

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Begüm KARA

**SAKIZ VE SİYAH KABAKLARDA OVÜL KÜLTÜRÜNDE
SPERMİDİNE VE PUTRESCİNE UYGULAMALARININ
HAPLOİD BİTKİ ELDE EDİLMESİNE ETKİLERİ**

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ADANA-2019

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SAKIZ VE SİYAH KABAKLARDA OVÜL KÜLTÜRÜNDE SPERMİDİNE
VE PUTRESCİNE UYGULAMALARININ HAPLOİD BİTKİ ELDE
EDİLMESİNE ETKİLERİ**

Begüm KARA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 03/04/2019 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Nebahat SARI
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Ş. Şebnem ELLİALTIOĞLU
ÜYE

.....
Doç. Dr. İlknur SOLMAZ
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

**Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Tarafından
Desteklenmiştir.**

Proje Kodu: FYL-2018-10335

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve
fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri
Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SAKIZ VE SİYAH KABAKLARDA OVÜL KÜLTÜRÜNDE SPERMİDİNE VE PUTRESCİNE UYGULAMALARININ HAPLOİD BİTKİ ELDE EDİLMESİNE ETKİLERİ

Begüm KARA

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Nebahat SARI
Yıl: 2019, Sayfa: 61
Jüri : Prof. Dr. Nebahat SARI
: Prof. Dr. Ş. Şebnem ELLİALTIOĞLU
: Doç. Dr. İlknur SOLMAZ

Bu araştırmada, sakız ve siyah kabaklarda ovül kültüründe spermidine ve putrescine uygulamalarının haploid bitki elde edilmesine etkileri araştırılmıştır.

Araştırmada materyal olarak 3 farklı Sakız kabak çeşidi ile 3 farklı Siyah kabak çeşidi kullanılmıştır. Ovül kültürü uygulamalarında embriyo teşviki için 5 mg/l 2,4-D ilave edilmiş MS besi ortamı kullanılmıştır. Araştırmada poliaminlerin etkisini görmek amacıyla spermidine (Spd) ve putrescine (Put) 40, 80 ve 160 µM/l dozda ayrı ayrı ve her ikisi birlikte 80, 160 ve 320 µM/l (1:1, v:v) dozlarında kullanılmıştır. Kontrol grubu sadece 5 mg/l 2,4-D içermiştir.

Elde edilen araştırma sonuçlarına göre, ovül gelişimi ve kallus oluşumunun her çeşide göre farklı seviyelerde olduğu tespit edilmiştir. Ovül gelişim sonuçlarına bakıldığında her çeşitte elde edilen ovül gelişim oranları genel olarak kontrol grubuna oranla daha başarılı bulunmuştur. Kallus oluşum sonucuna göre Elida F₁ çeşidi sadece Put ve sadece Spd içeren ortamlarda, Roni F₁ çeşidi Put+Spd içeren ortamlarda, Shakila F₁ Spd ve Put+Spd içeren ortamlarda, Seyden F₁ sadece Put içeren ortamlarda, Brillante F₁ Put ve Put+Spd içeren ortamlarda ve Chivas F₁ sadece Put içeren ortamlarda kontrol grubuna oranla daha iyi sonuçlar vermiş, genel olarak en iyi kallus gelişim oranı 40 µM Put içeren ortamda görülmüş, ancak bunlardan bitki elde edilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Kabak (*Cucurbita pepo* L.), haploid, ovül kültürü, spermidine, putrescine

ABSTRACT

MSc. THESIS

EFFECTS OF SPERMIDINE AND PUTRESCINE APPLICATIONS ON HAPLOID PLANT OBTENTION VIA OVULE CULTURE IN SAKIZ AND DARK GREEN SQUASHES

Begüm KARA

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF HORTICULTURE

Supervisor : Prof. Dr. Nebahat SARI
Year: 2019, Pages: 61
Jury : Prof. Dr. Nebahat SARI
: Prof. Dr. Ş. Şebnem ELLİALTIOĞLU
: Assoc. Prof. Dr. İlknur SOLMAZ

In this study, the effects of spermidine and putrescine on the haploid plant obtention via ovule culture were investigated in Sakız and dark green squashes.

As plant material, 3 different cultivars of Sakız and 3 different cultivars of dark green squashes were used. 5 mg/l 2,4-D added MS medium was used for embryo stimulation in ovule culture applications. To determine the effects of polyamines, spermidine (Spd) and putrescine (Put) were used with the concentrations of 40, 80 and 160 µM/l. Furthermore, spermidine and putrescine were used together with concentration of 80, 160 and 320 µM/l (1:1, v/v), respectively. The control group include only 5 mg/l 2,4-D.

According to the results of the research, it was determined that ovule development and callus formations were at different levels in every varieties. Ovule development results were found to be more successful with polyamines added culture media than the control group. According to the result of callus formation; the best culture medias were only Put and Spd for Elida F₁, Put+Spd containing media for Roni F₁ genotype, Spd and Put+Spd-containing medias for Shakila F₁ variety, Put and Put+Spd-containing medias for Brillante F₁ genotype, and only Put in Chivas F₁ variety. Generally, the best callus growth rate was found in 40 µM Put containing media, but plant from callus was not obtained.

Keywords: Squash (*Cucurbita pepo* L.), haploidy, ovule culture, spermidine, putrescine.

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Haploidi çalışmalarında başarıyı genotip farklılığı, donör bitkinin büyüme koşulları ve yaşı, gametlerin durumu, sıcaklık şokları ve karanlık uygulamaları, seçilen besi ortamı bileşimi ve hormonlar gibi pek çok faktör etkilemektedir.

Kabak gibi yabancı tozlanmanın görüldüğü türlerde klasik ıslah yöntemleri kullanılarak yapılan saflaştırma işlemi uzun yıllar sürmektedir ve homozigotluk durumu hiçbir zaman % 100 olmamaktadır. Son yıllarda birçok çalışmada görülen *in vitro* haploidizasyon teknikleri % 100 homozigot saf hatların elde edilmesine imkan sağlamakta, ıslah süresini kısaltmakta ve işgücünü en aza indirmektedir.

Bu çalışmada, yazlık kabak grubuna giren Sakız ve Siyah kabaklarda ovül kültürü yöntemi ile spermidine ve putrescine uygulamalarının haploid bitki elde edilmesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Denemede toplamda 6 çeşit olmak üzere; 3 adedi Sakız kabak tipi olan Roni F₁, Seyden F₁, Chivas F₁ çeşitleri ile 3 adedi Siyah kabak tipi olan Elida F₁, Shakila F₁ ve Brillante F₁ çeşitleri kullanılmıştır. Çalışma 20 gün arayla erken ve geç dönem olarak 2 denemeden oluşmaktadır. Ovül kültürü için kurulan her denemede spermidine ve putrescine etkisini incelemek amacıyla biri kontrol grubu olan 10 farklı ortamda; spermidine (Spd) ve putrescine'nin (Put) birlikte ve ayrı ayrı olarak kullanıldığı 40, 80 ve 160 µM/l dozları yer almıştır. Besi ortamı olarak MS (Murashige and Skoogh, 1962) tercih edilmiştir. Etkinliği önceki çalışmalarda yüksek görülen 2,4-D kontrol grubu da dahil olmak üzere 5 mg/l olarak sabit kullanılmıştır. Karbon kaynağı olarak 30 g/l sakkaroz ve jel yapıcı madde olarak 8 g/l agar eklenen ortamlarda pH 5.7'ye ayarlanmıştır.

Birinci denemeye ait ovül gelişim sonuçları genel olarak tüm çeşit bazında kontrol grubuna göre başarılı bulunmuştur. Çeşitler bazında en yüksek ovül gelişim sonuçlarında, Elida F₁ çeşidinde 80 µM Put içeren ortamda % 95; Roni F₁ çeşidinde 80 µM Spd, 40 µM ve 80 µM Put, 40 µM Spd+40 µM Put ve 80 µM Spd+80 µM Put içeren ortamlarda % 100 gelişim oranları görülmüştür. Shakila F₁ çeşidinde 80 µM Spd, 40 µM Put, 80 µM Put ve 80 µM Spd+80 µM Put içeren ortamlarda %

100 gelişim oranı görülmüştür. Seyden F₁ çeşidinde 80 µM Spd+80 µM Put içeren ortamlarda % 95 gelişim oranı görülmüştür. Brillante F₁ çeşidinde 40 µM Spd, 160 µM Spd, 80 µM Put, 160 µM Put içeren ortamlarda % 100 gelişim oranı görülmüştür. Chivas F₁ çeşidinde 160 µM Put ve 80 µM Spd+80 µM Put içeren ortamlarda % 95 gelişim oranı görülmüştür. İkinci denemeye ait ovül gelişim sonuçları, birinci deneme sonuçlarına göre zayıf kalmış, fakat kontrol ortamına göre Put ve Spd içeren ortam kombinasyonlarında daha yüksek gelişim oranları kaydedilmiştir.

Birinci denemeye ait kallus gelişim sonuçlarında genel olarak tüm çeşitlerde Put ve Spd içeren ortamlar, kontrol ortamına göre daha başarılı bulunmuştur. En yüksek kallus oluşumu Shakila F₁ çeşidinde % 47 ile 160 µM Spd+160 µM Put içerikli ortamdan elde edilmiştir. Diğer çeşitlerdeki kallus gelişim oranları incelendiğinde; Elida F₁ çeşidinde % 15 oranı ile 40 µM Spd ile 160 µM Put içeren ortamda, Roni F₁ çeşidinde % 30 oran ile 40 µM Put ve 80 µM Put+80 µM Spd ve 160 µM Put+160 µM Spd kombinasyonunu içeren ortamda, Brillante F₁ çeşidinde % 45 oran ile 160 µM Spd+160 µM Put içeren ortamda, Chivas F₁ çeşidinde % 10 oran ile 80 µM Put içeren ortamda en yüksek kallus gelişimleri gözlenmiştir. İkinci denemeye ait kallus gelişim sonuçlarında en yüksek kallus gelişim oranı % 35 oran ile Brillante F₁ çeşidinde 40 µM Put içeren ortamdan elde edilmiştir. Tüm ortam sonuçları baz alınarak değerlendirme yapıldığında Brillante F₁ çeşidi, diğer çeşitlere göre daha başarılı bulunmuştur. Diğer çeşitlerde ikinci denemeye ait en yüksek kallus gelişim oranları; Elida F₁ çeşidinde % 27 oran ile 160 µM Put içeren ortamda, Roni F₁ çeşidinde % 20 oran ve Shakila F₁ çeşidinde % 30 oran ile 40 µM Spd+40 µM Put içeren ortamlarda, Seyden F₁ çeşidinde % 10 oran ile 40 µM Put içeren ortamda ve Chivas F₁ çeşidinde ise % 27 oran ile 160 µM Put içeren ortamda gözlenmiştir.

Poliaminlerin kabak bitkisinde haploid bitki elde edilmesi üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla yapılan bu çalışmada tüm çeşitlerde elde edilen iyi sonuçların kontrol ortamına göre Put veya Spd içeren ortam kombinasyonlarında olduğu görülmüş ve yapılacak diğer çalışmalarda spermidine ve putrescine uygulamalarının başarı oranını arttıracakı düşünülmüştür.

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca danışman hocam olarak kendisini yakından tanıma fırsatını bulduğum, yüksek lisans tez konumun belirlenmesinde ve araştırma sürecinde çalışmalarına yön vererek değerli katkılarda bulunan, tezimin yürütülmesi ve geliştirilmesi için beni tüm samimiyetiyle destekleyen, kıymetli bilgi ve tecrübelerini bana her daim aktaran danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nebahat SARI'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez savunma jürisi üyelerinden Sayın Prof. Dr. Ş. Şebnem ELLİALTIOĞLU ve Doç. Dr. İlknur SOLMAZ hocalarıma değerli görüş ve katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tezimin arazi çalışmaları aşamasında sera kullanımı konusunda beni destekleyen Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne, laboratuvar çalışmaları aşamasında laboratuvar olanaklarından yararlanmamı sağlayan Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Müdürü Sayın Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR hocama içtenlikle teşekkür ederim. Biyoteknoloji Merkezi doku kültürü ekibi değerli çalışanları Dr. Şaire Ramiz TÜRKOĞLU, Zir. Yük. Müh. Belgin BİÇEN, Fatma KARA, Ş. Eda ARSLANKILIÇ ile tezimin her aşamasında destek veren ve yol gösteren Tüt. Tek. Yük. Müh. M. Hakan EROL'a tüm yardımları için teşekkür ederim. Ayrıca tüm merkez çalışanlarına da hoşgörülerini ve destekleri için teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim boyunca destek ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Mihriban NAMLI hocama, arazi ve laboratuvar çalışmalarımı yürütürken benden yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Çağlar YILDIZ, Özen TEKELİ ve Pınar ADIGÜZEL'e teşekkür ederim.

Tez çalışmamı finansal olarak destekleyen Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne, ayrıca tezime materyal temini sağlayan Anamas Tarım Ltd. Şti. Yönetim Kurulu üyesi Zir. Yük. Müh. Serkan KASAPOĞLU'na teşekkür ederim.

Tüm öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, hayatımın her alanına özenle emek veren, her türlü zorluğa karşı anlayışla yanımda olan ve tecrübeleri ile her daim hayatıma katkıda bulunan kıymetli annem Enise KARA ve babam Metin KARA'ya, ayrıca abim Burak KARA'ya sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3. MATERYAL VE METOT	11
3.1. Bitkisel Materyal.....	11
3.2. Metot.....	12
3.2.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi.....	12
3.2.2. Dişi Çiçeklerin Toplanması	13
3.2.3. Embriyo Teşvik Ortamının Hazırlanması	15
3.2.4. Ovaryumların Sterilizasyonu	16
3.2.5. Ovül Kültürü Denemesinin Kurulması	17
3.2.6. Ovüllerden Gelişen Bitkicik Formasyonlarının Kültüre Alınması.....	19
3.2.7. İncelenen Özellikler	19
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	21
4.1. Ovül Kültürü Denemesine Ait Bulgular	21
4.1.1. Elida F ₁ Çeşidine Ait Birinci Ovül Kültürü Denemesi Bulguları	22
4.1.2. Roni F ₁ Çeşidine Ait Birinci Ovül Kültürü Denemesi Bulguları	22

4.1.3. Shakila F1 Çeşidine Ait Birinci Ovül Kültürü Denemesi	
Bulguları	23
4.1.4. Seyden F1 Çeşidine Ait Birinci Ovül Kültürü Denemesi	
Bulguları	24
4.1.5. Brillante F1 Çeşidine Ait Birinci Ovül Kültürü Denemesi	
Bulguları	25
4.1.6. Chivas F1 Çeşidine Ait Birinci Ovül Kültürü Denemesi	
Bulguları	26
4.1.7. Elida F1 Çeşidine Ait İkinci Ovül Kültürü Denemesi	
Bulguları	27
4.1.8. Roni F1 Çeşidine Ait İkinci Ovül Kültürü Denemesi	
Bulguları	28
4.1.9. Shakila F1 Çeşidine Ait İkinci Ovül Kültürü Denemesi	
Bulguları	29
4.1.10. Seyden F1 Çeşidine Ait İkinci Ovül Kültürü Denemesi	
Bulguları	30
4.1.11. Brillante F1 Çeşidine Ait İkinci Ovül Kültürü Denemesi	
Bulguları	31
4.1.12. Chivas F1 Çeşidine Ait İkinci Ovül Kültürü Denemesi	
Bulguları	32
4.1.13. Ovül Kültürü Birinci ve İkinci Deneme Bulgularının	
Karşılaştırılması	33
4.2. Birinci ve İkinci Deneme Ovül Kültürü Bulgularının Tartışılması.....	45
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	61

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1.	Hazırlanan besi ortamı kombinasyonları	15
Çizelge 4.1.	Elida F ₁ çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları	22
Çizelge 4.2.	Roni F ₁ çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları.....	23
Çizelge 4.3.	Shakila F ₁ çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları.....	24
Çizelge 4.4.	Seyden F ₁ çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları.....	25
Çizelge 4.5.	Brillante F ₁ çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları.....	26
Çizelge 4.6.	Chivas F ₁ çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları	27
Çizelge 4.7.	Elida F ₁ çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları	28
Çizelge 4.8.	Roni F ₁ çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları	30
Çizelge 4.9.	Shakila F ₁ çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları.....	30
Çizelge 4.10.	Seyden F ₁ çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları	31
Çizelge 4.11.	Brillante F ₁ çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları.....	32
Çizelge 4.12.	Chivas F ₁ çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları.....	33



