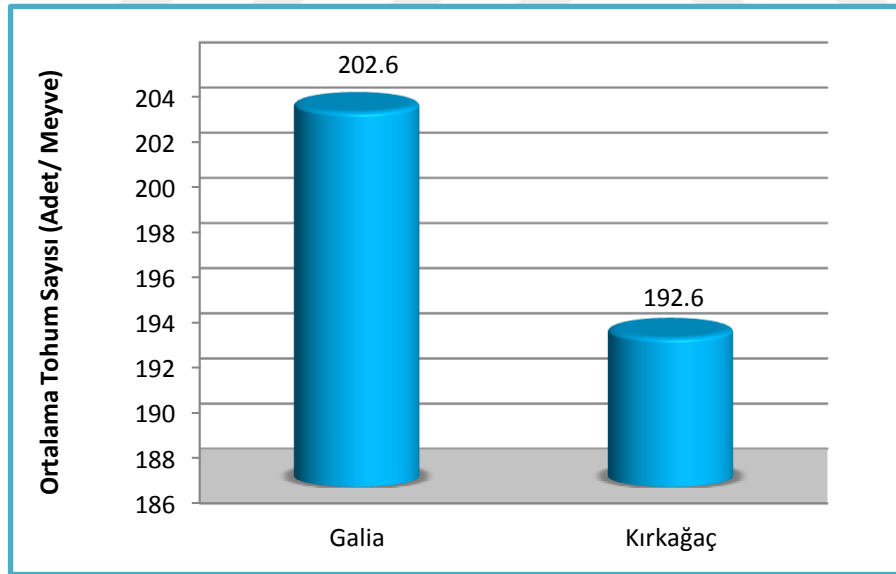
4.3. Meyve Başına Düşen Ortalama Tohum Sayısı

250-300-350 Gy ışın dozu kullanılarak ışınlanmış polenlerle yapılan tozlamalar sonucu elde edilen meyvelerden çıkan ortalama tohum sayıları Çizelge 4.3'te gösterilmiştir. Üç ışın dozu uygulanarak yapılan tozlamadan elde edilen toplam 135 meyveden çıkarılan ortalama tohum sayısı 199.2 adet/meyve'dir.

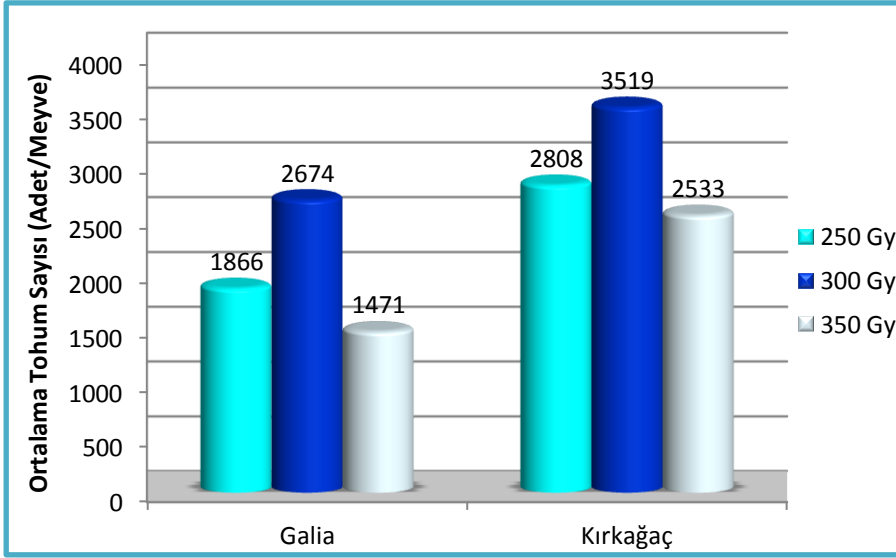
Galia genotiplerinden toplam 89 meyveden elde edilen toplam tohum sayısı 18031 adet olup ortalama tohum sayısı 202.6 adet/meyve'dir. Kırkağaç genotipinden ise toplamda 8860 adet tohumdan 192.6 adet/meyve ortalama olarak tohum elde edilmiştir. Kırkağaç tipinin Galia tipine nazaran daha düşük ortalama tohum sayısına sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.1). Uygulanan ışın dozu bazında ise; 300 Gy dozun ortalama tohum sayısı daha fazladır (Şekil 4.2).

Çizelge 4.3. Galia ve Kırkağaç genotiplerinin meyvelerinden çıkan ortalama tohum sayısı (Adet/ Meyve)

Genotip	Işın Dozu (Gy)	Meyve Sayısı (Adet)	Tohum Sayısı (Adet)	Ortalama Tohum Sayısı (Adet/Meyve)	Genotiplerin Ortalama Tohum Sayısı (Adet/Meyve)
K-7 (Galia)	250	13	2801	215.5	206.9 ± 8.64
	300	14	2802	200.1	
	350	3	603	201.0	
K-12 (Galia)	250	6	1194	199.0	200.5 ± 1.14
	300	12	2414	201.2	
	350	8	1605	200.6	
K-13 (Galia)	250	8	1602	200.3	200.4 ± 0.1
	300	14	2805	200.4	
	350	11	2205	200.5	
K-17 (Kırkağaç)	250	14	2808	200.6	192.6 ± 18.02
	300	20	3519	176.0	
	350	12	2533	211.1	



Şekil 4.1. Galia ve Kırkağaç tiplerinde ortalama tohum sayısı



Şekil 4.2. Işın dozlarına göre ortalama tohum sayısı

4.4. Tohumların Besi Ortamına Yerleştirilmesi

250, 300 ve 350 Gy ışın dozlarının uygulaması sonucu tüm genotiplerden elde edilen tohumlar ışın dozlarına göre E20A, CP ve MS besi ortamlarına ortalama olarak eşit olacak şekilde üçe bölünerek yerleştirilmiştir. Her petriye ortalama 100-120 adet tohum ekimi gerçekleştirilmiştir. Embriyo kurtarmada ideal ışın dozuna uygun en ideal besi ortamı tespit edilmeye çalışılmıştır.

250 Gy ışın dozu kullanılarak elde edilen K-7 genotipinden elde edilen toplam tohum sayısı 2801 adet olup bunlar üç ortama eşit olacak şekilde paylaştırılmıştır. Aynı şekilde 300 Gy ışın dozundan gelen tohum sayısı 2802 adet olup üçe bölünmüştür. 350 Gy'den ise 603 adet tohum elde edilmiştir. Böylelikle K-7 genotipinden 6206 adet tohumun 2075'i E20A besi ortamına, 2118'i CP besi ortamına ve 2013'i MS besi ortamına yerleştirilmiştir. Toplamda K-12 genotipinin tohum sayısı 5213 adet olup; E20A ortamına yerleştirilen ortalama tohum sayısı 1851, CP ortamına yerleştirilen 1685 ve MS ortamına yerleştirilen ise 1677 adettir. K-13 genotipinin tohumları toplam olarak 6612 adet olup; E20A besi ortamına 2334 adet, CP besi ortamına 2067 adet ve MS ortamına 2211 adet tohum yerleştirilmiştir. Aynı genotipte 250 Gy ışın dozu ile muamele edilerek elde edilen toplam tohum sayısı 1602 adet, 300 Gy'den 2805 adet, 350 Gy'den ise; 2205 adettir. K-17 genotipinin toplam tohum sayısı ise 6327 adettir. Bunlardan 250 Gy ışın dozundan çıkan toplam tohum sayısı 2808, 300 Gy'den 3519 ve 350 Gy'den ise 2533 adettir. E20A besi ortamına yerleştirilen tohumların sayısı 2957 adet iken; CP besi ortamına yerleştirilen 3017 adet, MS'e yerleştirilen ise 2886 adettir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Galia ve Kırkağaç genotiplerinin besi ortamlarına yerleştirilen ortalama tohum sayısı (Adet)