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1. Tohum ekimi ve çimlenen tohumlar	12
Şekil 3.2. Fidelerin 3-4 gerçek yapraklı görünümü ve seraya aktarım.....	13
Şekil 3.3. Seradaki sağlıklı bitkiler	13
Şekil 3.4. Denemede yer alan çeşitlerin antezisten 1 gün ve 2 gün önceki aşamaları	14
Şekil 3.5. Denemede kullanılan siyah ve sakız kabakların antezisten 1 gün önceki aşamaları.....	14
Şekil 3.6. Besi ortamlarının sterilizasyon aşamaları	16
Şekil 3.7. Dişi çiçeklerin sterilizasyon aşamaları.....	17
Şekil 3.8. Ovüllerin izolasyonu.....	18
Şekil 3.9. İklim odasına alınan petriler	18
Şekil 3.10. Gelişme gösteren eksplantların durumları	19
Şekil 4.1. Gözlenen ovül durumları	21
Şekil 4.2. Elida F ₁ çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi ovül gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması	34
Şekil 4.3. Elida F ₁ çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi kallus gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması	35
Şekil 4.4. Roni F ₁ çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi ovül gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması	36
Şekil 4.5. Roni F ₁ çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi kallus gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması	37
Şekil 4.6. Shakila F ₁ çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi ovül gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması	38
Şekil 4.7. Shakila F ₁ çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi kallus gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması	40
Şekil 4.8. Seyden F ₁ çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi ovül gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması	40

Şekil 4.9. Seyden F1 çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi kallus gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması	41
Şekil 4.10. Brillante F1 çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi ovül gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması	42
Şekil 4.11. Brillante F1 çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi kallus gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması	43
Şekil 4.12. Chivas F1 çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi ovül gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması	44
Şekil 4.13. Chivas F1 çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi kallus gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması	45

SİMGELER VE KISALTMALAR

2,4-D	: 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
IAA	: Indol-3-acetic acid
BAP	: 6-Benzylaminopurine
IBA	: Indole-3-butyric acid
TDZ	: Thidiazuron
NAA	: Naftalen asetik asit
ABA	: Absisic acid
BA	: Benziladenin
ZR	: Zeatin Ribozid
MS	: Murashige ve Skoog
GA ₃	: Gibberellic acid
Kin	: Kinetin
PA	: Poliamin
Put	: Putrescine
Spd	: Spermidine
Spm	: Spermine
l	: Litre
ml/l	: Mililitre/litre
g/l	: Gram/litre
mg/l	: Miligram/litre
dk	: Dakika
g	: Gram
mg	: Miligram
cm	: Santimetre
mm	: Milimetre
μM	: Mikromolar
°C	: Santigrat derece
%	: Yüzde
ZYMV	: Kabak Sarı Mozaik Virüsü
WMV	: Karpuz Mozaik Virüsü
EC	: Elektriksel iletkenlik



1. GİRİŞ

Kabakgiller botanik sınıflandırmada; *Dicotyledoneae* sınıfı, *Cucurbitales* takımı, *Cucurbitaceae* familyası içerisinde yer almaktadır. Tropik kökenli sıcak iklim bitkisi olan bu familyada yer alan türler 'Cucurbit'ler olarak adlandırılır (Chadha ve Lal, 1993). Bu familya içerisinde yaklaşık olarak 118 cins ve 825 tür bulunmaktadır (Jeffrey, 1990).

Cucurbita pepo L., yaklaşık 10 bin yıl önce kültüre alınmış olmasına rağmen, Avrupa'ya girmesi 500 yıl kadar önce gerçekleşmiştir. Tüketilebilir meyvelilerin yanı sıra çoğunlukla acı, küçük meyveli yenilemeyen kabak tip ve formlarını da içine alır (Paris, 2001). Yüksek polimorfizmin etkisinden dolayı *C. pepo* ssp. *pepo*, *C. pepo* ssp. *fraterna* ve *C. pepo* ssp. *ovifera* olarak 3 alt türe ayrılmıştır. Bu alt türlerin kendi içinde birçok varyeteleri bulunmaktadır. Küçük ve acı meyveli çeşitleri içeren *C. pepo* ssp. *ovifera*, *C. pepo* ssp. *pepo*'ya göre daha küçük vejetatif ve generatif organlara sahiptir (Anonim, 2018a).

Heiser (1973) yaptığı araştırmalarda, kabakların (*Cucurbita* spp.) kültüre alınan ilk bitkiler arasında gösterildiğini ve anavatanının Kuzey ve Güney Amerika olduğunu belirtmiştir. Meksika, Kuzey Amerika ve Doğu Asya'da ilk çağlardan bu yana bazı arkeolojik çalışmalar sonucunda yetiştiriciliğinin yapıldığı bilinen bu türün subtropik, tropik, sıcaklığın yüksek olduğu bölgeler ile çöl koşulları gibi kuraklığın görüldüğü çok farklı iklim şartlarına uyum sağladığı belirtilmiştir (Robinson ve Decker-Walters, 1997).

Kabakgiller familyası içinde *Cucurbita pepo* L. türü ekonomik değeri yüksek, önemli bir türdür (Aras ve ark., 2011). Dünya'da 2 078 450 ha alanda 27 449 481 ton kabak üretimi yapılmaktadır. Kıtalarla göre ise % 60.1 ile Asya en fazla üretimi yaparken, diğer bölgeler sırasıyla % 15.4 Avrupa, % 12.5 Amerika, % 10.7 Afrika ve % 0.9 Okyanusya'dır (FAOSTAT, 2017).

Ülkemizde toplamda 449 561 ton sakız kabak üretimi yapılmakta olup; en fazla üretim yapan illerimiz sırasıyla 89 596 ton ile Antalya, 61 504 ton ile Mersin ve 30 638 ton ile Muğla'dır (TÜİK, 2018).

Somatik hücre yapıları “n” sayıda kromozom bulunduran bitkiler “haploid bitki” olarak isimlendirilmektedir (Peirce, 1987; Şehirli ve Özgen, 1988; Klug ve Cummings, 2002). Diploid bitkiler gibi normal gelişim gösteren bu bitkilerde kök, dal, çiçek, yaprak ve bazı durumlarda küçük yapıda meyveler de bulunmaktadır. Haploid bitkileri oluşturan hücreler, diploid bitkilere göre biraz daha küçük yapıda bulunduğundan, haploid bitkiler görünüm olarak diploidlerin biraz küçültülmüş örnekleridir (Bilge, 1982; Emiroğlu, 1982). Haploid bitkilerin morfolojik özelliklerine bakıldığında diploid bitkilere göre boylarının kısa, yapraklarının dar ve küçük, çiçeklerinin daha küçük, ayrıca polen oluşturmamaları nedeniyle kısır olup, tohum bağlayamadıkları gibi özellikleri görülmüştür (Emiroğlu, 1980; Abak, 1993). Bu nedenle haploid bitkilerin ıslahta kullanılabilmesi için kromozomlarının katlanarak dihaploid duruma getirilmeleri gerekmektedir.

Haploidlerin doğal yöntemlerle ortaya çıkma durumu türlere, hatta tür içindeki genotiplere göre farklılık göstermekte ve bu % 0.1-% 0.001 gibi düşük oranlarda gerçekleşmektedir (Pochard ve Dumas de Vaulx, 1979). Bu düşük oranı arttırmak isteyen araştırmacılar birçok uygulamalar yaparak arayış içinde olmuşlardır (Pierik, 1989; Emiroğlu ve Gürel, 1993). Ovül-ovaryum kültürleri ile anter kültürü 1970'li yıllardan bu yana çalışmalarda yer alarak ümit verici teknikler olarak haploid bitkilerin elde edilmesinde yol gösterici olmuştur (Yang ve Zhou, 1990).

Sebze ıslahında F₁ hibritlerin ebeveynleri olarak kullanılan saf hatların kendileme ile elde edilmesi uzun zaman almakta, *Cucurbitaceae* familyasında bulunan türlerin doğal olarak yabancı döllenmeleri ve çiçek yapılarının farklı olması (monoik, andromonoik, gynomonoik, androik, gynoik ve erselik) sebepleriyle ıslah çalışmaları uzun yıllar sürmektedir (Lower ve Edwads, 1986). Klasik ıslah yönteminde, yabancı döllenmiş türlerde heterozigoti oranı çok yüksek olduğundan, bunlarda homozigot hatların elde edilmesi için 10-12 generasyon

boyunca kendilemeler yapmak gerekmekte; kendine döllen türlerde bile aynı amaçla 5-7 generasyon kendileme işlemine gereksinim duyulmaktadır. Bir generasyonda heterozigot yapıdan % 100 homozigot bitki hatlarının geliştirilmesi, haplodizasyon yönteminin önemini ortaya koymaktadır (Solmaz ve ark., 2011).

Ginogenesis, döllenmemiş dişi gametofitlerin değişime uğramasıyla haploid formunu elde etme sürecidir (Dong ve ark., 2016). Chambonnet ve Dumas de Vault (1985) yaptıkları çalışmada, *in vitro* koşullarda tozlanma-döllenmeden önce ovül-ovaryumları kültüre alarak kabak (*Cucurbita pepo* L.) türünde haploid yapıdaki embriyoları ve bitkileri başarılı bir şekilde elde etmişlerdir. Yapılan diğer çalışmalarda farklı kabakgil türlerinde; *Cucurbita moschata*'da (Kwack ve Fujieda, 1988; Sun ve ark., 2009; Min ve ark., 2016), *Cucurbita pepo* L.'da (Metwally ve ark., 1998), *Cucumis melo*'da (Beharav ve Cohen, 1995; Ficcadenti ve ark., 1999), *Cucumis sativus*'da (Ge'mes Juha'sz ve ark., 1997; Ge'mes Juha'sz ve ark., 2002) ve diğer *Cucurbitaceae*'larda (Rakha ve ark., 2012) haploid bitki elde edebilmek için ovül-ovaryum kültürü kullanımının uygulanabilir bir yöntem olduğu belirtilmiştir.

Yazlık kabakta (*Cucurbita pepo* L.) döllenmemiş ovüllerin *in vitro*'da kültüre alınması ile ya da ışınlanmış polen tekniği kullanılarak haploid bitki eldesi ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır (Chambonnet ve Dumas de Vault, 1985; Kwack ve Fujieda, 1988; Gémesné ve Venczel, 1996; Metwally ve ark., 1998; Kurtar, 1999; Gémes Juha'sz ve ark., 2002). Ginogenesis yöntemiyle haploid embriyo uyartımını ve bu embriyolardan oluşan bitkiciklerin gelişimini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunlar; genotip, ovülün gelişim aşaması, ön uygulamalar, kültür ortamının bileşimi ve fitohormonlar olarak sıralanabilir (Ge'mes Juha'sz ve ark., 2002; Shalaby, 2007; Bohanec, 2009; Chen ve ark., 2011).

Diamine putresin, triamine spermidin ve tetramine spermin poliaminler içerisinde yer almakta olup, bitki hücrelerinde her yerde bulunurlar (Smith, 1970; Bagni ve Pistocchi, 1992). En önemli formları; putresin, spermidin ve spermin'dir.

Spermidin, spermin ve bunların öncüsü putresin, gelişimsel ve fizyolojik işlevlerde önemli rol oynayan büyüme düzenleyicilerinin yeni bir sınıfı olarak kabul edilmektedir. Poliaminler canlı organizmalarda yaygın olarak bulunmaktadır (Kusano ve ark., 2008).

Sentetik oksin 2,4-diklorofenoksiasetik asidin (2,4-D) kullanımı Halperin ve Wetherell (1964)'in havuçta yaptıkları somatik embriyo kültürü ile başlamıştır. Yapılan bu çalışma sonrası havuçta somatik embriyogenezin fizyolojisi ve moleküler biyolojisini incelemek için 2,4-D kullanımı standart protokol olarak kabul edilmiş ve çok çeşitli türlerde somatik embriyo teşviki çalışmalarında kullanımı popüler hale gelmiştir (Thorpe ve Stasolla, 2001). Kabakta yapılan birçok çalışmada özellikle embriyo kültürlerinde 2,4-D'nin kullanımı oldukça yaygındır (Metwally ve ark., 1998; Shalaby, 2007; Rakha ve ark., 2012; Kurtar ve ark., 2016; Kurtar ve ark., 2018).

Somatik embriyogenezde hücrel farklılaşmanın sağlanması için büyümeyi düzenleyicilerin yanı sıra poliaminler (putrescine, spermidine ve spermine) de önemlidir (Chi ve ark., 1994; Bajaj ve Rajam, 1996; Kevers ve ark., 2000).

Büyükuslu (2014)'ya göre putresin, spermidin ve spermin yaşamda yaygın şekilde yer alan başlıca doğal poliaminlerdir. Putresin ve spermidin hemen hemen tüm organizmalar içinde yer alırken, spermin ökaryotik hücrelerde yer almaktadır. Hücre bölünmesi ve uzaması, kök gelişimi, çiçek ve meyve gelişimi, replikasyon, transkripsiyon, translasyon, membran ve hücre çeperi kararlılığı, kromatin organizasyonu, ribozom biyogenezi ve programlanmış hücre ölümü gibi birçok hücrel işlevde poliaminlerin rolleri etkili olduğu için araştırma konusu olmuştur (Hussain ve ark., 2011).

Poliaminlerin (PA) yaşam için gerekli olduğunu destekleyen birçok sonuç elde edilmiştir. Bu nedenle kimyasal ve genetik olarak indüklenen Put ve Spd seviyelerinin tükenmesi maya ve bitkilerde öldürücü sonuçlar açığa çıkarmaktadır (Hamasaki-Katagiri ve ark., 1998; Roberts ve ark., 2001; Imai ve ark., 2004; Urano ve ark., 2005).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Kabakta yapılan ilk çalışma Chambonnet ve Dumas de Vaulx (1985) tarafından *Cucurbita pepo*'nun döllememiş ovüllerini *in vitro*'da kültüre alıp, bu ovüllerden haploid embriyolar ve bitkiler elde edilmesiyle başlamıştır. Araştırmacılar, oluşan bitkilerin çoğunun diploid olduğunu, bazılarının aneuploid, diploid-haploid kimeralı ve bazılarının da poliploid olduğunu görmüşlerdir. Benzer bir çalışmayı da Shail ve Robinson (1987) *Cucurbita pepo* türüne ait 3 kabak çeşidinde yapmışlardır. Denenen çeşitlerden yalnızca Black Jack çeşidinde kalluslar elde edilmiş, fakat bunlarda bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir.

Kwack ve Fujieda (1988), *Cucurbita moschata*'nın döllememiş ovüllerinden somatik embriyolar elde edilmesi üzerine ortam pH'sı ve agar konsantrasyonunun etkilerine bakmışlardır. Bu amaçla, antezisten 1 gün önce çiçek tomurcuklarını toplamış, 2 gün 5 °C ön sıcaklık uygulamasına tabi tutmuş ve ovaryumlardan çıkarılan ovülleri 60 g/l sakkaroz ve 8 g/l agar ilave ederek MS ortamında kültüre almışlardır. Araştırma sonucunda, *in vitro* kültürdeki ovüllerde kallus proliferasyonu ile birlikte embriyogenesis görüldüğünü bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar çiçekleri antezis safhasındada alarak, 2 gün 5 °C'de ön sıcaklık uygulanan ovaryumlardan alınan ovüllerin 30 g/l sakkaroz içeren MS ortamı üzerinde kültüre alınmasının en iyi sonucu verdiğini ve ovüllerden % 17'sinin embriyo oluşturduğunu bildirmişlerdir. Bu embriyolar uygun bir ortama transfer edildiğinde çoğunun kallus oluşturmaya yöneldiğini ve anormal morfolojik gelişmeler gösterdiğini, sadece birkaç tanesinin normal sürgün ve kök verdiğini izlemişlerdir. Bu araştırma ile elde edilen 3 bitkiden birinin diploid ($2n=40$), ikisinin ise tetraploid olduğu saptanmıştır.

Hıyar ve kabak bitkilerinde Gémesné ve Venczel (1996) yaptıkları ovaryum kültürü çalışmalarında 0.02 mg/l TDZ içeren başlangıç ortamı kullanmışlardır. Sonraki çalışmalarında embriyo teşviki için NAA ve BA içeren

ortamlar kullanılmış ve hem hıyarda, hem de kabakta embriyolar elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Metwally ve ark. (1998), çalışmalarında *in vitro* ginogenesis aracılığıyla *Cucurbita pepo* L.'dan haploid bitki üretmede ovül kültürü tekniğinin verimliliğini arttırmayı amaçlamışlardır. Bu amaçla antezisten bir gün önce topladıkları ovaryumları 4 °C'de 0, 2, 4 ve 8 günlük periyotlarla soğuk uygulamasına tabi tuttuktan sonra ovüllerini çıkarıp 2,4-D (2,4-diklorofenoksi asetik asit)'nin farklı konsantrasyonlarının (0.1, 1.0, 5.0 ve 10 mg/l) denendiği modifiye MS ortamlarına aktarmışlardır. Dört hafta boyunca 25±1 °C'de 16 saatlik fotoperiyotta gelişmeleri beklenen ovülleri hormon içermeyen MS ortamına aktararak dört hafta daha bekletmişlerdir. Bu süre sonunda her bir petride bulunan kültüre alınmış 100 ovülden oluşan kallus, bitkicik ve ginogenetik ovül sayıları belirlenmiş ve oluşan her bitkicik kültür kaplarında bulunan MS ortamına transfer edilmiştir. En iyi sonucu veren ortamın 1 ya da 5 mg/l 2,4-D içeren MS ortamı olduğu ve ön uygulamaların olumsuz etki gösterdiği, yapılan sitolojik gözlemler sonucunda da elde edilen her 3 bitkiden 1'inin haploid, diğerlerinin ise diploid olduğunu belirlemişlerdir.

Kurtar ve ark. (1999), türler arası melezlemeler yoluyla haploid bitki eldesi çalışmasında, yazlık kabak (*Cucurbita pepo* L.) türüne ait 4 genotipi kavun, karpuz, yerli hıyar, kışlık kabaklar, lif kabağı ve su kabağı genotipleri ile tozlamış, ancak sadece yazlık kabak Sakız genotipi ile *C. moschata* melezlemesinden embriyo taşıyan meyveler elde etmişlerdir. Oluşan meyvelerden 238 embriyo çıkarılmış ve E20A besi ortamında kültüre alınarak 144 bitki elde edilmiş olup, yapılan sitolojik incelemelerde bu bitkilerin tamamının diploid ya da melez oldukları tespit edilmiştir.

YoungQiang ve ark. (2004) yaptıkları bir çalışmada, *Cucurbita pepo*'nun tozlanmamış ovüllerden rejenere olan bitkilerin ploidi tanımlanmasında bekçi hücrelerindeki kromozom ve kloroplast sayımını kullanmışlardır. Haploid, diploid ve tetraploidde sırasıyla oranladıklarında bekçi hücrelerindeki kloroplast sayılarını

yaklaşık 1:2:4'e denk geldiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar bekçi hücrelerindeki kloroplast sayılarının ve bekçi hücrelerinin boyutlarının ploidi seviyesini belirlemede güvenilir ve pratik bir yöntem olduğunu ortaya koymuşlardır.

Yılmaz (2005), kabakta ovaryum kültürü yoluyla haploid bitki elde edilmesi amacıyla yaptığı çalışmada, "Zeybek F₁" ve "Sakız" kabak çeşitlerinin ovaryumlarını antezisten 1 gün önce, antezis döneminde ve antezisten 1 gün sonra CBM besi ortamında kültüre almış ve TDZ'nin 0.01, 0.1, 1.0 mg/l farklı dozlarda etkisini inceleyerek ovaryumları karanlık ortamda yaklaşık 3 hafta bekletmiştir. 0.1 mg/l TDZ içeren ortamlarda antezisten 1 gün önce ve antezis döneminde alınan ovaryumlarda gelişme gözlenmiştir. Gelişme gösteren ovaryumları NAA (0.01, 0.05, 0.1, 0.5 mg/l)'nin farklı dozları ve BA (0.1, 0.5, 1 mg/l)'nin farklı dozlarının ilave edildiği rejenerasyon ortamına transfer eden araştırmacı kallus gelişiminin görüldüğünü, ancak bitkiye dönüşüm sağlanamadığını bildirmiştir.

Shalaby (2007) yaptığı çalışmada, *Cucurbita pepo*'da *in vitro* ovül kültürü yöntemini kullanarak haploid bitki üretimine; genotipin, bitki gövdesindeki dişi çiçeğin durumunun, sıcaklığın ve sakkaroz konsantrasyonlarının etkilerini araştırmıştır. Araştırmacı 4 ayrı deneme kurmuş; bu denemelerde dişi çiçekleri antezisten bir gün önce toplayıp ovüllerini izole etmiştir. İlk denemede 12 genotip kullanarak % 3 sakkaroz, 1 mg/l kinetin ve 1 mg/l 2,4-D eklenmiş MS ortamında kültüre almış ve bu genotiplerden en fazla haploid bitki Raad F₁ genotipinde bulunmuştur. İkinci denemede aynı ortama iki hibridin (Giad ve Raad) 1. 2. ve 3. dişi çiçeklerinden ovüllerini ayırarak kültüre almış ve en iyi performansı 2. dişi çiçeklerin ovüllerinden elde etmiştir. Üçüncü denemede Queen F₁ hibrit çeşidini 0, 4, 7 ve 12 gün süreyle 4 °C ve 32 °C'ye maruz bırakmıştır. Bu çalışma sonucunda ovüllerin en iyi tepkiyi 4 veya 32 °C'ye 4 gün maruz bırakıldıklarında verdikleri gözlemiştir. Son denemede ise üç sakkaroz konsantrasyonu (30, 60 ve 90 g/l) Eskenderany çeşidinde test edildiğinde en iyi sonuç 30 g/l sakkaroz içeren MS ortamından alırken, 90 g/l sakkaroz içeren ortamdan sonuç alamamıştır. Bu dört

uygulama sonucunda elde edilen bitkilerin % 65'inin haploid ($2n=x=20$); % 35'inin ise diploid ($2n=2x=40$) olduğu sitolojik çalışmalarla bulmuştur.

Suprunova ve Shmykova (2008), hıyarda *in vitro* ovül, anter ve mikrospor kültürlerinden elde edilen haploid bitki verimini arttırmak amacıyla, hormon konsantrasyonu, çiçek tomurcuğu uzunluğu, genotip, bitki ve mikrosporların gelişim evrelerini araştırmışlardır. Araştırmacılar hormon konsantrasyonu açısından, ginogenesis gelişimi için en uygun konsantrasyonu 0.2 mg/l thidiazuron (TDZ) olarak belirlemişlerdir. Kullanılan genotiplerden sadece 'Gordion' çeşidinde ovül kültürü ile haploid bitki elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Vasudevan ve ark. (2008), hıyarda yaptıkları araştırmada amino asitlerden lösin, izolösin, treonin, triptofan ve metionin ile poliaminler; spermidin, spermin ve putrescinin ve hormon olarak benziladenin (BA) ile birlikte çoklu sürgün gelişimlerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar spermidin (68 μ M), lösin (88 μ M) ve BA (4.44 μ M) kombinasyonunda, sadece BA ve BA+Lösin kombinasyonuna oranla en fazla miktarda sürgün gelişimi gözlemişlerdir. Gelişen sürgünlerin aynı ortamda uzamalarını sağlamışlardır. Uzun sürgünler kök gelişimi için BA (4.44 μ M), putresin (62 μ M) ve lösin (88 μ M) ilave edilen MS ortamına aktarılmış, köklü bitkiler geliştirilmiş ve % 90 canlılık oranı ile toprağa aktarmayı başarmışlardır.

Rakha ve ark. (2012), kabakta yaptıkları anter ve ovül kültürü çalışmalarında, anter kültüründe besi ortamına eklenen 2,4-D'nin 1 ve 5 mg/l dozları ile sakkarozun 90, 120, 150 g/l etkilerini incelemişlerdir. Ovül kültüründe ise, +4 °C'de 0, 7, 14 gün süre ile soğuk uygulamasının ve 2,4-D'nin 1 ve 5 mg/l dozlarının etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak anter kültüründe en olumlu sonucu 90 g/l sakkaroz ve 1 mg/l 2,4-D konsantrasyonda elde ederken, ovül kültüründe ise +4 °C'de 7 veya 14 gün soğuk uygulamasının ve 5 mg/l 2,4-D içeriğinin en yüksek oranda bitki meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Kurtar ve ark. (2016) kışlık kabak ve balkabağında yaptıkları anter kültürü çalışmalarında, farklı çiçeklenme dönemlerinde anterleri tek çekirdekli mikrospor aşamasında toplamışlar ve MS besi ortam içeriğine 2,4-D, NAA, BAP ve Kinetinin farklı kombinasyonlarında embriyogenesis, kallus ve bitki oluşumunun etkilerini incelemişlerdir. En iyi yanıt, 2.0 mg/l ve 5.0 mg/l BAP+0.05 mg/l NAA kombinasyonunda gözlenmiştir. Araştırma sonucunda toplam 74 adet bitki elde edilmiş, ploidi analizleri yapılmış ve 35 adet bitkinin haploid, diğerlerinin ise diploid yapıda oldukları rapor edilmiştir.

Kurtar ve ark. (2018), *Cucurbita maxima* ve *Cucurbita moschata*'da ışınlanmış polen ve anter kültürü teknikleriyle haploid bitki elde etmenin mümkün olduğunu, bununla birlikte bu yöntemlerle başarı oranının düşük ve genotip seçiciliğinin bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle yürüttükleri bu araştırmada alternatif bir yöntem olarak ovül kültürünü kullanmışlardır. Ovüller farklı çiçeklenme tarihlerinde alınan çiçeklerden çıkartılmış ve 2,4-dichlorophenoxyacetic (2,4-D), benzylaminopurine (BAP), thidiazuron (TDZ) ve naphthaleneacetic acid (NAA) eklenen katı MS ortamında kültüre alınmıştır. Araştırmacılar, antezis gününde aldıkları çiçeklerde en yüksek başarı oranını 4.0 mg/l BAP+0.05 mg/l NAA+0.1 mg TDZ içeren ortamdan elde etmişlerdir. Geliştirdikleri bitkileri 0.01 mg/l indole-3-acetic acid (IAA)+1.0 mg/l BAP içeren katı ortamda köklenmeye almışlardır. Geliştirdikleri 122 bitkiden 70 tanesinin haploid olduğunu, 46 tanesinin diploid, diğerlerinin ise miksploid olduğunu bildirmişlerdir.

Erol (2018), hıyarlarda ovül kültüründe spermidine ve putrescine uygulamalarının haploid embriyo uyartımına etkilerini araştırmıştır. Çalışmada Sardes F₁, Cemre F₁, Altay F₁, Toros F₁ ve Langa olmak üzere 5 çeşit kültüre alınmış; ovül kültürü, sıvı kültür uygulamaları ve ışınlanmış polen tekniği uygulamaları ile 3 farklı yöntem kullanılarak haploid bitki elde edilmeye çalışmıştır. Ovül kültüründe embriyo uyarımı için 0.04 mg/l TDZ ilave edilmiş MS besi ortamı ve poliaminlerden spermidine (Spd) ve putrescinin (Put) 40, 80, 120,

160 ve 200 $\mu\text{M/l}$ dozda ayrı ayrı ve ikisi birlikte 80, 160, 240, 320 ve 400 $\mu\text{M/l}$ (1:1, v/v) dozları kullanılmıştır. Ovül kültürü deneme sonuçlarında tüm çeşitlerde genel olarak Spd ve Put içeren ortamlarda kontrol ortamına göre yüksek oranda ovül gelişimi ile sıvı kültür uygulamalarında da aynı şekilde Spd ve Put içeren ortamlarda yüksek embriyogenesis oranı kaydedilmiştir. Işınlanmış polen tekniği uygulamasında Co^{60} ışın kaynağında 300 Gy dozda ışınlama sonucunda 14 adet haploid bitki elde edilmiştir.

Yıldız (2019), karpuz genetik kaynaklarını kullanarak uyguladığı ovül-ovaryum kültürü tekniği ile haploid bitki elde etmek için yaptığı çalışmada; 2,4-D'nin 2.5 mg/l ile 5 mg/l kombinasyonlarını, TDZ'nin 0.5 mg/l ile 1 mg/l kombinasyonlarını, putresin ve spermidinin 500 μM ve 1000 μM dozunu ayrı ayrı ve birlikte kullanmıştır. MS, 8 g/l agar, 30 g/l sakkaroz eklediği toplamda 16 farklı ortam kullanarak kurduğu iki farklı denemede kültüre aldığı ovülleri karanlıkta 35 °C'de 3 gün sıcaklık şoku ön uygulaması yaparak ayarlanmış iklim odalarına yerleştirmiştir. İkinci denemesinde ovül kültürü için örneğini antezisten 2 gün önce, birinci denemede ise antezisten 1 gün önce toplayarak kurduğu denemelerde farklı seviyelerde ovül-ovaryum gelişimi ve kallus oluşumu gerçekleştiğinin sonucuna varmıştır. Genotip bazında elde ettiği sonuçlarında Kar 37 ve Kar 147 genotiplerinde, 2.5 mg/l 2,4-D+1 mg/l TDZ+500 μM Spd, 2.5 mg/l 2,4-D+1 mg/l TDZ+500 μM Put ile 5 mg/l 2,4-D+0.5 mg/l TDZ bulunan ortamlarda embriyo oluşumu ve bitkicik gelişimi sağlanmış, ancak bunlardan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir.

3. MATERYAL VE METOT

Araştırma, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama alanı ile Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Doku Kültürü Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Araştırmada bitkilerin yetiştirilmesi için 360 m² taban alanına sahip yay çatılı bir plastik serada yetiştiricilik yapılmıştır.

3.1. Bitkisel Materyal

Bitkisel materyal olarak, açık yeşil kabuklu Sakız kabağı grubundan 3 F₁ melez çeşit; Roni F₁ (Altın Tohumculuk), Seyden F₁ (Anamas Tohum), Chivas F₁ (Syngenta) ile koyu yeşil kabuklu Siyah kabak grubundan 3 çeşit; Elida F₁ (Altın Tohumculuk), Shakila F₁ (Anamas Tohum), Brillante F₁ (Fito Tohumculuk) olmak üzere 6 çeşit kullanılmıştır.

Elida F₁: Açık bitki habitüsüne sahip olan, orta erkenci, siyah kabak çeşididir. Meyveleri silindirik, 18-20 cm uzunluğundadır. Örtü altı ve açık tarla yetiştiriciliğine uygundur (Anonim, 2018b).

Roni F₁: Orta erkenci, açık bitki habitüsü olan silindirik kabak çeşididir. Çok verimli olup, ZYMV'ye orta derecede tolerans gösterir. Hasat periyodu uzundur (Anonim, 2018c).

Shakila F₁: Bol meyve bağlayan, silindirik yapıdaki siyah kabak çeşididir. Hasat periyodu uzun, sera ve açık tarla yetiştiriciliğine uygundur (Anonim, 2018d).

Seyden F₁: Sera, tünel ve erken bahar açık alan kabak yetiştiriciliği için geliştirilmiş bir çeşittir. Yüzeyi parlak ve silindirik şeklindedir. Soğuk havalarda örtü altı performansı iyi ve divit problemi azdır (Anonim, 2018e).

Brillante F₁: Kısa boğum aralarına sahip, erkenci koyu yeşil renkli siyah kabak çeşididir. Açık tarla ve sera yetiştiriciliğine uygundur. 16-18 cm uzunluğundaki meyveleri silindirik şeklindedir. CMV, WMV ve ZYMV'ye dayanımı oldukça iyidir (Anonim, 2018f).

Chivas Fı: Açıkta yetiştiricilik ve sera yetiştiriciliği için uygundur. Meyve rengi soluk yeşil, şekli silindriktir. ZYMV (Kabak Sarı Mozaik Virüsü), WMV (Karpuz Mozaik Virüsü), Ec'ne dayanıklıdır (Anonim, 2018g).