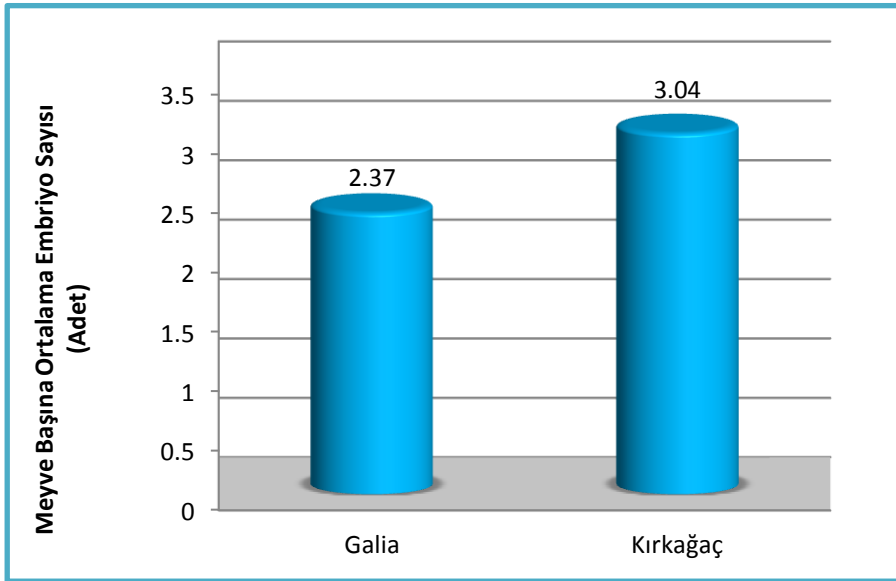
Genotip	Işın Dozu (Gy)	Besi Ortamı	Tohum Sayısı (Adet)
K-7 (Galia)	250	E20A	889
		CP	1017
		MS	895
	300	E20A	989
		CP	871
		MS	942
	350	E20A	197
		CP	230
		MS	176
K-12 (Galia)	250	E20A	502
		CP	398
		MS	294
	300	E20A	856
		CP	759
		MS	799
	350	E20A	493
		CP	528
		MS	584
K-13 (Galia)	250	E20A	463
		CP	576
		MS	563
	300	E20A	1006
		CP	922
		MS	877
	350	E20A	865
		CP	569
		MS	771
K-17 (Kırkağaç)	250	E20A	883
		CP	934
		MS	991
	300	E20A	1173
		CP	1249
		MS	1097
	350	E20A	901
		CP	834
		MS	798

4.5. Tohumlardan Embriyo Çıkartılması

1 hafta sonra petriler açılmadan ışık kaynağında bakılarak embriyo tespiti yapılmış ve kalp aşamasına gelen embriyolar yeni besi ortamı içeren tüplere aktarılmıştır. Her üç ışın dozuyula tozlanarak elde edilen 135 meyveden 351 adet embriyo elde edilmiştir. K-7 genotipi ise en düşük orana sahiptir Genotipler Galia ve Kırkağaç olarak karşılaştırılacak olunursa; Galia genotipinde 89 meyveden 211 embriyo elde edilerek 2.37 oranında ortalama olarak meyve başına embriyo kurtarılır iken; Kırkağaç genotipinde, 46 meyveden 140 adet embriyo elde edilmiş ve 3.04 oranında ortalama olarak meyve başına embriyo kurtarılmıştır (Çizelge 4.5). Verilere göre Kırkağaç genotipinin meyve başına kurtarılan embriyo sayısının daha yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 4. 3).

Çizelge 4.5. Genotiplere göre meyve başına kurtarılan ortalama embriyo sayısı (Adet/Meyve)

Genotip	Meyve Sayısı (Adet)	Embriyo Sayısı (Adet)	Meyve Başına Kurtarılan Ortalama Embriyo Sayısı (Adet/Meyve)
K-7 (Galia)	30	55	1.83
K-12 (Galia)	26	68	2.62
K-13 (Galia)	33	88	2.67
K-17 (Kırkağaç)	46	140	3.04

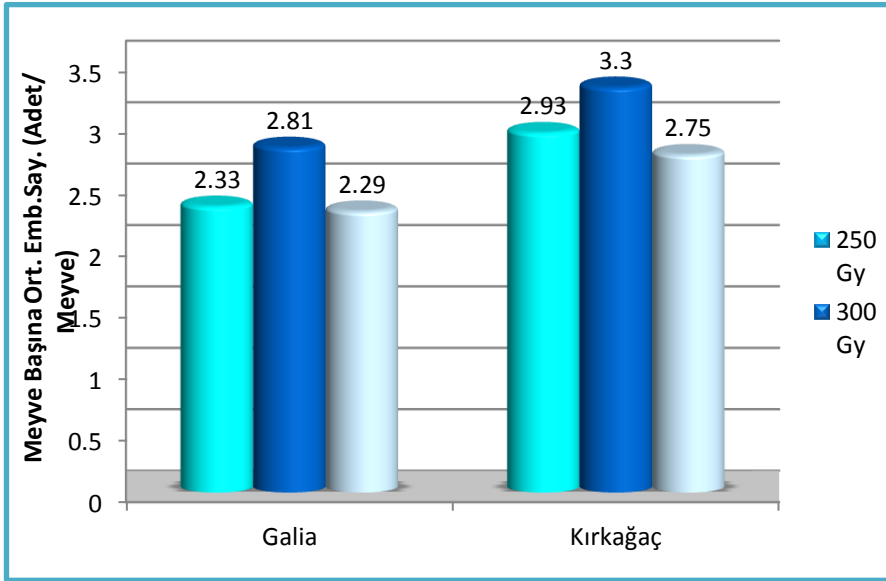


Şekil 4. 3. Galia ve Kırkağaç tiplerine göre meyve başına kurtarılan ortalama embriyo sayısı

Işın dozları ile embriyo uyartımı arasındaki ilişki incelendiğinde en fazla embriyonun 300 Gy ışın dozu uygulanan K-13 genotipinde; en az embriyonun ise 300 Gy ışın dozu uygulanan K-7’de olduğu görülmektedir (Çizelge 4.6). Meyve başına ortalama embriyo sayısı ile ışın dozun arasındaki ilişkiye bakılacak olunursa; 300 Gy ışın dozunda oranın daha yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 4.4).

Çizelge 4.6. Işın dozlarına göre meyve başına kurtarılan ortalama embriyo sayısı

Genotip	Işın Dozu (Gy)	Meyve Sayısı (Adet)	Embriyo Sayısı (Adet)	Meyve Başına Kurtarılan Embriyo Sayısı (Adet/Meyve)
K-7 (Galia)	250	13	30	2.30
	300	14	16	1.14
	350	3	9	3.00
K-12 (Galia)	250	6	12	2.00
	300	12	38	3.17
	350	8	18	2.25
K-13 (Galia)	250	8	21	2.63
	300	14	49	3.50
	350	11	18	1.64
K-17 (Kırkağaç)	250	14	41	2.93
	300	20	66	3.30
	350	12	33	2.75



Şekil 4.4. Işın dozuna göre Galia ve Kırkağaç tiplerinde meyve başına kurtarılan ortalama embriyo sayısı

Tüm genotipler ayrı ayrı incelendiğinde K-7 genotipinin 55 adet toplam embriyo sayısı mevcut olup; E20A ortamından elde edilen 18, CP ortamından elde edilen 21 ve MS ortamından elde edilen ise 16 adettir. Işın dozu olarak ise; 250 Gy ışın dozundan 30 adet, 300 Gy ışın dozundan 16, 350 Gy ışın dozundan 9 adet toplam olarak embriyo elde edilmiştir. Çizelge 4.7’te görüldüğü üzere toplam embriyo sayısı değerlendirilecek olunursa; en yüksek toplam embriyo sayısı CP ortamında elde edilir iken; en düşük MS besi ortamından elde edilmiştir. Işın dozlarından 250 Gy ışın dozundan elde edilen embriyo sayısı yüksek iken; ayrı ayrı incelendiğinde; CP besi ortamının 250 Gy ışın dozunda 11 adet embriyo sayısı ile diğerlerine göre en yüksek değer elde edilmiştir. En düşük ise 350 Gy ışın dozu ile MS ortamından elde edilmiştir.

Çizelge 4.7. K-7 Genotipinin(Galia) tohumdan çıkan embriyo sayısı (Adet)

BESİ ORTAMI	IŞIN DOZU			TOPLAM
	250 Gy	300 Gy	350 Gy	
E20A	10	5	3	18
CP	11	6	4	21
MS	9	5	2	16
TOPLAM	30	16	9	55

K-12 genotipinde çıkan toplam embriyo sayısı 68 adet olup; 19 adet E20A'dan, 25 adet CP'den, 24 adet MS besi ortamından elde edilen toplam embriyo sayısıdır. Işın dozu olarak 12 adet 250 Gy ışın dozundan, 38 adet 300 Gy ışın dozundan ve 18 adet 350 Gy ışın dozu kullanılarak elde edilen tohumlardan çıkan toplam embriyo sayısıdır. En yüksek toplam embriyo sayısı 25 adet ile CP ortamından olurken; en düşük 19 adet ile E20A ortamından elde edilmiştir. Genel olarak bakıldığında; 16 adet embriyo, MS besi ortamından 300 Gy ışın dozu kullanılarak elde edilmiştir. En düşük embriyo sayısı ise; E20A ve MS besi ortamlarından 250 Gy ışın dozu kullanılarak elde edilmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. K-12 Genotipinin (Galia) tohumdan çıkan embriyo sayısı (Adet)

BESİ ORTAMI	IŞIN DOZU			TOPLAM
	250 Gy	300 Gy	350 Gy	
E20A	2	11	6	19
CP	8	11	6	25
MS	2	16	6	24
TOPLAM	12	38	18	68

K-13 genotipinde çıkan toplam embriyo sayısı 88 adet olup; 12 adet E20A'dan, 31 adet CP'den, 45 adet MS besi ortamından elde edilen toplam embriyo sayısıdır. Işın dozu olarak 250 Gy ışın dozundan 21 adet, 300 Gy ışın dozundan 49 adet ve 18 adet 350 Gy ışın dozu kullanılarak elde edilen tohumlardan çıkan toplam embriyo sayısıdır. En yüksek toplam embriyo sayısı 45 adet ile MS besi ortamından; en düşük ise 12 adet ile E20A besi ortamından elde edilmiştir. K-13 genotipinden; 23 adet embriyo sayısı ile CP besi ortamından 300 Gy ışın dozu kullanılarak en yüksek embriyo sayısı elde edilmiştir. En düşük ise; 350 Gy doz uygulanan E20A ve CP besi ortamlarından elde edilmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. K-13 Genotipinin (Galia) tohumdan çıkan embriyo sayısı (Adet)