3.2. Metot

3.2.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi

Çalışmada kullanılan 4 çeşidin tohumları 21/02/2018 tarihinde 2:1 oranında torf ve perlit karışımı bulunan viyollere ekilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Tohum ekimi ve çimlenen tohumlar

Fideler 3-4 gerçek yapraklı döneme geldiğinde 15/03/2018 tarihinde, her çeşitten 40 bitki olmak üzere toplamda sağlıklı 240 adet fide (100-50) x 50 cm aralık mesafeler olacak şekilde çift sıralı olarak plastik seraya dikilmiştir (Şekil 3.2). Sulamada damlama sulama sistemi kullanılmış olup, bitki gelişimi için gerekli ilaçlama ve gübreleme işlemleri uygulanmıştır.



Şekil 3.2. Fidelerin 3-4 gerçek yapraklı görünümü ve seraya aktarım

Bitkiler laboratuvar çalışması için örnek alınacak olgunluğa erişene kadar kültür ve bakım işlemleri ve hastalık zararlı kontrolleri yapılmaya devam edilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Seradaki sağlıklı bitkiler

3.2.2. Dişi Çiçeklerin Toplanması

Ovül kültürü için kabak çeşitlerinin dişi çiçekleri antezisten bir gün önce (Shalaby, 2007) ve antezisten iki gün önce, iki farklı gelişme dönemi şeklinde erken ve geç olmak üzere çiçek saplarından kesilerek toplanmıştır (Şekil 3.4).

Toplanan dişi çiçekler Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Doku Kültürü Laboratuvarına getirilerek sterilizasyon aşaması başlatılmıştır. Yapılan çalışmada kabakta ovül kültüründe antezisten iki gün önceki aşamada olumlu sonuç alınmadığından, bu aşama değerlendirmeye alınmamıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.4. Denemede yer alan çeşitlerin antezisten 1 gün ve 2 gün önceki aşamaları



Şekil 3.5. Denemede kullanılan siyah ve sakız kabakların antezisten 1 gün önceki aşamaları

3.2.3. Embriyo Teşvik Ortamının Hazırlanması

Çalışmada temel besi ortamı olarak embriyo teşvikini sağlamak amacı ile daha önce kabakgil türlerinde yapılmış ovül-ovaryum kültürü çalışmalarında kullanılan ve olumlu sonuçlar alındığı belirtilmiş MS besi ortamı kullanılmıştır. Önceki çalışmalar incelendiğinde 2,4-D'nin yüksek konsantrasyonlarda kullanılmasının kabakgiller üzerine olumlu sonuçlar verdiği görülmüş ve 2,4-D 5 mg/l (Metwally ve ark., 1998; Rakha ve ark., 2012) tek doz olarak kullanılarak tüm ortam kombinasyonlarına eklenmiştir. Araştırmada poliaminlerin etkisini görmek için spermidine (Spd) ve putrescine (Put) 40, 80 ve 160 µM/l dozda ayrı ayrı ve her ikisi birlikte 80, 160 ve 320 µM/l (1:1, v:v) dozları kullanılmıştır. Kontrol grubu sadece 5 mg/l 2,4-D içermiştir. Bütün uygulamalarda standart olarak 30 g sakkaroz ile 8 g/l agar (Shalaby, 2007) kullanılmış ve pH 5.7'ye ayarlanmıştır (Çizelge 3.1). Otoklav 121 °C'de 15 dakika sterilizasyon protokolüne uygun olarak yapılmıştır. Otoklavı tamamlanan ortamlar steril kabine getirilerek 60 mm'lik steril petrilere aktarılmıştır (Şekil 3.6).

Çizelge 3.1. Hazırlanan besi ortamı kombinasyonları

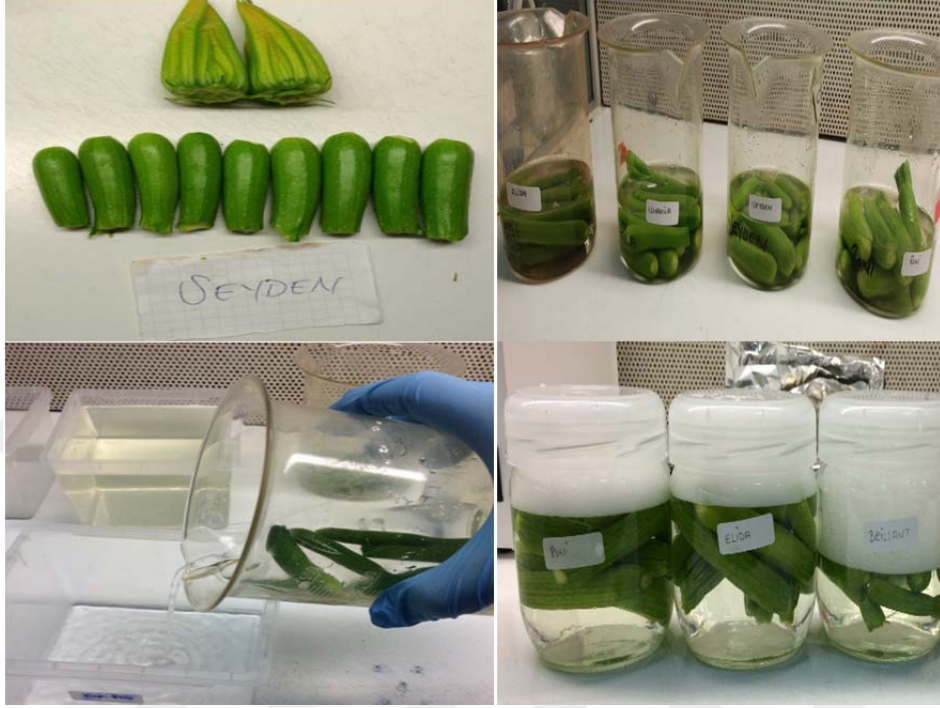
OrtamNo	MS + 30 g/l sakkaroz + 8 g/l agar + pH 5.7 + 2,4-D 5 mg/l tüm ortamlarda sabittir.	
	Spermidine (µM)	Putrescine (µM)
1	40	-
2	80	-
3	160	-
4	-	40
5	-	80
6	-	160
7	40	40
8	80	80
9	160	160
10	0	0



Şekil 3.6. Besi ortamlarının sterilizasyon aşamaları

3.2.4. Ovaryumların Sterilizasyonu

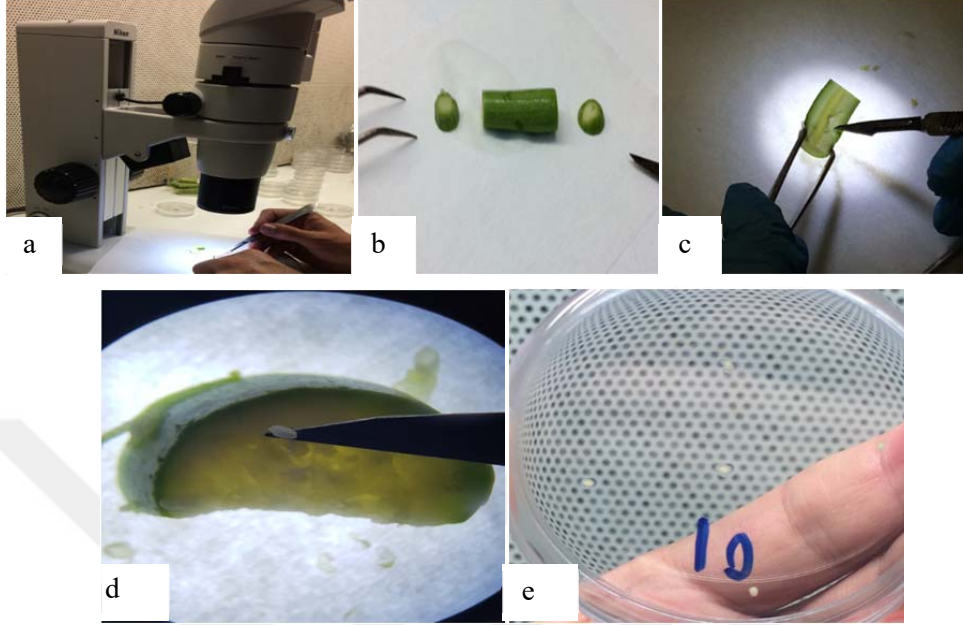
Dişi çiçekler yüzey sterilizasyonu için Ç. Ü. Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Doku Kültürü Laboratuvarı'na getirilerek, ovaryumlar, taç yapraklar ve dişi tepesinden ayrılmış ve sterilizasyon aşamasına geçilmiştir. Ovaryumlar steril kabine alınarak % 70'lik etil alkol çözeltisinde 2 dk tutulduktan sonra 3-4 kez steril saf suda durulama işlemi yapılmıştır. % 20'lik sodyum hipoklorit solüsyonu içerisinde 20 dk bekletilmiş ve 3-4 kez steril saf su ile durulandıktan sonra yüzey sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Dişi çiçeklerin sterilizasyon aşamaları

3.2.5. Ovül Kültürü Denemesinin Kurulması

Sterilizasyon işlemi gerçekleştirildikten sonra steril filtre kağıdı üzerine alınan ovaryumlardan steril pens ve bistüri yardımı ile ovüller çıkarılmıştır. Daha sonra ovüller hazırlanan besi ortamlarına aktarılmıştır. Çalışmada 6 genotip x 10 ortam kombinasyonu x 1 antezis aşaması x 4 tekerrür olmak üzere toplamda 240 petri x her petride 5 ovül olacak şekilde 1200 ovül kültüre alınmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Ovüllerin izolasyonu a) Kullanılan binoküler stereo mikroskop görüntüsü, b) Ovaryumların kesilmesi, c) Ovaryum içerisindeki ovüllerin görüntüsü, d) Ovüllerin ovaryum içerisindeki görüntüsü ile ovülün ortama yerleştirilmek üzere bistüri ile çıkarılması, e) Besi ortamına konulan ovülün ilk aşaması

Eksplantları içeren petriler 3000-4000 lüks ışık yoğunluğunda, 25-26 °C sıcaklığındaki iklim odalarında 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık ışıklandırma süresine tabi tutularak gelişmeye bırakılmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. İklim odasına alınan petriler

3.2.6. Ovüllerden Gelişen Bitkicik Formasyonlarının Kültüre Alınması

Gelişmeye bırakılan ovüller 3 hafta içinde gelişme göstererek renk ve boyut değişikliğine uğramıştır (Şekil 3.10). Kültüre alınan ovüller gözlenmeye devam edilmiş ve bazılarında yapılar değişerek kallus oluşturmuşlardır.



Şekil 3.10. Gelişme gösteren eksplantların durumları

3.2.7. İncelenen Özellikler

Ovül Gelişimi (%): Haftalık gözlemler sonucunda kaydedilen rengi değişen ve şişip irileşen rejenere olan ovül sayısı, kültüre alınan toplam ovül sayısına oranlanarak hesaplanmıştır.

Ovül Kültüründe Kallus Oluşumu (%): Kültür süresi sonucunda kaydedilen kallus oluşumu görülen ovül sayısı, kültüre alınan ovül sayısına oranlanarak hesaplanmıştır.

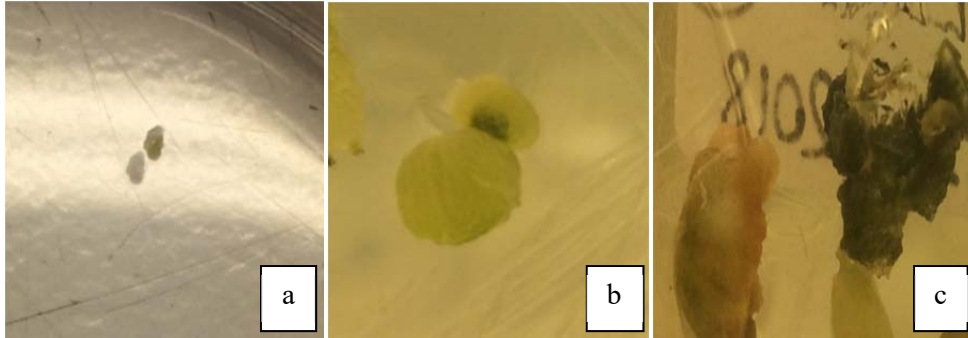


4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Ovül kültürü çalışması, 20 gün arayla erken ve geç dönem olmak üzere iki denemeden oluşmaktadır. Çalışma bulguları her çeşit için spermidine ve putrescine'nin farklı dozları ile oluşturulmuş dokuz ortamın ovül gelişimi üzerindeki etkileri yüzde olarak değerlendirilerek aşağıdaki çizelge ve grafiklerde gösterilmiştir.

4.1. Ovül Kültürü Denemesine Ait Bulgular

Denemeler 17/05/2018 ve 06/06/2018 tarihlerinde erken ve geç dönem şeklinde olmak üzere 20 gün arayla iki kez kurulmuştur. Çalışmada altı farklı çeşide ait çiçekler, antezisten 1 gün önceki aşamada toplanarak kültüre alınmıştır. Yaklaşık 15 hafta boyunca gözlenen ovüller kültür süresi sonucunda her çeşitte ayrı olarak değerlendirilmiştir. Kaydedilen gözlemler doğrultusunda rengi değişen ve şişen ovüller gelişen ovül, rejenere olarak farklı bir değişime uğrayan ovüller ise kallus oluşumu şeklinde değerlendirilmiş olup, hiçbir değişikliğe uğramayan ovüller ise gelişme göstermeyen ovüller olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Gözlenen ovül durumları; a) Herhangi bir gelişme göstermeyen ovül, b) Rengi değişen ve şişerek gelişen ovül, c) Rejenere olarak değişime uğrayan ovülden kallus oluşumu

4.1.1. Elida F1 Çeşidine Ait Birinci Ovül Kültürü Denemesi Bulguları

Elida F1 çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları Çizelge 4.1'de verilmiştir. En yüksek ovül gelişimi % 95 gelişim oranıyla 5 nolu ortamda (80 μ M Put), % 90 gelişim oranıyla 3 nolu (160 μ M Spd) ve 7 nolu (40 μ M Spd+40 μ M Put) ortamlarda görülmüştür. En düşük gelişme ise % 55 oranıyla 9 nolu (160 μ M Put+160 μ M Spd) ortamda kaydedilmiştir.

Kallus oluşumu için veriler incelendiğinde; sadece 1 nolu (40 μ M Spd) ile 6 nolu (160 μ M Put) ortamlarda % 15, 3 nolu ortamda (160 μ M Spd) ise % 10 oranında gelişim gözlenmiştir.

Çizelge 4.1. Elida F1 çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları

Ortamlarda; MS + 30 g/l sakkaroz + 8 g/l agar + 2,4-D 5 mg/l standart olmak üzere, pH 5.7 olarak ayarlanmıştır.				
Ortam No	Ortam Kombinasyonları		İncelenen Özellikler	
	Spermidine (μ M)	Putrescine (μ M)	Ovül Gelişimi (%)	Kallus Gelişimi (%)
1	40	-	85	15
2	80	-	75	0
3	160	-	90	10
4	-	40	80	0
5	-	80	95	0
6	-	160	70	15
7	40	40	90	5
8	80	80	80	0
9	160	160	55	0
10 (KONTROL)	0	0	70	0

4.1.2. Roni F1 Çeşidine Ait Birinci Ovül Kültürü Denemesi Bulguları

Roni F1 çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları Çizelge 4.2'de verilmiştir. En yüksek ovül gelişimi % 100 gelişim oranıyla 2 nolu (80 μ M Spd), 4 nolu (40 μ M Put), 5 nolu (80 μ M Put), 7 nolu (40 μ M Spd+40 μ M Put) ve 8 nolu

(80 μ M Spd+80 μ M Put) ortamlarda görülmüştür. 6 nolu (160 μ M Put) ortam ve kontrol ortamında % 93 oranında gelişim görülmüştür.

Kallus oluşumu, 4 nolu (40 μ M Put), 8 nolu (80 μ M Spd+80 μ M Put) ve 9 nolu (160 μ M Spd+160 μ M Put) ortamlarda % 30 oranında gerçekleşirken, 1 nolu (40 μ M Spd) ve 6 nolu (160 μ M Put) ortamlarda gelişim görülmemiştir.

Çizelge 4.2. Roni F1 çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları

Ortamlarda; MS + 30 g/l sakkaroz + 8 g/l agar + 2,4-D 5 mg/l standart olmak üzere, pH 5.7 olarak ayarlanmıştır.				
Ortam No	Ortam Kombinasyonları		İncelenen Özellikler	
	Spermidine (μ M)	Putrescine (μ M)	Ovül Gelişimi (%)	Kallus Gelişimi (%)
1	40	-	95	0
2	80	-	100	15
3	160	-	95	5
4	-	40	100	30
5	-	80	100	15
6	-	160	93	0
7	40	40	100	5
8	80	80	100	30
9	160	160	90	30
10 (KONTROL)	0	0	93	13

4.1.3. Shakila F1 Çeşidine Ait Birinci Ovül Kültürü Denemesi Bulguları

Shakila F1 çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları Çizelge 4.3'de verilmiştir. En yüksek ovül gelişimi % 100 gelişim oranıyla 2 nolu (80 μ M Spd), 4 nolu (40 μ M Put), 5 nolu (80 μ M Put) ve 8 nolu (80 μ M Spd+80 μ M Put) ortamlarda gözlenmiştir. En düşük gelişim oranı ise % 65 ile kontrol ortamında kaydedilmiştir.

Kallus oluşumu ise, en yüksek % 47 oranıyla 9 nolu ortamda (160 μ M Spd+160 μ M Put), bunu takiben % 7 oranıyla 1 nolu ortamda (40 μ M Spd), % 5 oranıyla 8 nolu ortamda (80 μ M Spd+80 μ M Put) görülmüştür.

Çizelge 4.3. Shakila F1 çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları

Ortamlarda; MS + 30 g/l sakkaroz + 8 g/l agar + 2,4-D 5 mg/l standart olmak üzere, pH 5.7 olarak ayarlanmıştır.				
Ortam No	Ortam Kombinasyonları		İncelenen Özellikler	
	Spermidine (μ M)	Putrescine (μ M)	Ovül Gelişimi (%)	Kallus Gelişimi (%)
1	40	-	73	7
2	80	-	100	0
3	160	-	87	0
4	-	40	100	0
5	-	80	100	0
6	-	160	90	0
7	40	40	85	0
8	80	80	100	5
9	160	160	87	47
10 (KONTROL)	0	0	65	0

4.1.4. Seyden F1 Çeşidine Ait Birinci Ovül Kültürü Denemesi Bulguları

Seyden F1 çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları Çizelge 4.4'de verilmiştir. En yüksek ovül gelişimi % 95 oranıyla 8 nolu ortamda (80 μ M Spd+80 μ M Put), % 90 gelişim oranıyla 1 nolu ortam (40 μ M Spd) ve 10 nolu ortamda (kontrol) görülmüştür. En düşük ovül gelişimi ise % 67 oranıyla 2 nolu ortamda (80 μ M Spd) gözlenmiştir. Kallus oluşumu bu çeşitte görülmemiştir.

Çizelge 4.4. Seyden F1 çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları

Ortamlarda; MS + 30 g/l sakkaroz + 8 g/l agar + 2,4-D 5 mg/l standart olmak üzere, pH 5.7 olarak ayarlanmıştır.				
Ortam No	Ortam Kombinasyonları		İncelenen Özellikler	
	Spermidine (µM)	Putrescine (µM)	Ovül Gelişimi (%)	Kallus Gelişimi (%)
1	40	-	90	0
2	80	-	67	0
3	160	-	70	0
4	-	40	75	0
5	-	80	85	0
6	-	160	87	0
7	40	40	87	0
8	80	80	95	0
9	160	160	87	0
10 (KONTROL)	0	0	90	0

4.1.5. Brillante F1 Çeşidine Ait Birinci Ovül Kültürü Denemesi Bulguları

Brillante F1 çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları Çizelge 4.5'de verilmiştir. En yüksek ovül gelişimi % 100 oranıyla 1 nolu (40 µM Spd), 3 nolu (160 µM Spd), 5 nolu (80 µM Put), 6 nolu (160 µM Put) ve 10 nolu (kontrol) ortamlarda görülmüştür. 9 nolu ortamda (160 µM Spd+160 µM Put) % 90 gelişim oranı gözlenmiştir.

Kallus gelişim durumu ise, en yüksek % 45 gelişim oranıyla 9 nolu ortamda (160 µM Spd+160 µM Put) görülürken, % 40 oranıyla 4 nolu (40 µM Put) ve 7 nolu (40 µM Spd+40 µM Put) ortamlarda, % 30 oranıyla 6 nolu (160 µM Put) ortamda kallus oluşumları belirlenmiştir.

Genel olarak değerlendirme yapıldığında birinci ovül kültürü denemesine ait en iyi bulgular Brillante F1 çeşidinde kaydedilmiştir.

Çizelge 4.5. Brillante F1 çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları

Ortamlarda; MS + 30 g/l sakkaroz + 8 g/l agar + 2,4-D 5 mg/l standart olmak üzere, pH 5.7 olarak ayarlanmıştır.				
Ortam No	Ortam Kombinasyonları		İncelenen Özellikler	
	Spermidine (µM)	Putrescine (µM)	Ovül Gelişimi (%)	Kallus Gelişimi (%)
1	40	-	100	20
2	80	-	95	20
3	160	-	100	27
4	-	40	93	40
5	-	80	100	15
6	-	160	100	30
7	40	40	95	40
8	80	80	95	25
9	160	160	90	45
10 (KONTROL)	0	0	100	10

4.1.6. Chivas F1 Çeşidine Ait Birinci Ovül Kültürü Denemesi Bulguları

Chivas F1 çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları Çizelge 4.6'da verilmiştir. En yüksek ovül gelişimi % 95 oranıyla 6 nolu (160 µM Put) ve 8 nolu (80 µM Spd+80 µM Put) ortamlarda görülürken, en düşük ovül gelişimi % 50 gelişim oranıyla 1 nolu (40 µM Spd) ortamda ve % 30 gelişim oranıyla 10 (kontrol) nolu ortamda görülmüştür.

Kallus gelişimi sadece % 10 oranıyla 5 nolu (80 µM Put) ortamda gözlenmiş olup, diğer ortamlarda kallus gelişimi olmamıştır.

Çizelge 4.6. Chivas F1 çeşidine ait birinci ovül kültürü denemesi bulguları

Ortamlarda; MS + 30 g/l sakkaroz + 8 g/l agar + 2,4-D 5 mg/l standart olmak üzere, pH 5.7 olarak ayarlanmıştır.				
Ortam No	Ortam Kombinasyonları		İncelenen Özellikler	
	Spermidine (µM)	Putrescine (µM)	Ovül Gelişimi (%)	Kallus Gelişimi (%)
1	40	-	50	0
2	80	-	73	0
3	160	-	80	0
4	-	40	90	0
5	-	80	60	10
6	-	160	95	0
7	40	40	85	0
8	80	80	95	0
9	160	160	70	0
10 (KONTROL)	0	0	30	0

4.1.7. Elida F1 Çeşidine Ait İkinci Ovül Kültürü Denemesi Bulguları

Elida F1 çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları Çizelge 4.7'de verilmiştir. En yüksek ovül gelişimi % 53 gelişim oranıyla 6 nolu (160 µM Put) ortamda görülürken, bunu sırasıyla % 47 oranıyla 1 nolu (40 µM Spd) ortam, % 45 oranıyla 4 nolu (40 µM Put) ve 5 nolu (80 µM Put) ortam, % 40 gelişim oranıyla ise 2 nolu (80 µM Spd) ortam takip etmiştir. En düşük ovül gelişimi % 5 gelişim oranı ile kontrol ortamında görülmektedir.

Kallus gelişimi en yüksek % 27 oranıyla 6 nolu (160 µM Put) ortamda gözlenirken, en düşük % 5 oranıyla 7 nolu (40 µM Spd+40 µM Put) ve 8 nolu (80 µM Spd+80 µM Put) ortamlarda görülmüştür. Kontrol grubunda bulunan ovüllerde kallus oluşumuna rastlanmamıştır.

Çizelge 4.7. Elida F1 çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları

Ortamlarda; MS + 30 g/l sakkaroz + 8 g/l agar + 2,4-D 5 mg/l standart olmak üzere, pH 5.7 olarak ayarlanmıştır.				
Ortam No	Ortam Kombinasyonları		İncelenen Özellikler	
	Spermidine (µM)	Putrescine (µM)	Ovül Gelişimi (%)	Kallus Gelişimi (%)
1	40	-	47	20
2	80	-	40	20
3	160	-	25	10
4	-	40	45	25
5	-	80	45	10
6	-	160	53	27
7	40	40	25	5
8	80	80	35	5
9	160	160	27	7
10 (KONTROL)	0	0	5	0

4.1.8. Roni F1 Çeşidine Ait İkinci Ovül Kültürü Denemesi Bulguları

Roni F1 çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları Çizelge 4.8'de verilmiştir. En yüksek ovül gelişimi % 60 oranıyla 4 nolu (40 µM Put) ortamda görülmüştür. 1 nolu (40 µM Spd) ortamda % 45 gelişim oranı, 3 nolu (160 µM Spd) ve 8 nolu (80 µM Spd+80 µM Put) ortamlarda % 40 gelişim oranı tespit edilmiştir. En düşük ovül gelişimi ise % 25 oran ile 2 nolu (80 µM Spd) ve 10 nolu (kontrol) ortamlarda gözlenmiştir.

Kallus gelişimi incelendiğinde % 20 gelişim oranıyla 7 nolu (40 µM Spd+40 µM Put) ortamda en yüksek kallus oluşum oranına rastlanırken, % 5 oranıyla 1 nolu (40 µM Spd), 4 nolu (40 µM Put) ve 9 nolu (160 µM Spd+160 µM Put) ortamlarda en düşük kallus oluşum oranı görülmüştür.

Çizelge 4.8. Roni F1 çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları

Ortamlarda; MS + 30 g/l sakkaroz + 8 g/l agar + 2,4-D 5 mg/l standart olmak üzere, pH 5.7 olarak ayarlanmıştır.				
Ortam No	Ortam Kombinasyonları		İncelenen Özellikler	
	Spermidine (µM)	Putrescine (µM)	Ovül Gelişimi (%)	Kallus Gelişimi (%)
1	40	-	45	5
2	80	-	25	10
3	160	-	40	15
4	-	40	60	5
5	-	80	35	10
6	-	160	27	7
7	40	40	33	20
8	80	80	40	10
9	160	160	30	5
10 (KONTROL)	0	0	25	10

4.1.9. Shakila F1 Çeşidine Ait İkinci Ovül Kültürü Denemesi Bulguları

Shakila F1 çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları Çizelge 4.9'da verilmiştir. Ovül gelişimi en yüksek oranı % 73 ile 4 nolu (40 µM Put) ortamda görülürken, 2 nolu (80 µM Spd) ortamda % 60 gelişim oranı, 3 nolu (160 µM Spd) ortamda % 55 gelişim oranı, 7 nolu (40 µM Spd+40 µM Put) ortamda % 50 gelişim oranı tespit edilmiştir. En düşük ovül gelişimi ise kontrol ortamında görülmüştür.

Kallus oluşumu % 30 gelişim oranı ile 7 nolu (40 µM Spd+40 µM Put) ortamda kaydedilmiştir. 2 nolu (80 µM Spd) ortamda ise % 27 kallus gelişim oranı incelenmiştir. En düşük kallus oluşumu ise 8 nolu (80 µM Spd+80 µM Put) ortam ve kontrol ortamında % 5 oranıyla ölçülmüştür.

Çizelge 4.9. Shakila F1 çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları

Ortamlarda; MS + 30 g/l sakkaroz + 8 g/l agar + 2,4-D 5 mg/l standart olmak üzere, pH 5.7 olarak ayarlanmıştır.				
Ortam No	Ortam Kombinasyonları		İncelenen Özellikler	
	Spermidine (µM)	Putrescine (µM)	Ovül Gelişimi (%)	Kallus Gelişimi (%)
1	40	-	35	10
2	80	-	60	27
3	160	-	55	10
4	-	40	73	13
5	-	80	25	15
6	-	160	45	10
7	40	40	50	30
8	80	80	35	5
9	160	160	40	10
10 (KONTROL)	0	0	15	5

4.1.10. Seyden F1 Çeşidine Ait İkinci Ovül Kültürü Denemesi Bulguları

Seyden F1 çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları Çizelge 4.10'da verilmiştir. Ovül gelişim durumu incelendiğinde, en yüksek gelişim 8 nolu (80 µM Spd+80 µM Put) ortamda % 33 oranı ile gözlenirken, % 30 gelişim oranı ile 1 nolu (40 µM Spd) ve 4 nolu (40 µM Put) ortamlar bunu takip etmiştir. En düşük ovül gelişimi ise % 5 oranıyla kontrol ortamında tespit edilmiştir.

Kallus oluşumu incelendiğinde ise, % 10 gelişim oranıyla 4 nolu (40 µM Put) ortamda en yüksek gelişim oranı görülürken, bunu % 5 gelişim oranı ile 3 nolu (160 µM Spd), 5 nolu (80 µM Put), 6 nolu (160 µM Put) ve 9 nolu (160 µM Spd+160 µM Put) ortamlar takip etmiştir. 1, 2, 7, 8 nolu ortamlar ile kontrol ortamlarında kallus oluşumuna rastlanmamıştır.

Çizelge 4.10. Seyden F1 çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları

Ortamlarda; MS + 30 g/l sakkaroz + 8 g/l agar + 2,4-D 5 mg/l standart olmak üzere, pH 5.7 olarak ayarlanmıştır.				
Ortam No	Ortam Kombinasyonları		İncelenen Özellikler	
	Spermidine (µM)	Putrescine (µM)	Ovül Gelişimi (%)	Kallus Gelişimi (%)
1	40	-	30	0
2	80	-	15	0
3	160	-	20	5
4	-	40	30	10
5	-	80	25	5
6	-	160	20	5
7	40	40	13	0
8	80	80	33	0
9	160	160	25	5
10 (KONTROL)	0	0	5	0

4.1.11. Brillante F1 Çeşidine Ait İkinci Ovül Kültürü Denemesi Bulguları

Brillante F1 çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları Çizelge 4.11'de verilmiştir. En yüksek ovül gelişimi % 80 oranıyla 3 nolu (160 µM Spd) ve 9 nolu (160 µM Spd+160 µM Put) ortamlarda görülmüştür. En düşük ovül gelişimi ise % 25 oranı ile kontrol ortamında gözlenmiştir. Genel olarak ikinci ovül kültürü denemesinde en iyi ovül gelişimi sonuçlarına Brillante F1 çeşidinde rastlanmıştır.

En yüksek kallus gelişim oranı % 35 oran ile 4 nolu (40 µM Put) ortamda görülmüştür. En düşük gelişim % 5 oranı ile kontrol ortamında gerçekleşmiştir. Genel olarak tüm deneme ve çizelgelere bakıldığında en iyi kallus gelişim oranları Brillante F1 çeşidinde görülmüştür.

Çizelge 4.11. Brillante F1 çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları

Ortamlarda; MS + 30 g/l sakkaroz + 8 g/l agar + 2,4-D 5 mg/l standart olmak üzere, pH 5.7 olarak ayarlanmıştır.				
Ortam No	Ortam Kombinasyonları		İncelenen Özellikler	
	Spermidine (µM)	Putrescine (µM)	Ovül Gelişimi (%)	Kallus Gelişimi (%)
1	40	-	70	20
2	80	-	60	30
3	160	-	80	30
4	-	40	70	35
5	-	80	80	30
6	-	160	53	13
7	40	40	75	20
8	80	80	50	15
9	160	160	80	27
10 (KONTROL)	0	0	25	5

4.1.12. Chivas F1 Çeşidine Ait İkinci Ovül Kültürü Denemesi Bulguları

Chivas F1 çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları Çizelge 4.12'de verilmiştir. Ovül gelişim durumu incelendiğinde en yüksek gelişim oranı % 40 oran ile 8 (80 µM Spd+80 µM Put) nolu ortamda görülürken, % 7 gelişim oranı ile kontrol ortamında en düşük gelişim oranı gözlenmiştir. Gelişim durumunu takiben % 33 oran ile 6 nolu (160 µM Put) ortam ve % 20 oran ile 5 nolu (80 µM Put) ortamlarda sırasıyla ovül gelişimlerine rastlanılmıştır.

En yüksek kallus oluşumu % 27 gelişim oranıyla 6 nolu (160 µM Put) ortamda gözlenmiştir. 2 nolu (80 µM Spd) , 3 nolu (160 µM Spd) ve 7 nolu (40 µM Spd+40 µM Put) ortamlarda % 5 kallus gelişimine rastlanmıştır. 1, 4, 8, 9 ve 10 (kontrol) nolu ortamlarda kallus oluşumu görülmemiştir.