BESİ ORTAMI	IŞIN DOZU			TOPLAM
	250 Gy	300 Gy	350 Gy	
E20A	4	7	1	12
CP	7	23	1	31
MS	10	19	16	45
TOPLAM	21	49	18	88

K-17 genotipinden toplam olarak 140 adet embriyo elde edilmiş; bunlardan 48'i E20A besi ortamından elde edilen, 47'si CP besi ortamından elde edilen ve 45'i MS besi ortamından elde edilen embriyo sayılarıdır. Işın dozu olarak ise; 250 Gy ışın dozundan 41 adet, 300 Gy ışın dozundan 66 adet, 350 Gy ışın dozundan 33 adet toplam olarak embriyo elde edilmiştir. K-17 genotipinin ışın dozu ve besi ortamı bazında toplam embriyo sayısı değerlendirilecek olunursa; en yüksek toplam embriyo sayısı E20A besi ortamından elde edilirken; en düşük ise MS besi ortamından elde edilmiştir. 300 Gy ışın dozu kullanılarak elde edilen embriyo sayısı en yüksektir. Genel olarak Kırkağaç genotipinde 350 Gy ışın dozu kullanılarak elde edilen embriyo sayısı diğer ışın dozuna göre daha düşüktür (Çizelge 4.10).

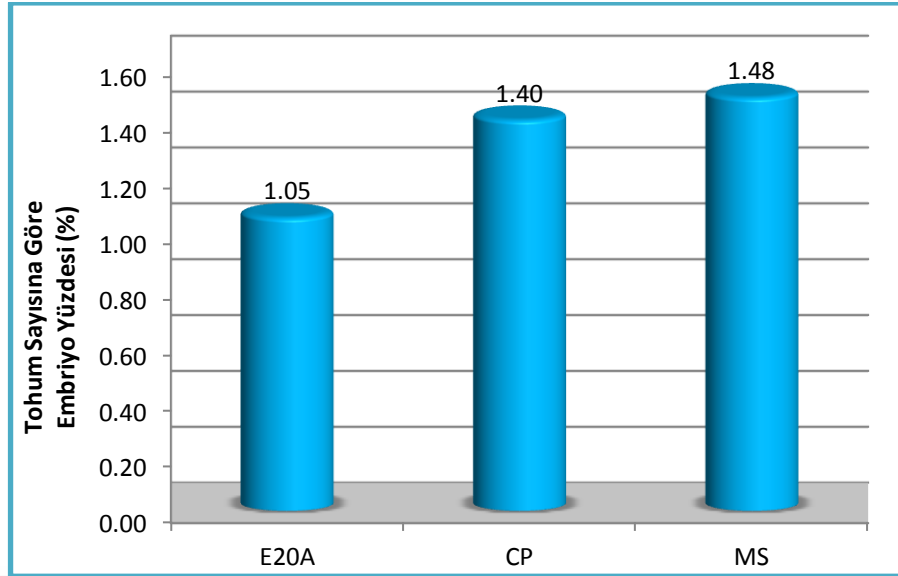
Çizelge 4.10. K-17 Genotipinin (Kırkağaç) tohumdan çıkan embriyo sayısı (Adet)

BESİ ORTAMI	IŞIN DOZU			TOPLAM
	250 Gy	300 Gy	350 Gy	
E20A	14	23	11	48
CP	13	23	11	47
MS	14	20	11	45
TOPLAM	41	66	33	140

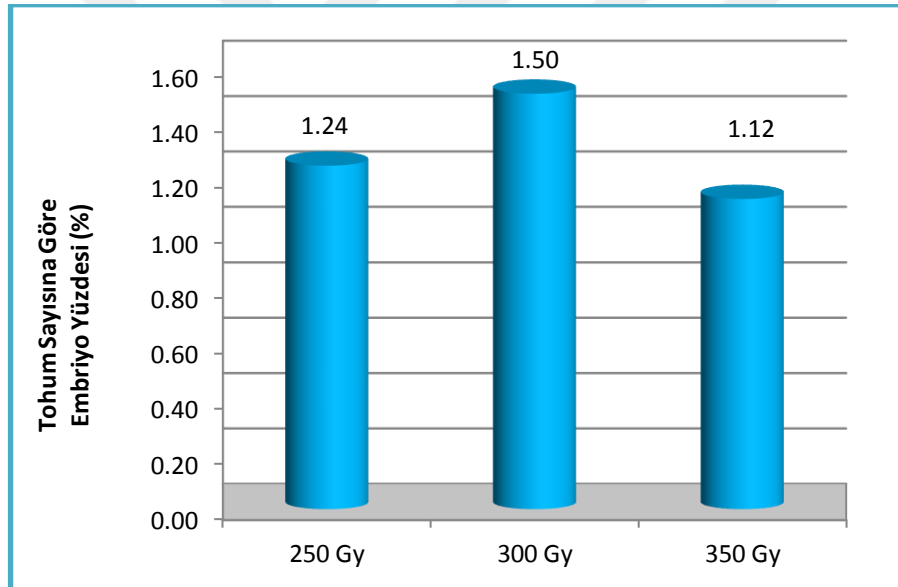
K-7 (Galia) genotipinde 250 Gy ışın dozu kullanılarak elde edilen tohumlardan elde edilen toplam embriyo sayısının en yüksek oranda olduğu gözlenmiştir. 350 Gy uygulama dozu tüm ortamlarda embriyo sayısı bakımından en düşük değerde olmasına rağmen, en yüksek embriyo oranına sahiptir. Bu genotipte besi ortamları karşılaştırıldığında, tüm üç ışın dozu için hem kurtarılan embriyo sayısı hem de embriyo yüzdesi CP ortamında en yüksektir. K-12 (Galia) genotipinde kurtarılan embriyo sayısı ve embriyo yüzdesinde en yüksek değer CP ortamından elde edilmiştir. K-12 genotipinde kurtarılan en yüksek embriyo sayısı 300 ışın dozu uygulanarak MS besi ortamındaki embriyolardan elde edilmiştir. En düşük embriyo yüzdesi MS ve E20A ortamlarında 250 Gy ışın dozu uygulanandadır. Tüm ortamlar göz önüne alındığında embriyo sayısı en fazla olan ışın dozu 300 Gy uygulanan dozdur. K-13 Galia genotipinde embriyo yüzdeleri, uygulanan ışın dozu ve besi ortamlarına göre farklılık göstermiştir. Fakat en yüksek embriyo sayısı ve embriyo yüzdesi tüm ortamlar için 300 Gy ışın dozunda CP besi ortamında olduğu saptanmıştır. K-17 Kırkağaç genotipinde tüm ortamlarda, en yüksek embriyo yüzdesi ve sayısı 300 Gy ışın dozunda elde edilmiştir. En düşük embriyo yüzdesi ve embriyo sayısı ise 350 Gy ışın dozundadır (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Tohum sayısına göre embriyo sayısı ve embriyo yüzdesi