Çizelge 4.12. Chivas F1 çeşidine ait ikinci ovül kültürü denemesi bulguları

Ortamlarda; MS + 30 g/l sakkaroz + 8 g/l agar + 2,4-D 5 mg/l standart olmak üzere, pH 5.7 olarak ayarlanmıştır.				
Ortam No	Ortam Kombinasyonları		İncelenen Özellikler	
	Spermidine (µM)	Putrescine (µM)	Ovül Gelişimi (%)	Kallus Gelişimi (%)
1	40	-	10	0
2	80	-	15	5
3	160	-	15	5
4	-	40	13	0
5	-	80	20	5
6	-	160	33	27
7	40	40	10	5
8	80	80	40	0
9	160	160	15	0
10 (KONTROL)	0	0	7	0

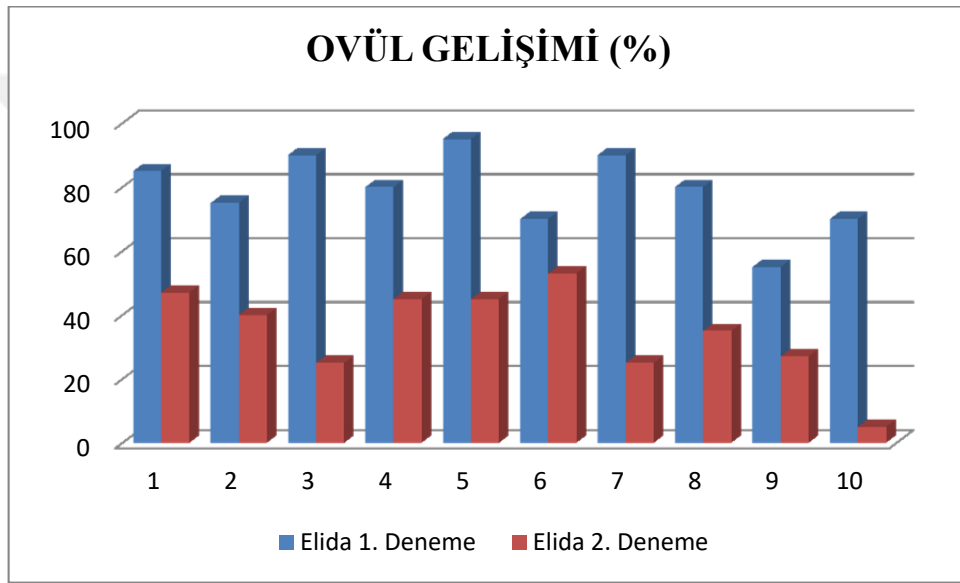
4.1.13. Ovül Kültürü Birinci ve İkinci Deneme Bulgularının Karşılaştırılması

Birinci ovül kültürü denemesi 17/05/2018 tarihinde, ikinci ovül kültürü denemesi ise 06/06/2018 tarihinde kurularak her iki denemede de aynı koşullar ve aynı ortam kombinasyonları sağlanmıştır. Her iki deneme karşılaştırıldığında denemelerin kurulma tarihleri arasında 20 gün farkın bulunması, denemelerden çıkan sonuçları da etkilemiştir. Birinci ovül kültürü denemesi bulgularının, ikinci ovül kültürü denemesi bulgularına kıyasla daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Bunun nedeninin çiçeklerin toplandığı tarihlerdeki sera içi sıcaklık farklılıkları ile bu sıcaklıklara çeşitlerin göstermiş olduğu tepkiler, bitkide bulunan büyüme ve gelişme düzenleyicilerin farklı seviyelerde olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Elida F1 çeşidi için kurulan her iki denemenin ovül gelişim sonuçları kıyaslandığında (Şekil 4.2); ikinci ovül kültürü deneme bulgularının, birinci ovül kültürü deneme bulgularına göre ovül gelişim oranlarında daha düşük olduğu

dikkati çekmiştir. Birinci ovül kültürü deneme bulgularına göre en yüksek gelişim % 95 oranıyla 5 nolu (80 μ M Put) ortamda görülürken, ikinci ovül kültürü deneme bulgularında en yüksek oran % 53 gelişim oranıyla 6 nolu (160 μ M Put) ortamdan elde edilmiştir.

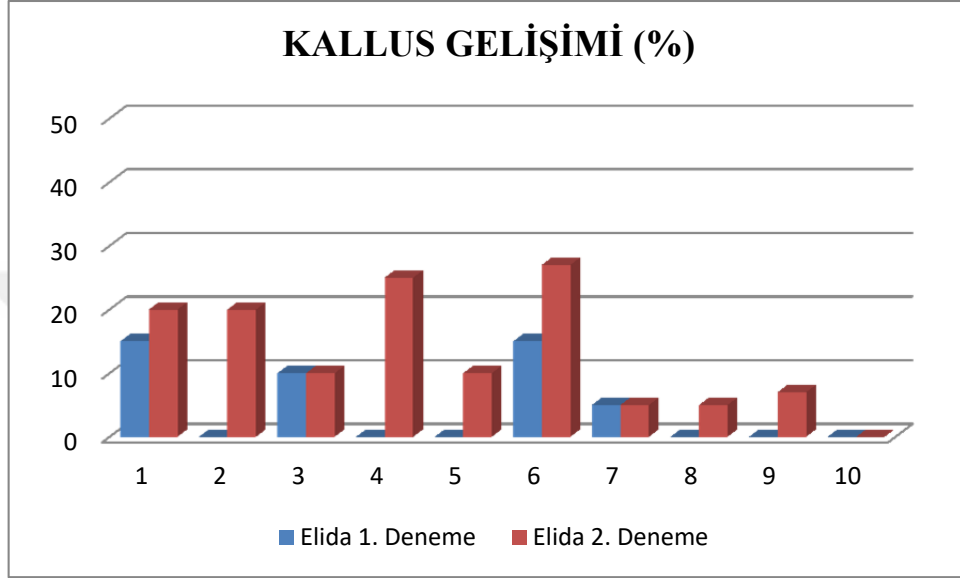
Genel olarak her iki denemede Put içeren ortamlarda ovül gelişimi daha başarılı bulunmuştur.



Şekil 4.2. Elida F1 çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi ovül gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması

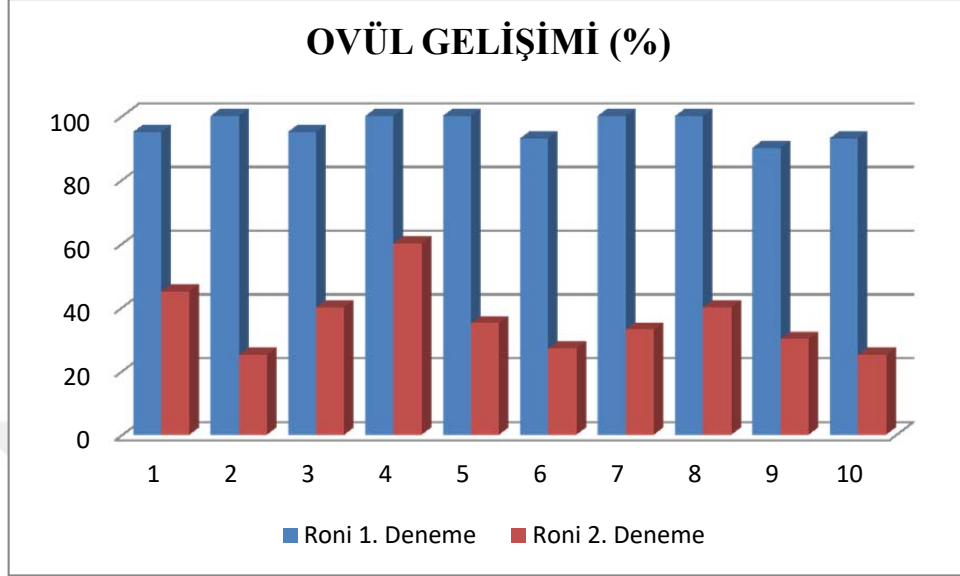
Elida F1 çeşidi için kallus gelişim durumunda ise birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi karşılaştırıldığında (Şekil 4.3), birinci deneme sonucunda kallus gelişim oranı oldukça düşük kalmış ve bazı ortamlarda gelişme görülmemiştir. Birinci deneme bulgularında en yüksek kallus gelişimi % 15 gelişim oranı ile 1 nolu (40 μ M Spd) ve 6 nolu (160 μ M Put) ortamlarda gözlenmiştir. İkinci denemede ise kallus gelişim oranı en yüksek % 27 gelişim oranı ile birinci deneme ile aynı şekilde 6 nolu (160 μ M Put) ortamda gözlenmiş ve Put kombinasyonlarının bulunduğu ortamlarda gelişim yüzdeleri artış göstermiştir. Elida F1 çeşidi için

deneme kurumundan itibaren birinci denemede ovül gelişimi, ikinci denemede ise kallus gelişimi başarılı bulunmuştur.



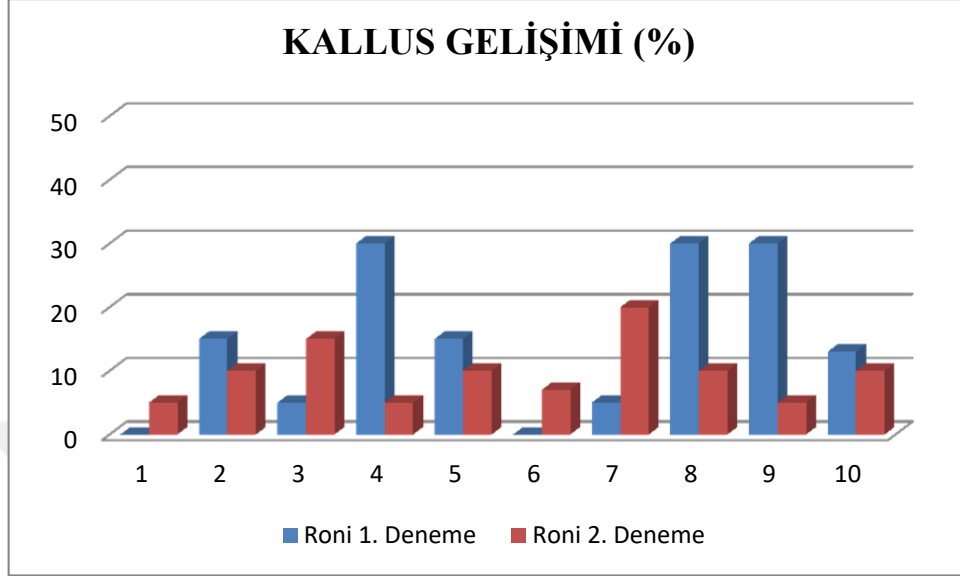
Şekil 4.3. Elida F₁ çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi kallus gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması

Roni F₁ çeşidi için kurulan birinci ve ikinci ovül kültürü bulguları karşılaştırıldığında (Şekil 4.4), birinci denemede birçok ortam kombinasyonunda gelişme görülmüştür. Her iki deneme için ovül gelişiminin en yüksek bulunduğu ortam 40 μ M Put içeren 4 nolu ortamda gözlenmiştir. İkinci denemenin ovül gelişim oranları zayıf kalmıştır. Roni F₁ çeşidi için 1.deneme başarılı bulunmuştur.



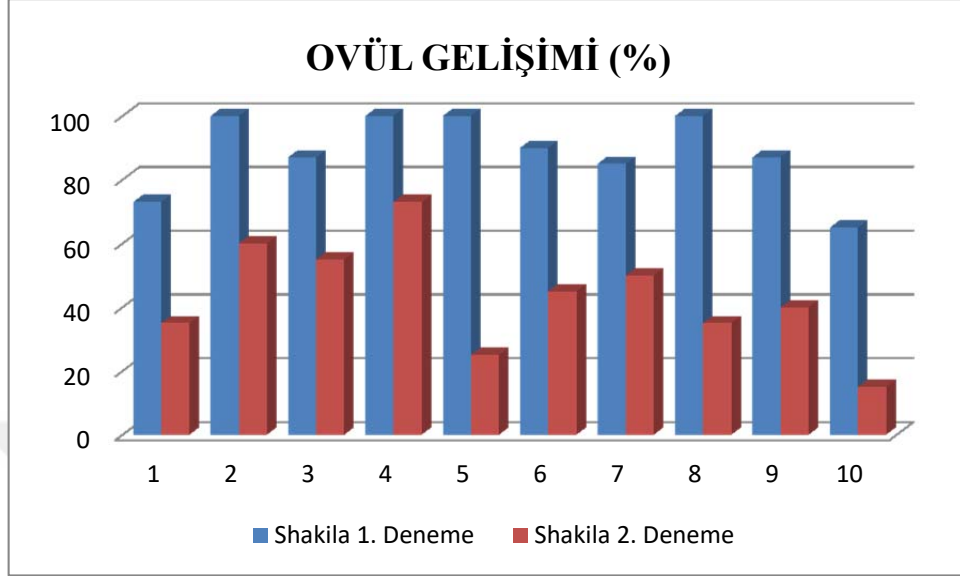
Şekil 4.4. Roni F₁ çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi ovül gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması

Roni F₁ çeşidi için kallus gelişimi ise birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi bulguları karşılaştırıldığında (Şekil 4.5), ikinci denemede her ortam kombinasyonunda gelişme görülmüş, en yüksek kallus gelişim oranı % 20 gelişim oranı ile 7 nolu (40 μ M Spd+40 μ M Put) ortamda kaydedilmiştir. Birinci denemede bazı ortamlarda kallus oluşumuna rastlanmamıştır. En yüksek kallus gelişimi oranına 4 nolu (40 μ M Put), 8 nolu (80 μ M Spd+80 μ M Put) ve 9 nolu (160 μ M Spd+160 μ M Put) ortamlarda % 30 oranında rastlanmıştır.



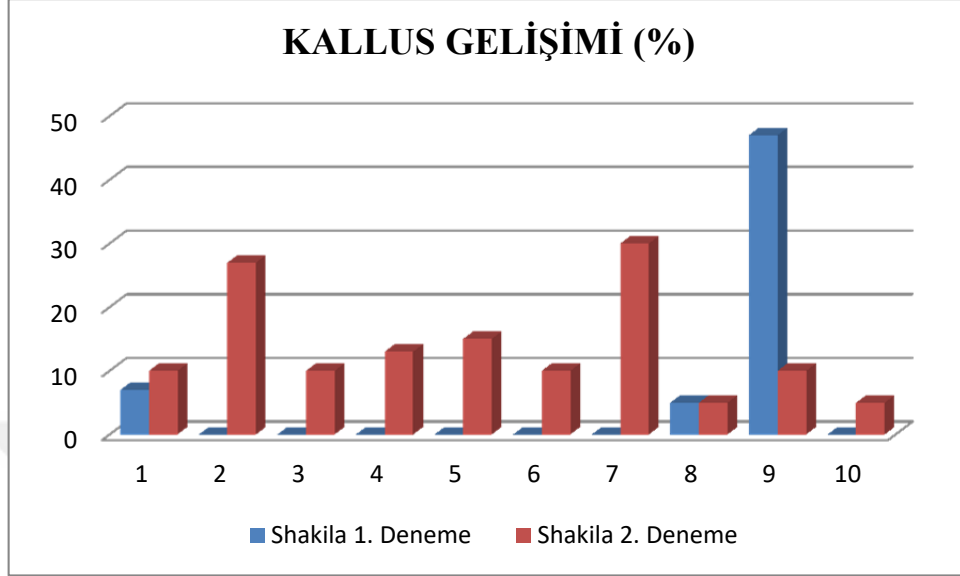
Şekil 4.5. Roni F₁ çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi kallus gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması

Shakila F₁ çeşidi için kurulan birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi bulguları karşılaştırıldığında (Şekil 4.6), her iki denemede en başarılı gelişim 4 nolu 40 μ M Put içeren ortamda görülmüştür. Birinci deneme bulgularında her ortam kombinasyonunda başarılı gelişmeler kaydedilmiştir. İkinci denemede ovül gelişimleri ise birinci denemeye oranla zayıf kalmıştır. İkinci denemede en yüksek ovül gelişim oranı 7 nolu 40 μ M Spd+40 μ M Put ortamında % 30 olarak gözlenmiştir.