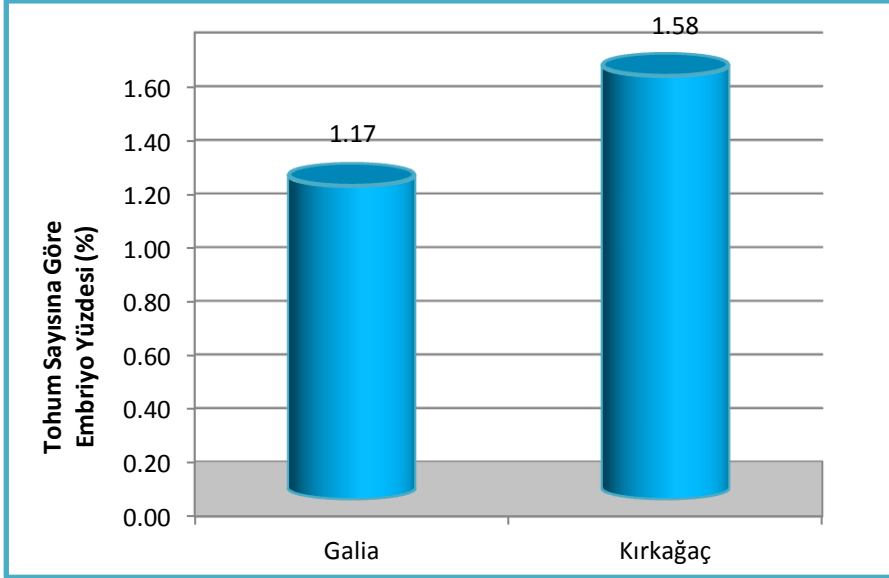
Genotip	Işın Dozu (Gy)	Besi Ortamı	Tohum Sayısı (Adet)	Embriyo Sayısı (Adet)	Embiyo Yüzdesi (%)
K-7 (Galia)	250	E20A	889	10	1.12
		CP	1017	11	1.08
		MS	895	9	1.00
	300	E20A	989	5	0.50
		CP	871	6	0.69
		MS	942	5	0.53
	350	E20A	197	3	1.52
		CP	230	4	1.74
		MS	176	2	1.14
K-12 (Galia)	250	E20A	502	2	0.40
		CP	398	8	2.01
		MS	294	2	0.68
	300	E20A	856	11	1.19
		CP	759	11	1.45
		MS	799	16	2.00
	350	E20A	493	6	1.22
		CP	528	6	1.14
		MS	584	6	1.03
K-13 (Galia)	250	E20A	463	4	0.86
		CP	576	7	1.22
		MS	563	10	1.78
	300	E20A	1006	7	0.70
		CP	922	23	2.49
		MS	877	19	2.17
	350	E20A	865	1	0.12
		CP	569	1	0.17
		MS	771	16	2.07
K-17 (Kırkağaç)	250	E20A	883	14	1.59
		CP	934	13	1.39
		MS	991	14	1.41
	300	E20A	1173	23	1.96
		CP	1249	23	1.84
		MS	1097	20	1.82
	350	E20A	901	11	1.22
		CP	834	11	1.32
		MS	798	11	1.37



Şekil 4.5. Ortam bazında ortalama embriyo yüzdesi



Şekil 4.6. Işın dozu bazında ortalama embriyo yüzdesi



Şekil 4.7. Genotip bazında ortalama embriyo yüzdesi

4.6. Embriyoların Bitkiye Dönüşmesi

K- 7 genotipinde toplam olarak 7 adet bitki elde edilmiştir. CP ortamında tüm ışın dozu uygulamalarında ve aynı zamanda 350 Gy ışın dozunda tüm ortamlarda bitki elde edilememiştir. En yüksek bitki sayısı E20A ortamında 300 Gy ışın dozu uygulanarak elde edilmiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. K-7 Genotipinin embriyodan dönüşen bitki sayısı (Adet)

BESİ ORTAMI	IŞIN DOZU			TOPLAM
	250 Gy	300 Gy	350 Gy	
E20A	1	4	0	5
CP	0	0	0	0
MS	2	0	0	2
TOPLAM	3	4	0	7

K-12 genotipinin toplam bitki sayısı 33 adet olup; en yüksek bitki sayısı MS ortamında 300 Gy ışın dozu uygulanarak elde edilmiştir. Tüm ortamlarda 350 Gy ışın dozu uygulamalarında embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. K-12 Genotipinin embriyodan dönüşen bitki sayısı (Adet)

BESİ ORTAMI	IŞIN DOZU			TOPLAM
	250 Gy	300 Gy	350 Gy	
E20A	0	1	0	1
CP	8	8	0	16
MS	0	16	0	16
TOPLAM	8	25	0	33

K-13 genotipinden Toplamda 82 adet bitki elde edilmiştir. Tüm ışın dozu uygulamalarında embriyodan bitkiye dönüşüme en çok yanıt veren ortam MS besi ortamı olduğu gözlenmiştir. Fakat CP besi ortamında 300 Gy ışın dozu uygulamaları en yüksek oranda bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. K-13 Genotipinin embriyodan dönüşen bitki sayısı (Adet)

BESİ ORTAMI	IŞIN DOZU			TOPLAM
	250 Gy	300 Gy	350 Gy	
E20A	0	7	0	7
CP	7	23	0	30
MS	10	19	16	45
TOPLAM	17	49	16	82

K-17 genotipinde toplamda 5 adet bitki elde edilmiştir. CP besi ortamında tüm ışın dozu uygulamalarında bitki elde edilememiştir. Tüm ışın dozu uygulamalarında E20A besi ortamında 1'er adet bitki oluşmuştur (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. K-17 Genotipinin embriyodan dönüşen bitki sayısı (Adet)

BESİ ORTAMI	IŞIN DOZU			TOPLAM
	250 Gy	300 Gy	350 Gy	
E20A	1	1	1	3
CP	0	0	0	0
MS	1	1	0	2
TOPLAM	2	2	1	5

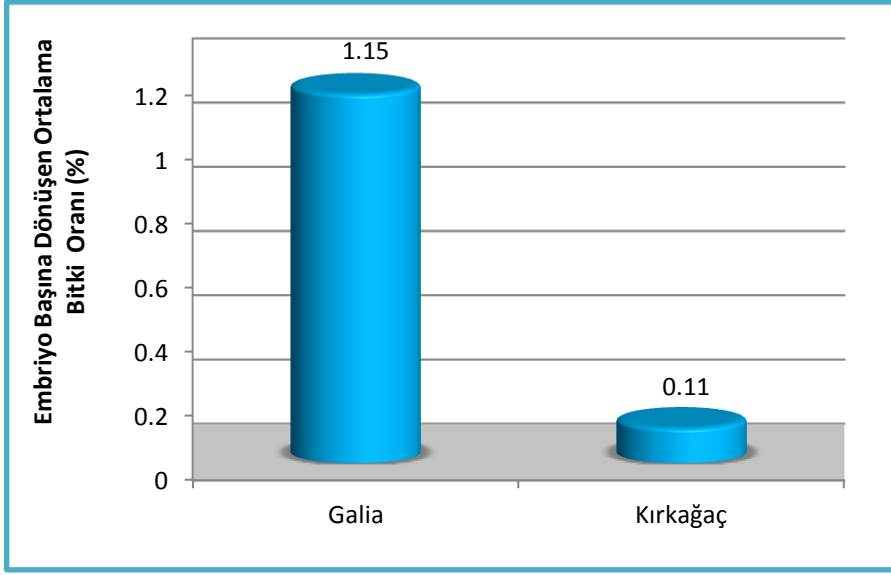
En yüksek meyve başına oluşan bitki sayısı 300 Gy ışın dozu uygulanan ve meyve başına kurtarılan embriyo sayısı ile aynı olan K-13 genotipinde gözlenmiştir. 350 Gy ışın dozu uygulanan K-7 ve K-12 genotipinde meyve başına oluşan bitki sayısının 0 olduğu saptanmıştır. K-7 ve K-12 genotipinde meyve başına kurtarılan embriyo sayısı yüksek iken; meyve başına oluşan bitki sayısı oldukça düşük olduğu görülmüştür. Fakat K-13 genotipinde ise meyve başına kurtarılan embriyo sayısı oranları ile meyve başına oluşan bitki sayısı oranları arasında çok az fark olduğu görülmüştür. Galia genotiplerinden K-7, K-12 ve K-13 tüm ışın dozu uygulamaları esas alınarak karşılaştırıldığında meyve başına bitki sayısı bakımından en çok yanıt veren genotipin K-13 olduğu tespit edilmiştir. Kırkağaç genotipinden olan K-17'de ise meyve başına kurtarılan embriyo sayısı yüksek iken meyve başına oluşan bitki sayısı oranı oldukça düşüktür (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. Embriyo başına oluşan bitki sayısı (Adet/ Meyve)

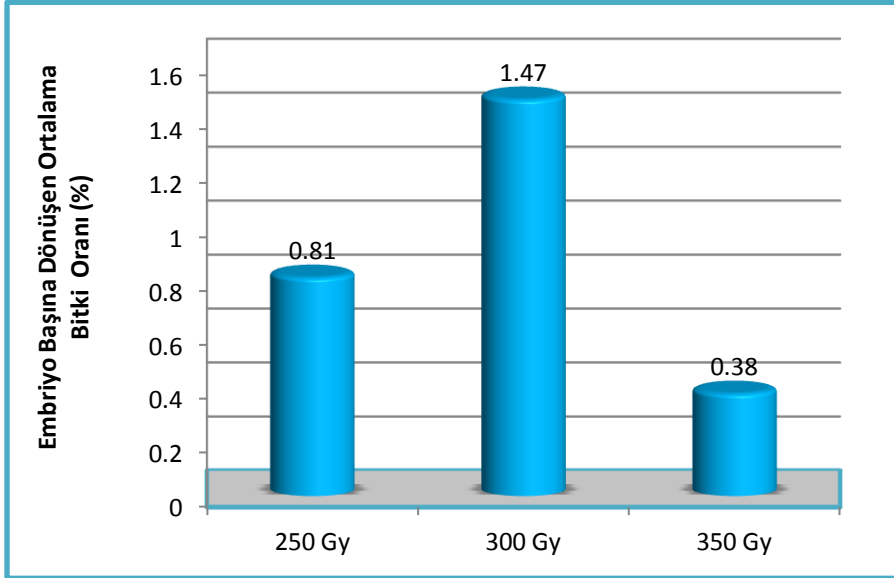
Genotip	Işın Dozu (Gy)	Meyve Sayısı (Adet)	Meyve Başına Kurtarılan Embriyo Sayısı (Adet/Meyve)	Embriyo Başına Oluşan Bitki Sayısı (Adet/Meyve)
K-7 (Galia)	250	13	2.30	0.23
	300	14	1.14	0.20
	350	3	3.00	0.00
K-12 (Galia)	250	6	2.00	0.75
	300	12	3.17	2.08
	350	8	2.25	0.00
K-13 (Galia)	250	8	2.63	2.13
	300	14	3.50	3.50
	350	11	1.64	1.45
K-17 (Kırkağaç)	250	14	2.93	0.14
	300	20	3.30	0.11
	350	12	2.75	0.08

Galia ve Kırkağaç kavun tipleri embriyo başına dönüşen ortalama bitki sayısı bakımından karşılaştırıldığında; Galia tipinde embriyo başına dönüşen ortalama bitki sayısı daha yüksektir (Şekil 4.8).

250, 300 ve 350 Gy ışın dozu bazında embriyodan dönüşen bitki sayısına bakıldığında; en yüksek bitki sayısına sahip olan 300 Gy ışın dozu uygulananlardır (Şekil 4.9).



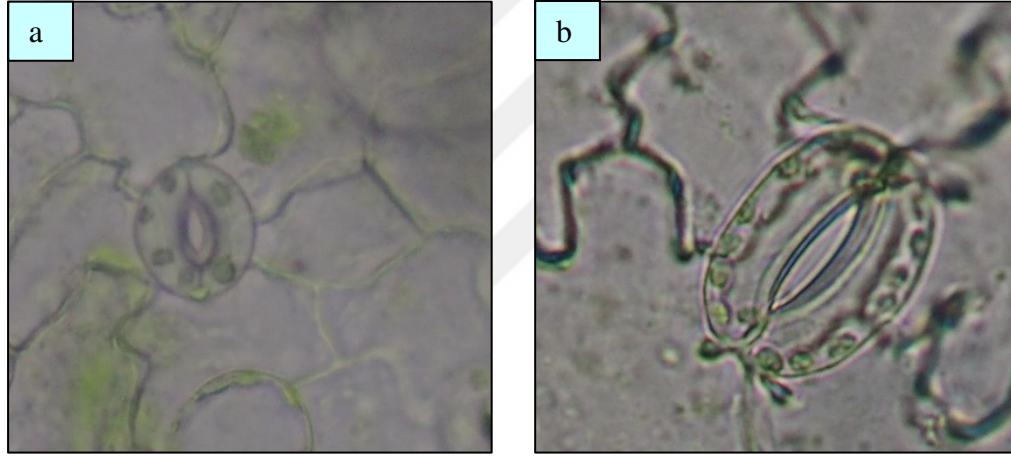
Şekil 4.8. Kavun tipleri bazında embriyodan dönüşen bitki sayısı



Şekil 4.9. Işın dozu bazında embriyodan dönüşen bitki sayısı

4.7. Seçilen Bitkilerde Ploidi Seviyesinin Belirlenmesi ve Morfolojik İncelemeler

Katlamaya alınan bitkicikler, tüplerde gelişimini tamamlamış ardından saksılara alınmıştır. Daha sonra bitkilerin saksılarıyla birlikte seralarda alıştırma işlemleri başlatılmıştır. Boylanan bitkiler kokopitlere saksılarıyla birlikte oturtulmuştur. Ploidi seviyesinin belirlenmesinde, haploid ve double haploid bitki farklılığını gözlemleyebilmek adına bir adet haploid bitki kolhisin uygulanmadan direkt seraya alınmıştır. Gelişen bitkilerden yaprak örnekleri alınarak preparatlar hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatlarda, Olympus marka floresan mikroskobu kullanılarak stomalar tespit edilmiş ve stomaların üzerinde bulunan kloroplast sayıları gözlenmiştir. Stomada kloroplast sayısına bakıldığında; haploid bitkinin stomalarındaki kloroplast sayısı 4-6 arasında değiştiği, double haploid bitkilerin 8-12 arasında olduğu görülmüştür (Şekil 4.10). Ayrıca bitkiciklerin bitkiye dönüşüm sürecindeki gelişimleri incelenerek haploid ve double haploid bitkilerin morfolojik olarak farklılıkları ortaya koyulmuştur. Haploid bitkinin yaprak ve çiçeklerinin double haploid bitkilere göre daha küçük yapıda olduğu gözlemlenmiştir(Şekil 4.12, 4.13).



Şekil 4.10. Stomadaki kloroplast sayılarının gösterimi, a) Haploid kavun bitkisi stoması, b) Double-haploid kavun bitkisi stoması



Şekil 4.11. Haploid ve double haploid bitkilerin yaprakları



Şekil 4.12. Haploid ve double haploid bitkilerin çiçekleri

5. TARTIŞMA

Haploid bitki elde edebilmek için kabakgillerde ışınlanmış polen tekniğinde genotip, ışın dozu, embriyo kurtarma tekniği ve embriyo eldesinde besin kombinasyonlarının etkili olduğu daha önce yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Literatür taramaları kabakgillerde ışın dozunun haploid embriyo üzerine etkisinde; kavunda 300 Gy (Sauton ve Dumas de Vaulx 1987), hiyarda 300 Gy (Çağlar ve Abak 1996), karpuzda 200-300 Gy (Sarı vd 1994), kabakta 150 Gy (Baktemur vd 2014) ve acurda 300 Gy (Yanmaz vd 1997) ışın dozunun uygun olduğunu göstermiştir. Yanmaz ve Taner (1996), 300 ve 350 Gy ışın dozu Kırkağaç, Yuva ve birkaç kantolop kavun hattını tozlamış ve haploid embriyo uyartımında ideal ışın dozunun 300 Gy olduğunu vurgulamıştır. Bu nedenle denemede etkin ışın dozu olan 300 Gy'in yanı sıra 250 ve 350 Gy ışın dozlarının Galia ve Kırkağaç genotiplerinde ve 3 farklı besi ortamı üzerinde etkisi araştırılmıştır. Cucurbitlerde yapılan önceki çalışmalarda farklı besi ortamları kullanılmış olup; ışınlanmış polen tekniği çalışmalarında CP besi ortamı başarılı bulunmuştur (Baktemur vd 2013). Çalışmamızda da CP besi ortamına ek olarak MS ve E20A besi ortamları kullanılmıştır.

Embriyo kurtarma tekniği olarak kavunda Baktemur vd (2010)'nin en iyi sonuca ulaştığı doğrudan besi ortamına ekim yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Tohumlar öncelikli olarak doğrudan besi ortamına ekilmiş, haploid embriyoların aşamaları ışık kaynağında düzenli olarak kontrol edilmiştir. Embriyoların globüler aşamadan kalp aşamasına geçmesi ile tüplere transferi sağlanmıştır. Bu yöntemin avantajı kalp aşamasındaki embriyonun çimlenmesini beklemeden yeni ortama transfer edilmesi ve gelişimini tüp içerisinde devam ettirmesidir.

Galia ve Kırkağaç kavun tiplerinin ortalama tohum sayıları karşılaştırıldığında; Kırkağaç genotipinin ortalama tohum sayısı Galia genotipinden daha az çıkmıştır. Polen canlılığının ışın dozu arttıkça azaldığı karpuz, hıyar ve kabakta daha önce yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Sarı vd 1992 b, Çağlar ve Abak 1999, Kurtar vd 2002). Buna paralel olarak çalışmamızda en yüksek ışın dozu olan 350 Gy uygulamasında ortalama tohum sayısında azalma meydana gelmiştir.

Meyve başına kurtarılan embriyo sayıları genotiplere ve uygulanan ışın dozlarına göre farklılık göstermekte olup; Galia kavun tipinde Kırkağaç kavun tipine göre daha az olduğu hesaplanmıştır. Çağlar ve Abak (1996), hiyarda yaptıkları çalışmada embriyo sayısının ışın dozu artmasıyla azaldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmaya paralel olarak elde ettiğimiz bulgular, farklı kavun tipleri olan Galia ve Kırkağaç karşılaştırıldığında; en düşük meyve başına kurtarılan ortalama embriyo sayısı en yüksek ışın dozu uygulaması olan 350 Gy 'de gözlenmiştir. Bunun sebebinin daha önce belirttiğimiz gibi artan ışın dozunun polen canlılığına negatif etkisi olduğu düşünülmektedir. Sauton ve Dumas de Vaulx (1987) kavunda haploid embriyo eldesinde en uygun ışın dozunu 300 Gy olarak belirtmişlerdir. Araştırmamız boyunca 3 farklı ortamın farklı genotipler üzerine etkisine bakıldığında en yüksek embriyo yüzdesi 300 Gy ışın dozunda gözlenmiştir. 250 Gy ışın dozunda elde edilen embriyo oranı 350 Gy'den fazla 300 Gy'den daha azdır. Bunun nedeni 250 Gy ışın dozu uygulamasında meydana gelen fazla sayıda diploid olduğu düşünülen olgunlaşmış embriyoların atılması olarak düşünülmektedir.