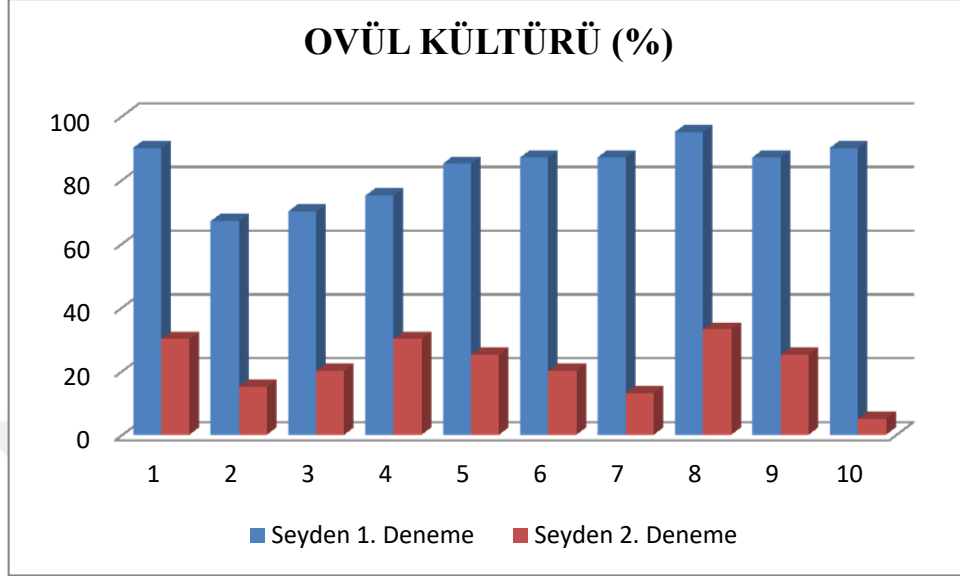
Şekil 4.6. Shakila F₁ çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi ovül gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması

Shakila F₁ çeşidi için kallus gelişimi ise birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi karşılaştırıldığında (Şekil 4.7), birinci denemede en yüksek kallus oluşumu 9 nolu (160 μ M Spd+160 μ M Put) ortamda % 47 gelişim oranı ile genotiplerin içinde ve tüm denemelerde kallus gelişimi durumunda en başarılı sonuç olarak gözlenmiştir. Diğer ortamlarda ise çok düşük oranlarda kallus oluşumuna rastlanmış ya da hiç kallus oluşumuna rastlanmamıştır. İkinci ovül kültürü denemesinde en yüksek kallus gelişimi 7 nolu 40 μ M Spd+40 μ M Put ortamında gözlenmiştir. Genel olarak Shakila F₁ çeşidinde denemenin kurulumundan itibaren kallus oluşum oranları ikinci denemede başarılı bulunmuştur.



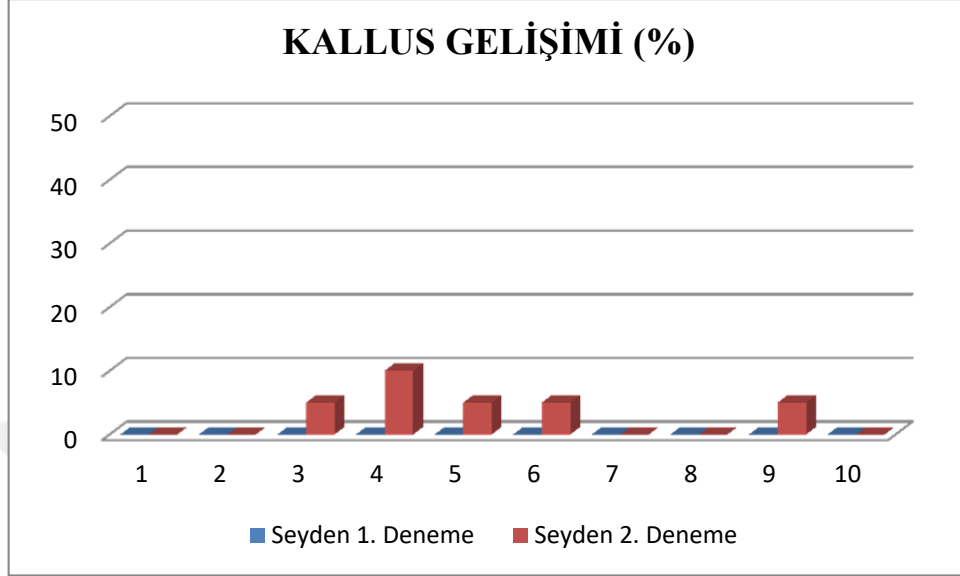
Şekil 4. 7. Shakila F₁ çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi kallus gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması

Seyden F₁ çeşidi için kurulan birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi bulguları karşılaştırıldığında (Şekil 4.8), her iki denemede en yüksek ovül gelişimi 8 nolu (80 μ M Spd+80 μ M Put) ortamda gözlenmiştir. Seyden F₁ çeşidi için ovül gelişimi bulgularında en iyi gelişim oranlarına birinci denemede rastlanmış, en yüksek ovül gelişim oranının ise % 95 olduğu görülmüştür. İkinci ovül kültürü denemesinde en yüksek ovül gelişim oranı % 33 ile 8 nolu Put ve Spd'nin birlikte kullanıldığı ortamda bulunmuştur.



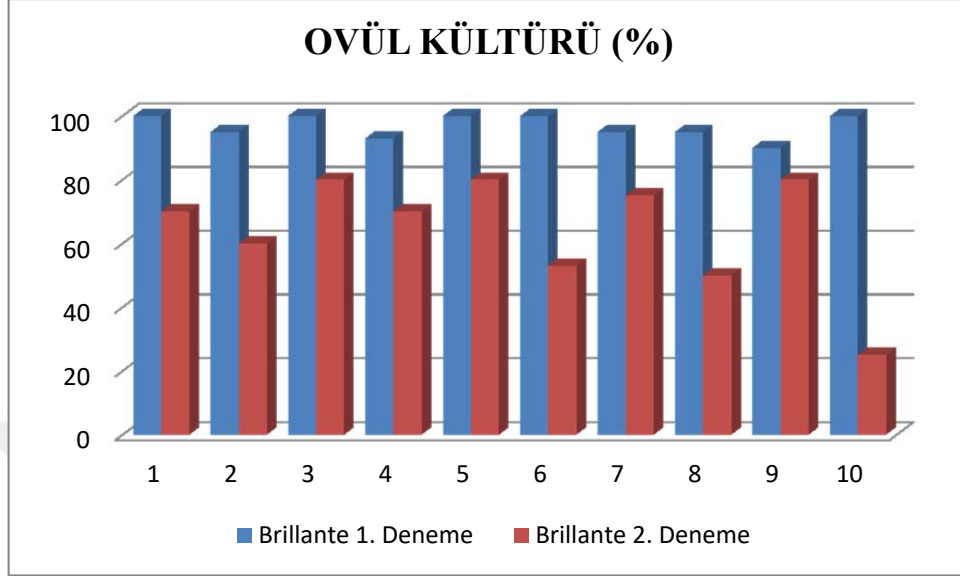
Şekil 4.8. Seyden F₁ çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi ovül gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması

Seyden F₁ çeşidi için kallus gelişimi birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi karşılaştırıldığında (Şekil 4.9), birinci ovül kültürü denemesinin kallus gelişim durumuna bakıldığında 10 ortam kombinasyonunun hiçbirinde gelişme gözlenmemiştir. İkinci denemede ise bazı ortamlarda kallus gelişimine rastlanılmış, en yüksek kallus gelişim oranı 40 μ M Put içeren 4 nolu ortamda % 10 oranı ile tespit edilmiştir. 3 nolu (160 μ M spermidine), 4 nolu (40 μ M Put), 5 nolu (80 μ M Put) ve 6 nolu (160 μ M Put) ortamlarda az da olsa gelişime rastlanmıştır.



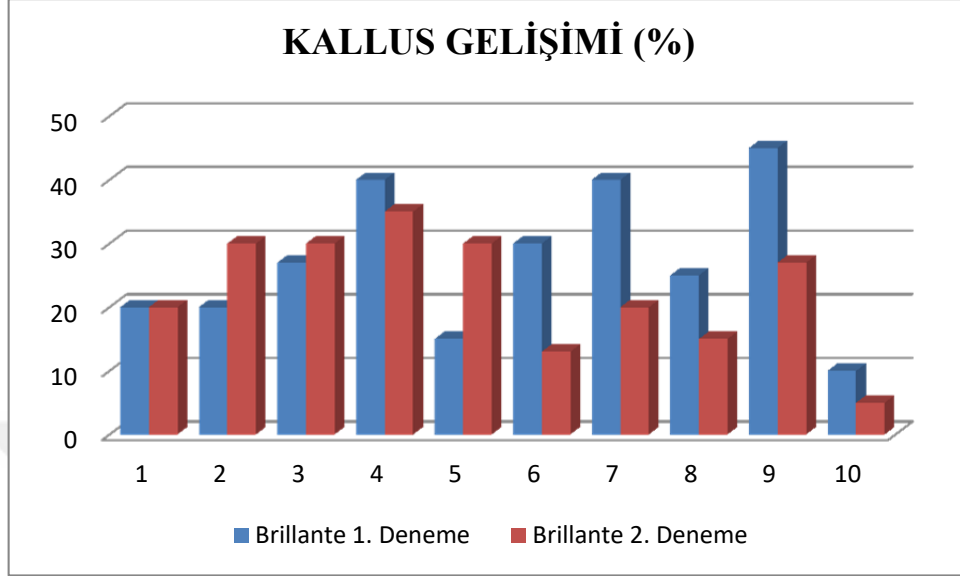
Şekil 4.9. Seyden F1 çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi kallus gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması

Brillante F1 çeşidi için kurulan birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi ovül gelişim durumları karşılaştırıldığında (Şekil 4.10), denemede yer alan tüm çeşitler içerisinde ovül gelişim oranları incelendiğinde en yüksek oranlara sahip çeşit olduğu görülmüştür. Her iki denemeye bakıldığında en yüksek ovül gelişim oranlarına 80 μ M Put içeren 5 nolu ortamda rastlanılmıştır. Bu ortamda birinci denemede ovül gelişim oranı % 100 iken, ikinci denemede % 80 olarak bulunmuştur.



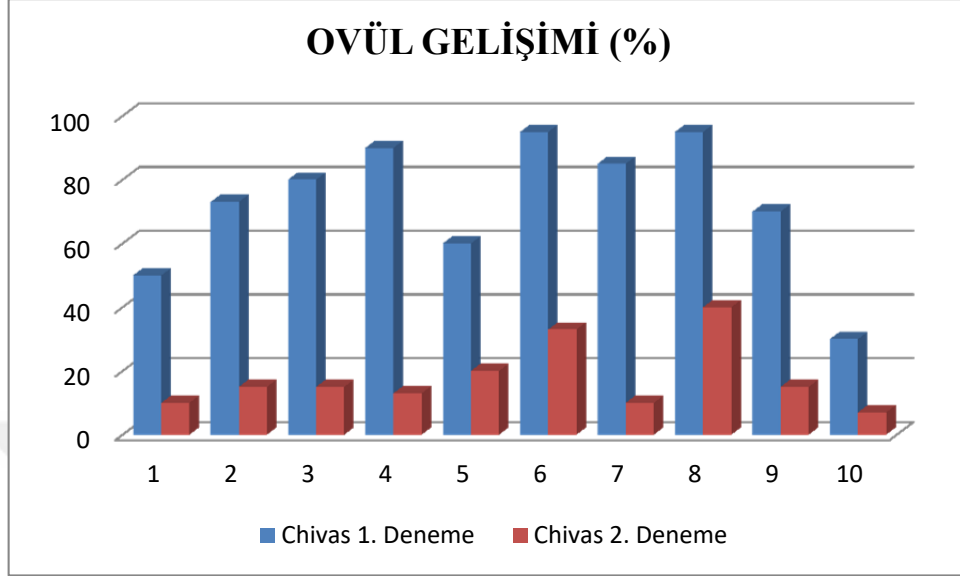
Şekil 4.10. Brillante F₁ çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi ovül gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması

Brillante F₁ çeşidi için kallus gelişimi ise birinci ve ikinci kallus kültürü denemesi karşılaştırıldığında (Şekil 4.11), birinci denemede en yüksek kallus gelişimi % 45 oranıyla 9 nolu (160 µM Spd+160 µM Put) ortamda görülmüş, ikinci denemede ise en yüksek oran 4 nolu (40 µM Put) ortamda % 35 oranında gözlenmiştir. Genel olarak Brillante F₁ çeşidi incelendiğinde denemenin kurulumundan itibaren ovül ve kallus gelişim oranı olarak bulguların başarılı olduğu gözlenmiş olup, her iki deneme için de önemi anlaşılmıştır.



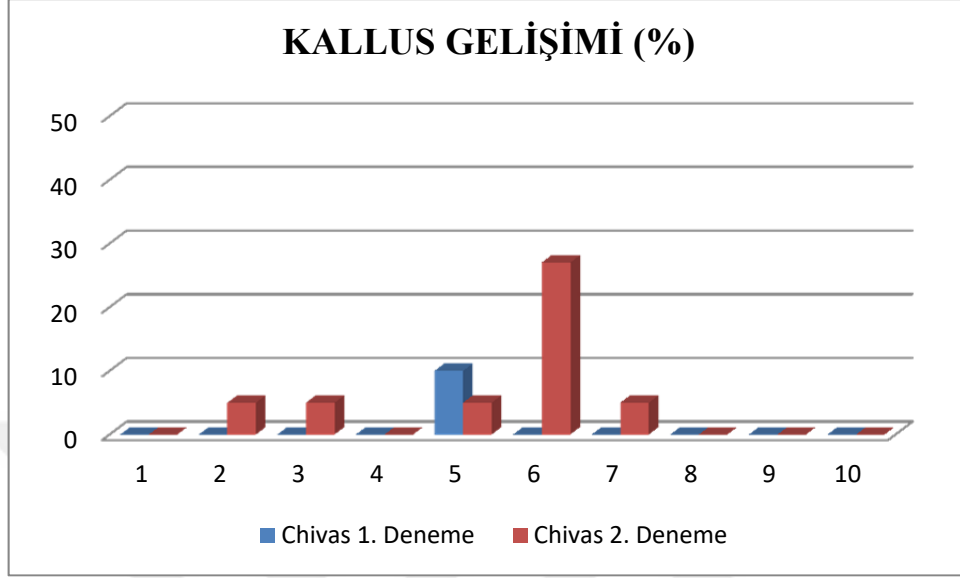
Şekil 4.11. Brillante F1 çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi kallus gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması

Chivas F1 çeşidi için ovül gelişimi birinci ve ikinci ovül kültürü denemeleri karşılaştırıldığında (Şekil 4.12), her iki denemede en yüksek ovül gelişimi spermidine ve putrescine kombinasyonunun birlikte bulunduğu 80 μ M Spd+80 μ M Put içeren 8 nolu ortamda olduğu tespit edilmiştir. Birinci denemede en yüksek gelişim oranı % 95, ikinci denemede ise % 40 olarak bulunmuştur. İkinci denemede ovül gelişimleri incelendiğinde tüm genotipler içinde bu çeşit zayıf kalmıştır. Genel olarak Chivas F1 çeşidinde denemenin kurulumundan itibaren ovül gelişim oranları birinci denemede başarılı bulunmuştur.



Şekil 4.12. Chivas F1 çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi ovül gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması

Chivas F1 çeşidi için kallus gelişimleri birinci ve ikinci ovül kültürü denemelerde karşılaştırıldığında (Şekil 4.13), birinci denemede sadece 80 μ M Put içeren 5 nolu ortamda % 10 oranında görülmüş, diğer ortam kombinasyonlarında kallus oluşumuna rastlanılmamıştır. İkinci denemede ise en yüksek kallus gelişimi % 27 oranıyla 160 μ M Put içeren 6 nolu ortamda gözlenmiştir. 2 nolu (80 μ M Spd), 3 nolu (160 μ M Spd), 5 nolu (80 μ M Put) ve 7 nolu (40 μ M Spd+40 μ M Put) ortamlarda % 5 oranıyla kallus gelişimi daha az görülmüş olup, diğer ortamlarda kallus oluşumuna rastlanılmamıştır. Kallus oluşumu için Chivas F1 çeşidi tüm çeşitlere göre gelişim oranları olarak zayıf kalmıştır.