Kavunda ışınlanmış polen tekniği çalışmalarında CP besisi ortamını başarılı bulan Baktemur vd (2013)'ne ek olarak, çalışmamızda haploid embriyo eldesinde MS besisi ortamı oldukça başarılı bulunmuştur. Bunun sebebinin MS besisi ortamının zengin bileşimine sahip olması ve genotip farklılığı olarak düşünülmektedir.

Kurtarılan embriyolardan gelişen bitkiler incelendiğinde en yüksek bitki sayısı Galia tipinde ve 300 Gy ışın dozu uygulanan grupta gözlenmiştir. Fakat Kırkağaç tipinden elde edilen meyve başına yüksek embriyo sayısına sahip olmasına rağmen bitkiye dönüşüm oranı düşük gerçekleşmiştir. Bu durumun Galia ve Kırkağaç kavun tipleri arasındaki genotip farklılığından kaynaklandığı düşünülmekte olup; mevcut araştırmada kullanılan besisi ortamlarına ilave olarak farklı besisi ortamlarının denenmesi gerektiği düşünülmektedir.

350 Gy ışın dozu K-7 genotipi için en yüksek embriyo yüzdesine sahipken bitki elde edilememiştir. Bunun sebebi uygulama dozunun embriyonun fizyolojik ve biyokimyasal gelişimine negatif etkisi olabileceği düşünülmektedir. 300 Gy ışın dozu tüm ortamlarda en düşük embriyo yüzdesine sahipken, en yüksek bitki sayısı bu dozun E20A ortamında görülmüştür. Ortam bazında değerlendirildiğinde en yüksek embriyo yüzdesi CP besisi ortamından elde edilmiştir. Fakat bitki eldesi bakımından CP besisi ortamındaki embriyolarda çimlenme gözlenmemiştir. E20A diğer besisi ortamlarıyla karşılaştırıldığında; en yüksek bitki sayısı K-7 genotipi için bu ortamdan elde edilmiştir.

K-12 genotipinde en yüksek embriyo yüzdesi ve elde edilen bitki sayısı MS besisi ortamından 300 Gy ışın dozu uygulamasında gözlenmiştir. Bununla beraber 350 Gy ışın uygulamasında elde edilen embriyoların hiçbirinde çimlenme gözlenmemiştir. Bunun sebebinin artan ışın dozunun embriyonun gelişimine olumsuz etkisi olabileceği düşünülmektedir.

K-13 genotipinde en yüksek embriyo ve bitki sayısına bakıldığında en uygun ışın dozu 300 Gy ışın dozu olarak belirlenmiş ve MS besisi ortamı başarılı olmuştur.

K-17 genotipinde en yüksek embriyo oranı 300 Gy ışın dozunda gözlenmiştir. Fakat bitkiye dönüşüm oranlarının Kırkağaç genotipinde çok düşük olduğu tespit edilmiştir. Kırkağaç ve Galia kavun tipleri embriyodan bitkiye dönüşüm oranları bakımından karşılaştırıldığında Galia kavun tipi Kırkağaç kavun tipine göre daha olumlu sonuçlar vermiştir.

Önceki çalışmalarda çalışmamıza paralel olarak; kavun (Sarı vd 1992a), karpuz (Sarı 1994) ve kabakta (Kurtar vd 2002) embriyo uyartımının genotipe göre değiştiğini bildirilmiştir.

Bir bütün olarak sonuçlar değerlendirildiğinde; haploid embriyo uyartımı ve bitkiye dönüşümde genotipin, ışın dozunun ve besisi ortamının etkili olduğu görülmektedir.

Tüm veriler karşılaştırıldığında en yüksek embriyo yüzdesi, Galia kavun tipinde 300 Gy ışın dozu uygulanan grupta ve MS besisi ortamında tespit edilmiştir.

6. SONUÇ

Araştırmada elde edilen bulgular ile günümüzde en çok yetiştirilen kışlık kavunlardan olan Kırkağaç ve Galia tipi kavun genotipleri için en uygun ışın dozu ve en uygun besi ortamı kombinasyonu belirlenmiş ve haploid bitki eldesinin başarılı bir şekilde devam etmesi gösterilmiştir.

K-7, K-12, K13 ve K-17 genotiplerinde 250, 300 ve 350 Gy ışın dozu uygulaması ile E20A, CP ve MS besi ortamlarının etkisi araştırılmıştır. Tohumlar direkt olarak besi ortamına ekilmiş ve ardından ışık kaynağında bakılarak embriyo gözlemi yapılmıştır.

Galia ve Kırkağaç kavun tiplerinin ortalama tohum sayısı bakımından karşılaştırıldığında; Galia genotiplerinde tohum sayısı daha fazla çıkmıştır. Ayrıca 350 Gy ışın dozu uygulamasında Galia ve Kırkağaç tiplerinde ortalama tohum sayısında azalma gözlenmiştir. 300 Gy ışın dozu uygulaması ortalama tohum sayısı her iki kavun tipinde de en yüksek düzeyde bulunmuştur.

Meyve başına kurtarılan embriyo sayıları Galia'da Kırkağaç kavun tipine göre daha az elde edilmiştir. Bu veri de meyve başına kurtarılan embriyo sayılarının genotiplere ve uygulanan ışın dozlarına göre farklılık göstermesinin bir kanıtı olarak gösterilebilir.

Ortalama tohum sayısına paralel olarak meyve başına kurtarılan ortalama embriyo sayısında 350 Gy ışın dozu en düşük düzeyde bulunmuştur. Aynı zamanda Sauton ve Dumas de Vault (1987)'nin belirttiği gibi, araştırmamızda kavunda haploid embriyo eldesinde en uygun ışın dozunun 300 Gy ışın dozu olduğu bulunmuştur.

Embriyodan gelişen bitkiler için en uygun ışın dozu 300 Gy olarak belirlenmiştir. Galia tipinde embriyodan bitkiye dönüşüm yüksek oranda gözlemlenirken, Kırkağaç tipinde embriyodan bitkiye dönüşüm oranı çok düşüktür.

Zengin bileşime sahip MS besi ortamı çalışmamızda hem embriyo eldesi hem de embriyodan bitkiye dönüşümde en başarılı sonuç elde edilen besi ortamı olmuştur.

Bulgularımıza göre haploid embriyo eldesi ve embriyodan bitkiye dönüşüm genotipe, ışın dozuna ve besi ortamına bağlı olmakla beraber değişiklikler gösterebilmektedir. Fakat sonuçlarımız karşılaştırıldığında en yüksek embriyo yüzdesi ve en yüksek bitki sayısı Galia tipinde 300 Gy ışın dozu uygulanan ve MS besi ortamında gelişen grupta gözlenmiştir.

Çalışmamızın neticesinde *in vitro* koşullarda dihaploidizasyon yöntemi için uygun ışın dozu, embriyo kurtarma yöntemi ve besi ortamı geliştirilmiştir. Böylelikle Galia ve Kırkağaç tiplerinde geliştirilecek double haploid hatların kavun ıslah programlarında kullanılması ile ıslah çalışmalarının hız kazanacağı ve dihaploidizasyon yönteminin kavun ıslah programlarında daha yaygın ve etkin bir şekilde kullanımına olanak sağlayacağı düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- ABAK, K. 2001. Melon Growing in Turkey. Proceedings of The 23rd Geisenheim Meeting, pp. 64-68, 12-14 February, Frankfurt, Germany.
- ABAK, K. 1982. Biberde Kökboğazı Yanıklılığın Kalıtımı Üzerinde Araştırmalar. Doçentlik Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 62 s.
- ABAK, K. 1988. Türkiye’de Bitki Islahı Çalışmalarında *in vitro* Tekniklerden Yararlanma. I. Uluslararası Tarım ve Biyoteknoloji Sempozyumu, 7s., 1-3 Haziran, Çukurova Üniversitesi, Adana
- ABAK, K. 1993. Biber Islahında Anther Kültüründen Yaralanma. Bitki Islahı Simp. Bildirileri, ss. 59-66, TÜBİTAK TOAG Yay., Adana.
- ABAK, K., SARI, N., PAKSOY, M., YILMAZ, H., AKTAŞ, H. ve TUNALI, C. 1996. Kavunda ışınlanmış polen tozlamaları ile haploid embriyo uyartımında genotip etkisi, dihaploid hatların oluşturulması, haploid ve diploid bitkilerin değişik yöntemlerle ayrımı. *Tr. J. Agriculture and Forestry*, 20: 425-430.
- AKYÜZ, M. 1988. Sera hıyarlarında çeşit denemesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı, İzmir, 41 s.
- BAJAJ, Y.P.S. 1983. In vitro production of haploids. In Handbook of Plant Cell Culture (eds: Evans, D.A., Sahrp, W.R., Ammirato, P.V., Yamada, Y.), Macmillan Publishing Company, pp. 228-287, New York.
- BAKTEMUR, G., YILDIZ, M., BÜYÜKALACA, S. ve ABAK K. 2010. Kavunda (*Cucumis melo* L.) uyartılmış haploid embriyoların ayrılmasında kullanılabilecek yöntemler. *Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu*, 9 (1): 15-21.
- BAKTEMUR, G., TAŞKIN, H. and BÜYÜKALACA, S. 2013. Comparison of different methods for separation of haploid embryo induced through irradiated pollen and their economic analysis in melon (*Cucumis melo* var. *inodorus*). *The Scientific World Journal*, 2013:529502.
- BAKTEMUR, G., YÜCEL, N.K., TAŞKIN, H., ÇÖMLEKÇİOĞLU, S. and BÜYÜKALACA, S. 2014. Effects of different genotypes and gamma ray doses on haploidization using irradiated pollen technique in squash. *Turkish Journal of Biology*, 38 (3): 318-327.
- BAL, U., SARI, N. and YILMAZ, H. 2003. Effects of E20A and MS Based Media on *In vitro* Induction of Axillary Buds and Shoot Development from Haploid *Cucumis melo* Microcuttings. *Pak. J.Biol. Sci.*, 6 (13): 1130-1138.
- BERBER, M., YILDIZ, M. and ABAK, K. 2012. Effects of Irradiation Doses on Haploid Embryo and Plant Production in Naked and Shelled Seed Pumpkins. *Acta horticulturae*, 929: 381-384.

- BHOJWANI, S.S. 1990. Plant tissue culture: Applications and Limitations. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 502 p.
- CHAMBONNET, D. 1988. Production of Haploid pepper plants. Bulletin Interne de la Station d'Amélioration des Plantes Maraichères d'Avignon-Montfavet, pp 1-10, France.
- CHEE, R.P., LESKOVAR, D.I. and CANTLİFFE, D.J. 1992. Optimizing embryogenic callus and embryo growth of a synthetic seed system for sweetpotato by varying media nutrient concentrations. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 117: 663–667.
- CHEN, J.F., CUI, L., MALIK, A.A. and MBIRA, K.G. 2011. In vitro haploid and dihaploid production via unfertilized ovule culture. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 104: 311-319.
- CLAVERIA, E., GARCIA-MAS, J. and DOLCET-SANJUAN, R. 2005. Optimization of Cucumber Doubled Haploid Line Production Using *in vitro* Rescue of *in vivo* Induced Parthenogenic Embryos. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130 (4): 555-560.
- CUSTERS, J.B.M. and BERGERVOET, J.H.W. 1984. Embryo Size in *Cucumis sativus* x *C. melo* as Effected by Irradiation of Polen and Genotype of the Female Parent. *Cucurbit Genetics Coop.*, 7: 94-95.
- ÇAĞLAR, G. 1995. Hıyarda (*Cucumis sativus* L.) ışınlanmış polenlerle tozlama yoluyla *in situ* haploid embriyo uyartımı ve haploid embriyolardan *in vitro* bitki eldesi üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 227 s.
- ÇAĞLAR, G. ve ABAK, K. 1996. Hıyarda (*Cucumis sativus* L.) *in situ* Uyartım Sonucu Elde Edilen Haploid Embriyolardan *in vitro* Haploid Bitki Oluşturma. *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 23: 283-290.
- ÇAĞLAR, G. ve ABAK, K. 1999. Farklı hıyar genotiplerinde ışınlanmış polenlerle uyartım yoluyla haploid embriyo ve bitki eldesi. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, ss. 159–162, Adana .
- DEMARLY, Y. and SİBİ, M. 1989. Amélioration des plantes et biotechnologies. *John Libbey and Comp.*, London, 152 p.
- DILLINGEN, J.B. 1956. Handbuch der Pflanzenzuchtung., pp. 358-369, Verlag Paul-Parey, Berlin.
- DOLCET-SANJUAN, R., CLAVERIA, R. and GARCIA-MAS, I. 2006. Cucumber (*Cucumis sativus* L.) dihaploid line production using *in vitro* Rescue of *in vivo* induced parthenogenic embryos. *Acta Horticulturae*, 725 (2): 837-843.

- DORE, C., BOULIDARD, L., SAUTON, A., RODE, J. C., CUNY, F., NIEMIROWIECZ-SZCZYTT, K., SARI, N. and DUMAS DE VAULX, R. 1995. Interest of Irradiated Pollen for Obtaining Haploid Vegetables. *Acta Horticulturae*, 392: 123-128.
- DUNWELL, J. M. 1985. Haploid Cell Culture- A Practical Approach (ed: R.A. Dixon). IRL Pres Ltd., Oxford, UK, 2: 21-36.
- EKİNCİ, A. S. 1959. Özel Sebzeçilik Kitabı. Ziraat Vekaleti Mesleki Kitaplar Serisi, 97 s.
- ELLİALTIOĞLU, Ş., SARI, N. ve ABAK, K. 2001. Bitki Biyoteknolojisi, Doku Kültürü ve Uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, ss. 137-189, Konya.
- EMİROĞLU, Ü. 1982. Haploidi ve bitki ıslahındaki önemi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yardımcı Ders Kitabı, Bornova, İzmir, 38 s.
- EMİROĞLU, Ü. ve GÜREL, A. 1993. Bitki ıslahında modern biyoteknoloji. Short Course, The Biotechnology Revaluation. Organized by Ege Univ. Biotech. Cent and Fac. of Agr. Dept. of Crop Sci., ss 103-110, İzmir
- ERCAN, N., BOYACI, Y. F. ve BİNER, B. 1997. Anter Kültürü Yoluyla Haploid Bitki Eldesi. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 10: 374-380.
- FAO, 2014. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. [Son erişim tarihi: 27.04.2016]
- FARIS, N. M., NIEMIROWICZ-SZCZYTT, K. and NİKOLOVA, V. 1999. The effect of gamma irradiation dose on cucumber (*Cucumis sativus* L.) haploid embryo production. *Acta Physiologiae Plantarum*, 21: 391-396.
- GALLAIS, A. 1990. Théorie de la sélection en amélioration des plantes. INRA ed., Paris, 588 p.
- GERMENA, M.A. 2011. Gametic embryogenesis and haploid technology as valuable support to plant breeding. *Plant Cell Rep.*, 30 (5): 839-857.
- GÜRSÖZ (SARI), N. 1990. Kavun (*Cucumis melo* var. *inodorus* ve *reticulatus*) ve Karpuzda (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf) Işınlanmış Polenle *in situ* Partenogenetik Embriyolardan *in vitro* Kültürü ile Haploid Bitki Elde Eldesi. Yüksek Lisans Tezi, Ç.Ü. Fen Bil. Enst., Adana, 60 s.
- GÜRSÖZ (SARI), N., ABAK, K., PITRAT, M. and RODE, J. C. 1991. Obtention of Haploid Plants Induced by Irradiated Pollen in Watermelon (*Citrullus lanatus*). *Cucurbit Genetic Coop.*, 14: 109-110.
- HATİPOĞLU, R. 2002. Bitki Biyoteknolojisi Kitabı. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi, Adana, 94 s.

- HERMSEN, J.G.T. and RAMANA, M.S. 1981. Haploidy and plant breeding. *Phill. Trans. R. Soc. Lond. B.*, 292: 449–507.
- JEFFREY, C. 2005. A new system of Cucurbitaceae. *Bot. Zhurn.*, 90 (3): 332-335.
- KHUSH, G.S. and VIRMANI, S.S. 1996. In vitro haploid production in higher plants. Vol.1, 11-33 (ed. by S.M. Jain, S.K. Sopary ve R.E. Veilleux). *Somatic Embryogenesis in Cultured Unfertilized Ovules of Cucurbita moschata. J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 57 (1): 34-42.
- KOŠMRLJ, K., KASTELEC D. and BOHANEC B. 2014. Styrian oil pumpkin pollen germinability at higher irradiation doses: optimization of the in vitro germination protocol and irradiation procedure. *Turkish Journal of Biology*. 38: 516-522.
- KUCKUCK, H., KABABE, G. and WENZEL, G. 1991. Fundamentals of plant breeding. Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin.
- KURTAR, E. S., SARI, N. and ABAK, K. 2002. Obtention of Haploid Embryos and Plants Through Irradiated Pollen Technique in Squash (*Cucurbita pepo* L.). *Euphytica*, 127: 335-344.
- KURTAR, E.S. and BALKAYA, A. 2010. Production of in vitro haploid plants from in situ induced haploid embryos in winter squash (*Cucurbita maxima* Duchesne ex Lam.) via irradiated pollen. *Plant Cell Tiss Cult.*, 102: 267-277.
- LESPINASSE, Y., GODICHEAU, M. and DURAN, M. 1983. Potential value and method of producing haploids on apple tree, *Malus pumila* (Mill.) in vitro culture. *Acta Horticulturae*, 131: 223–230.
- LOTFI, M., ALAN, A. R., HENNING, M. J., JAHN, M. M. and EARLE, E. D. 2003. Production of haploid and doubled haploid plants of melon (*Cucumis melo* L.) for use in breeding for multiple virus resistance. *Plant cell reports*, 21 (11): 1121-1128.
- LOTFI, M., SALEHI, S. and PITRAT, M. 2008. Detection of cucumber parthenogenic haploid embryos by floating of immature seeds in liquid medium. Proceedings of the IX th EUCARPIA meeting on genetics and breeding of *Cucurbitaceae* (Pitrat M, ed), INRA, France.
- LOWER, R.L. and EDWARDS, M.D. 1986. Cucumber breeding. In *Breeding Vegetable Crops* (ed: Basset, M.J.), AVI Publishing Comp. Inc. Connecticut, 173–207.
- MAESTRO-TEJADA, M. C. 1992. Resistance du Melon aux Virus. Interaction Avec les Pucerons Vecteurs. Analyse Genetique sur les Ligneés Haplodiploides. These de Docteur, Specialité “Biologie des Organismes et Populations”, Univ. de Droit, d’Economie et des Sciences d’ Aix-Marseille, 134 p.