Şekil 4.13. Chivas F1 çeşidinde birinci ve ikinci ovül kültürü denemesi kallus gelişimi sonuçlarının karşılaştırılması

4.2. Birinci ve İkinci Deneme Ovül Kültürü Bulgularının Tartışılması

Yazlık kabaklar (*Cucurbita pepo* L.) ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde androgenesis, ginogenesis ve ışınlanmış polen yöntemleri kullanarak haploid bitki eldesi hakkında az sayıda çalışma bulunmaktadır (Chambonnet ve Dumas de Vault, 1986; Kwack ve Fujieda, 1988; Gémesné ve Venczel, 1996; Metwally ve ark., 1998; Kurtar, 1999; Gémesné ve ark., 2002). Son yıllarda ışınlanmış polen tekniği uygulamaları tercih edilmekle birlikte, bu yöntemde dışarıdan bir ışın kaynağı ihtiyacı duyulması sebebiyle ginogenesis çalışmalarının da alternatif yöntem olarak geliştirilmesi önemli görülmektedir.

Kabakgillerde yapılan ovül ovaryum çalışmalarında oksin (2,4-D, NAA, IAA ve benzeri) ve sitokinin (BAP, KIN, ve benzeri) bitki büyüme düzenleyicileri kullanılmaktadır. Önceki çalışmalar göz önüne alındığında özellikle kabakta yapılan çalışmalarda genellikle embriyo uyartımı için 2,4-D (Metwally ve ark., 1998; Shalaby, 2007; Rakha ve ark., 2012; Kurtar ve ark., 2016; Kurtar ve ark., 2018) tercih edilmiştir. 2,4-D'nin bulunduğu tüm ortamlarda başarılı ovül gelişim bulguları elde edilirken, kallus oluşturan bazı gelişme olan ovüllerden bitkiye

dönüşüm sağlanamamış ve bu başarının elde edilebilmesi için bu ortam kombinasyonları ile bitki büyüme düzenleyicilerinin birlikte kullanılması düşünülmektedir.

Metwally ve ark. (1998) kabakta haploid bitki elde etmek amacıyla yaptıkları çalışmada ginogenesis aracılığıyla ovül kültürü tekniği için verimliliği arttırmayı hedeflemişlerdir. Bu hedeften yola çıkarak antezis aşamasından 1 gün önce topladıkları ovaryumlardan izole ettikleri ovülleri kültüre alarak, farklı dozda 2,4-D içeren ortam kombinasyonlarından 1 ya da 5 mg/l 2,4-D içeren MS ortamının en başarılı olduğunu ve sitolojik gözlemler sonucunda elde edilen bitkilerin her 3'ünden 1'inin haploid, diğer bitkilerin ise diploid olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan benzer bir çalışmada kabakta anter ve ovül kültürü ile Rakha ve ark. (2012), ovül kültürü tekniğini kullandıkları farklı ortam kombinasyonlarında 1 ve 5 mg/l 2,4-D içeriğinin etkilerini incelemişler ve besi ortamında 5 mg/l 2,4-D içeriğine sahip ortamlarda yüksek oranda rejenere bitkilerin oluştuğunun sonucuna varmışlardır. Bizim yaptığımız bu tez çalışmasında Put, Spd ve Put+Spd içeren ortam kombinasyonlarında 2,4-D'nin etkisini incelemek amacıyla besi ortamlarında 2,4-D 5 mg/l olarak kullanılmıştır. 2,4-D tüm ortamlarda 5 mg/l olarak sabit tutularak kontrol ortamında da kullanılmıştır. Yapılan her iki denemede de Spermidine ve putrescine ise diğer ortamlarda ayrı ayrı ve birlikte kullanılarak haploid bitki elde etme üzerine etkileri araştırılmıştır. Ovül gelişimi için, birinci denemeye ait bulgular 2,4-D'nin sabit tutulduğu kontrol grubu ile değerlendirildiğinde Elida F₁ çeşidinde 9 nolu (160 µM Put+160 µM Spd) ortam kombinasyonunda ovül gelişimi % 55 oranı ile kontrol grubu ovül gelişiminden daha düşük oranda bulunmuştur. Aynı şekilde Roni F₁ çeşidi 9 nolu ortamda, Brillante F₁ çeşidi 9 nolu ortamda ve Seyden F₁ çeşidi 2 nolu (80 µM Spd) ortamda bulunan verilere bakıldığında kontrol grubu ovül gelişim verilerinden oldukça iyi sonuçlar ortaya çıktığı görülmüştür. İkinci ovül kültürüne ait ovül gelişim verileri kontrol grubu ile kıyaslandığında tüm çeşitlerde Put ve Spd kombinasyonlarının bulunduğu ortamlarda ovül gelişim verileri başarılı bulunmuştur.

Kurtar ve ark. (2016) kışlık kabak ve balkabağında yaptıkları anter kültürü çalışmasında farklı çiçeklenme dönemlerinde aldıkları anterleri, 2,4-D, NAA, BAP ve Kinetinin farklı kombinasyonları ile MS besi ortam içeriğinde kültüre alarak 2.0 mg/l ve 5.0 mg/l BAP+0.05 mg/l NAA kombinasyonunda en iyi sonuçları aldıklarını rapor etmişlerdir. Çalışma sonucunda toplam 74 bitki elde ettiklerini ve bu bitkilerde ploidi analizleri ile 35 adet bitkinin haploid diğerlerinin ise diploid olduğunu bildirmişlerdir. Kurtar ve ark. (2018) yaptıkları başka bir çalışmada ısıtılmış polen ve anter kültürü tekniklerine alternatif olarak ovül kültürü tekniğini kullanmışlardır. Farklı çiçeklenme tarihlerinde alınan ovüller 2,4-D, BAP, TDZ ve NAA eklenen ortamlarda en yüksek başarı oranını 4.0 mg/l BAP+0.05 mg/l NAA+0.1 mg TDZ içeren ortamdan elde etmişlerdir. Toplamda geliştirdikleri 122 bitkiden 70 tanesinin haploid, 46'sının diploid, diğer bitkilerin ise miksploid olduklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda antezis aşamasından 1 gün öncesinde alınan ovüllerde renk ve boyut değişimi ile birlikte ovül ve kallus gelişimi gözlenmiş, fakat bu kalluslarda embriyo gelişmediği ve bitkiye dönüşümün gerçekleşmediği gözlenmiştir. Kurtar ve ark. (2016)'nın yaptıkları çalışmalar ile elde ettiğimiz veriler karşılaştırıldığında 2,4-D'nin tek başına ovül gelişmesi üzerinde etkisi olmadığı görülmüştür.

Heiser (1973) yaptığı bir çalışmada poliaminlerin; hücre bölünmesi ve uzaması, kök büyümesi, çiçek ve meyve gelişimi, replikasyon, transkripsiyon, translasyon ve programlanmış hücre ölümü gibi birçok hücresel işlevde etkili olduğunu düşündükleri için birçok araştırma konusunda da yer alabileceğini düşünmüştür. Hıyarda yapmış oldukları ovaryum ginogenesis çalışmasında Wei ve ark. (2010) önemli poliamin içerikleri (Put, Spd ve Spm) ile büyümeyi düzenleyicileri (IAA, ZR, GA₃ ve ABA) ginogenesis yanıt veren çeşitler üzerinde uygulayarak birbirleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri veriler ile büyümeyi düzenleyiciler açısından ovaryumda doğrudan bir ilişki bulamadıklarını bildirmişlerdir. Ginogenesisin yüksek olarak görüldüğü çeşitlerde yüksek poliamin içeriği, ginogenesisin düşük olarak yanıt verdiği çeşitler ve Spd+Spm kombinasyonuna kıyasla Put içerikli olanlarda düşük poliamin içeriğine sahip olduklarını açıklamışlardır. Yapılan poliamin içerikli çalışmada Spd

içerikli olanlarda kültürden hemen önce en büyük poliamin olduğunu, Spd+Spm oranının 6 günlük kültürden sonra düştüğünü, en fazla poliamin oranına ise Put içeriğinin sahip olduğunu kaydetmişlerdir.

Erol (2018) ovül kültürü çalışmasında kullandığı beş farklı hıyar çeşidi için, kullandığı tüm ortamlar ve kontrol grubu içerisinde 0.04 mg/l TDZ değerini sabit tutarak 40, 80, 120, 160 ve 200 μ M dozları ile ayrı ayrı ve birlikte kullandığı putrescine ve spermidine kombinasyonlarından elde ettiği bulgularında çeşitlere göre farklı içerikteki ortam kombinasyonlarında başarılı ovül gelişim sonuçlarına ulaşmış, fakat ovüllerden bitkiye dönüşümün olmadığını bildirmiştir. Tez çalışmasında elde ettiğimiz sonuçlar Erol (2018)'un hıyarda uyguladığı ovül kültürü çalışması ile kıyaslandığında, ovül gelişimlerinin farklı genotiplerde ve farklı poliamin içerikli ortamlarda başarılı verilerine ulaşılmış ve değişik ovül gelişim oranları elde edilmiştir. Poliamin içerikli ortamlarda kontrol grubuna göre daha iyi sonuçlara ulaşılmış, Put ve Put+Spd içerikli ortamlarda gelişen ovüllerde kallus oluşumu görülmüştür. Poliaminlerin ovül gelişimi üzerine etkisi açısından çalışmamızla benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Yıldız (2019), 16 farklı ortam kombinasyonu ile bazı karpuz genetik kaynaklarında uyguladığı ovül kültürü çalışmasında farklı dozlarda 2,4-D ve TDZ ile putrescine ve spermidinin 500 μ M dozunu ayrı ayrı ve birlikte kullanarak farklı zamanlarda iki deneme kurmuştur. Bu denemelerde kullandığı karpuz genetik kaynaklarında farklı oranlarda ovül gelişimi ve kallus oluşumunu gözlemlediğini bildirmiştir. Kar 37 ve Kar 147 genotiplerinde, 2.5 mg/l 2,4-D+1 mg/l TDZ+500 μ M Spd, 2.5 mg/l 2,4-D+1 mg/l TDZ+500 μ M Put ile 5 mg/l 2,4-D+0.5 mg/l TDZ bulunan ortamlarda embriyo oluşumu ve bitkicik gelişimini sağlamış, ancak bunlardan bitkiye dönüşümün gerçekleşmediğini bildirmiştir. Kabakta ovül kültürü çalışma sonuçlarımızda 5 mg/l 2,4-D'nin ve spermidine ile putrescine'nin kullanıldığı ortamlarda farklı zamanlarda kurulan iki denemede birinci denemede ovül gelişim sonuçları ikinci denemeye göre, kallus gelişimi için ise ikinci deneme birinci denemeye göre daha başarılı bulunmuştur. Kallus gelişim oranlarına bakıldığında 40 μ M ve 160 μ M dozundaki spermidine ve putrescine ortamlarında en iyi sonuçlar elde edilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kabak ülkemizde hem örtü altı, hem de açık alanlarda yetiştiriciliği yapılmakta olan bir sebze türüdür. Dünyada ticari olarak yetiştiriciliği yapılan kabak bitkileri ıslah çalışmaları için önem arz etmektedir. Saf hatlar elde etmek için yapılan ıslah çalışmaları oldukça uzun zaman alan çalışmalardır. Son zamanlarda sıkça çalışmalarda yer alan haploidizasyon teknikleri ile daha kısa zamanda daha az iş yükü ve daha az maliyet ile başarılı sonuçlar alındığı verilerle kaydedilmiştir. Haploidi tekniklerinin avantajlarından faydalanmak amacıyla bu teknikler kabak türlerinde de ıslah çalışmalarında kullanılmaktadır.

Yazlık kabaklarda az sayıda haploidi çalışmalarının yapıldığı literatürden izlenmiştir. Genel olarak bu sebze türünde düşük başarı oranının olması, halen ıslah çalışmalarında rutin olarak kullanımını sınırlandırmaktadır. Mevcut durum göz önüne alındığında yapılacak her çalışma bu yönetime katkı sağlayacağı için önemli görülmektedir.

Tez kapsamında kabakta ovül kültüründe spermidine ve putrescine uygulamalarının haploid bitki eldesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada Elida F₁, Roni F₁, Shakila F₁, Seyden F₁, Brilante F₁ ve Chivas F₁ olmak üzere 6 çeşit denemeye alınmış ve sonuçlar maddeler halinde verilmiştir.

- Deneme iki farklı gelişme döneminde kurulmuştur. Çalışmalar arasında 20 günlük fark bulunmaktadır. Çalışma sonuçlarımız incelendiğinde birinci dönem kurulan denemede daha yüksek ovül gelişim yüzdeleri, ikinci dönem kurulan denemede ise daha yüksek kallus oluşumu görülmüştür. Bu da ovaryumların toplandığı dönemde çevre koşullarının (özellikle sıcaklık) ovül kültürü başarısını önemli düzeyde etkilediğini ortaya koymuştur.
- Çalışmamızda genotip etkisi çok önemli bulunmuştur. Denemede yer alan çeşitlerden Brilante F₁'in deneme koşullarında en başarılı olduğu, Chivas F₁'in ise en düşük ovül ve kallus gelişimine sebep olduğu tespit edilmiştir.

- Ovül gelişim sonuçları incelendiğinde Elida F₁ çeşidinde 9 nolu (160 µM Put+160 µM Spd) ortam kombinasyonunda ovül gelişimi % 55 oran ile kontrol grubu ovül gelişiminden daha düşük oranda bulunmuştur. Aynı şekilde Roni F₁ ve Brillante F₁ çeşitleri 9 nolu ortamda, Seyden F₁ çeşidi 2 nolu (80 µM Spd) ortamda, kontrol grubu ovül gelişim verilerinden daha iyi sonuçlar vermişlerdir. İkinci ovül kültürüne ait ovül gelişim verileri kontrol grubu ile kıyaslandığında tüm çeşitlerde Put ve Spd kombinasyonlarının bulunduğu ortamlarda ovül gelişim verileri başarılı bulunmuştur.
- Kallus gelişim sonuçları incelendiğinde ise ikinci deneme sonuçları, birinci deneme sonuçları ile karşılaştırıldığında daha başarılı bulunmuştur. Birinci deneme bulguları incelendiğinde en yüksek sonuçlar % 47 oranı ile Shakila F₁ genotipinde ve % 45 oranı ile Brillante F₁ genotipinde 160 µM Spd+160µM Put kombinasyonlarının yer aldığı ortamlardan elde edilmiştir. İkinci deneme sonuçlarında en başarılı kallus gelişim oranı % 35 ile Brillante F₁ genotipinde gözlenmiş ve genel olarak 40 µM Put içeren ortamlarda en iyi bulgular elde edilmiştir. Tüm genotip sonuçlarına bakıldığında Spd ve Put içeren ortam sonuçları, kontrol grubuna göre daha başarılı bulunmuştur.
- Kabakgillerde yapılan ovül-ovaryum çalışmalarında oksin (2,4-D, NAA, IAA ve benzeri) ve sitokinin (BAP, KIN, ve benzeri) bitki büyüme düzenleyicileri kullanılmaktadır. Önceki çalışmalar göz önüne alındığında özellikle kabakta yapılan çalışmalarda genellikle embriyo uyartımı için 2,4-D (Metwally ve ark., 1998; Shalaby, 2007; Rakha ve ark., 2012; Kurtar ve ark., 2016; Kurtar ve ark., 2018) tercih edilmiştir. Bulgularımız incelendiğinde Put ve Spd+Put içeren ortamlarımızda daha yüksek oranda başarı elde edilmiştir.

- Ovül-ovaryum kültürü çalışmalarında poliaminlerin kullanılması ile başarılı sonuçlar elde etmenin önemi anlaşılmış, fakat haploid bitkilerin 2,4-D'nin ve bazı büyümeyi düzenleyicilerinin kültür ortamı bileşenlerinde yer alması ile elde edilebileceği önerilmiştir. Ayrıca kabakta ovül-ovaryum başarısının düşük olması ile ilgili buna yönelik çalışmaların geliştirilerek haploid bitki elde edilebilmesine katkıda bulunacak araştırmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.
- Tez çalışması ve bu konu hakkında daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde elde edilen verilerin, kabakta ve diğer kabakgil türlerinde ginogenesis çalışmalarında haploid bitki eldesi için poliaminlerin gelecekte daha çok çalışmalarda yer alacağı ve bu çalışmanın diğer çalışmalara önemli