- MURASHIGE and SKOOG, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Phys.*, 15: 473-497.
- NIEMIROWICZ-SZCZYTT, K. and DUMAS DE VAULX, R. 1989. Preliminary Data on Haploid Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Induction. *Cucurbit Genetics Cooperative*, 12: 24-25.
- ORAMAN, M.N. 1956. Sebzecilik Kitabı. İlköğretmen okulları kitapları. Millieğitim Basımevi, İstanbul.
- PIERIK, R.L.M. 1989. *In vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff Publ., Dordrecht, 344 p.
- PITRAT, M. 1998. Gene List for Melon. *Cucurbit Genet. Coop. Rep.*, 21: 69-81.
- PITRAT, M., CHAUVET, M. and FOURCY, C. 1999. Diversity, History and Production of Cultivated Cucurbits. *Acta Hort.* 492: 21.28.
- POCHARD, E. and DUMAS DE VAULX, R. 1979. Haploid parthenogenesis in *Capsicum annum* L. Reprinted from the biology and taxonomy of the Solanaceae (eds: Hawkins, G., Lester, Shelding, A.D.). *Linnean Society Symp.*, 7: 455-472.
- PRZYBOROWSKI, J. and NIEMIROWICZ-SZCZYTT, K. 1994. Main factors affecting cucumber (*Cucumis sativus* L.) haploid embryo development and haploid plant characteristics. *Plant Breeding*, 112 (1): 70-75.
- REINERT, J. and BAJAJ, Y.P.S. 1977. Anther culture: haploid production and its significance. In *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (eds: Reinert, J., Bajaj, Y.P.S.). pp. 251-264, Springer-Verlag, New York.
- ROBINSON, R. and DECKER-WALTERS, D.S. 1997. *Cucurbits*. CAB Int. University Pres, Cambridge, 226 p.
- SANGWAN, R.S. and SANGWAN-NORREL, B.S. 1990. Anther and polen culture. In: *Plant tissue culture: Appl. and Limit.* (ed: Bhojwani, S.S.). *Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam*, 9: 220-242.
- SARI, N., ABAK, K., PITRAT, M. and DUMAS DE VAULX, R. 1992a. Kavunlarda (*Cucumis melo* L. var. *inodorus* Naud ve *C. melo* L. var. *reticulatus* Naud) partenogenetik haploid embriyo uyartımı ve bitki eldesi. *Doğa-Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 16: 302-314.
- SARI, N., YÜCEL, S., EKİZ, H., YETİŞİR, H., TUNALI, C., 1999b. Dihaploidizasyon Yöntemiyle Örtüaltı Tarımına Elverişli ve *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*'e Dayanıklı Kavun Çeşitlerinin Geliştirilmesi. TÜBİTAK TOGTAG-1430 No'lu proje. Sonuç Raporu.

- SARI, N., ABAK, K., PITRAT, M., RODE, J.C. and DUMAS DE VAULX, R. 1994. Induction of Parthenogenetic Haploid Embryos After Pollination by Irradiated Pollen in Watermelon. *Hort Science*, 29 (10): 1189-1190.
- SARI, N., ELLİALTIOĞLU, Ş. ve SOLMAZ, İ. 2014. Haploidi ve Dihaploidizasyon Tekniğinin Sebze Islahında Kullanımı. 10. Sebze Tarımı Sempozyumu, ss. 76-88, 2-4 Eylül, Tekirdağ.
- SAUTON, A. 1987. Obtention of embriyo and plants from *in vitro* culture of fertilized ovules of cucumis melo 5 days after pollination. *Cucurbits Genetics Cooperative Rep.*, 10: 62-63.
- SAUTON, A. 1987. Recherche d' Haploides chez le Melon (*Cucumis melo* L.). Etude et Application a la Selection de la Parthenogenese Induite par du Pollen Irradié. Thèse (Docteur nouveau regime), Spécialité: Biologie et Physiologie Vegetales, Université des Sciences et Technique du Languedoc, Montpellier, 123p.
- SAUTON, A. and DUMAS DE VAULX, R. 1987. Obtention de plantes haploides chez le melon (*Cucumis melo* L.) seeds and resulting from a parthenogenetic development induced by irradiated pollen. *Cucurbit Genetics Cooperative*, 11: 39-42.
- SEÇİM, A. 2009. Bazı kavun (*Cucumis melo* L.) saf hatlarının ve hibrit kombinasyonlarının morfolojik karakterizasyonu ile *Fusarium oxysporum* melonis'e reaksiyonlarının tespiti. Yük. Lis. Tezi, Antalya, Akdeniz Üniversitesi, 96 s.
- TANER, K.Y., YANMAZ, R., KUNTER, B., SAĞEL, Z., TUTLUER, M.İ., PEŞKİRCİOĞLU, H. ve USLU, N. 2003. Bazı kabakgil türlerinde gama ışınlamasının polen canlılığı ve haploid bitki oluşumu üzerine etkileri. VIII. Ulusal Nükleer Bilimler ve Teknolojileri Kongresi, 15-17 Ekim 2003, Kayseri, Bildiri Özetleri, 39 s.
- TAŞKIN, H., YÜCEL, K.N., BAKTEMUR, G., ÇÖMLEKÇİOĞLU, S. and BÜYÜKALACA, S. 2013. Effects of different genotypes and gamma ray doses on haploidization with irradiated pollen technique in watermelon (*Citrullus lanatus* L.). *Canadian Journal of Plant Science*, 93 (6): 1165-1168.
- THORPE, T.A. 1990. The current status of plant tissue culture. In *Plant Tissue Culture: Applications and Limitations* (ed: S. S. Bhojwani). *Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam*, 9: 220-242.
- TRUONG-ANDRE, I. 1988. *In vitro* haploid plants derived from pollinisation by irradiated pollen on cucumber. In *Proceedings of the Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding*, pp. 143-144, Avignon-Montfavet.

- TÜİK, 2015. <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist>. [Son erişim tarihi: 02.05.2016]
- YANMAZ, R., DUMAN, İ., YARALI, F., DEMİR, K., SARIKAMIŞ, G., SARI, N., BALKAYA, A., KAYMAK, H.Ç., AKAN, S. ve ÖZALP, R. 2015. Ziraat Mühendisliği Odası, Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı-I, Ankara, 584 s.
- YANMAZ, R., ELLİALTIOĞLU, Ş. and TANER, Y. 1997. The Effects of Gamma Irradiation on Pollen Viability and Haploid Plant Formation in Snake Cucumber. Abstract Book 1st International ISHS Symposium on Cucurbits, Adana.
- YANMAZ, R., TANER, Y.K. 1996. Türkiye'de sebzecilik konusunda yapılan çalışmalar (Publications on vegetable crops in Turkey). GAP I. Sebze Tarımı Sempozyumu, ss. 1-7, 7-10 Mayıs, Şanlıurfa.
- YILMAZ, Ö.E., 2005. Yazlık kabakta (*Cucurbita pepo* L.) ovaryum kültürü yoluyla haploid bitki elde edilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, 57 s.
- YONGBING, Z., HONGPING, Y., YUAN, J. J., JIOGXIN, F., MINGZHU, W. and JINFENG, C. 2007. Propagation of Haploid Melon (*Cucumis melo* L.) *in vitro*. *Acta Horticulturae Sinica*. 34 (2): 497-500.
- ZHANG, Y.X., LESPINASSE, Y. and CHEVREAU, E. 1990. Induction of haploid in fruit trees. In: *In vitro Culture and Horticultural Breeding*. (eds: Janicks, J., Zimmerman, R.H.). *Acta Horticulturae*, 280: 293-305.

ÖZGEÇMİŞ



1991 yılında Antalya’da doğdu. İlköğretim ve lise öğrenimini Antalya’da tamamladı. 2009 yılında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü’nü kazanarak lisans öğrenimine başladı. 2012 yılında Erasmus Değişim Programı ile stajını Wageningen University and Research Centre’da yapma imkanı buldu. 2013 yılında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi’nden Fakülte 2.si, Bahçe Bitkileri Bölümü 1.si olarak mezun olduktan sonra aynı yıl yine Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü’nde tezli olarak yüksek lisansa başladı. 2016’da Araştırma Görevlisi olarak Akdeniz Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’na atandı. Halen yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir.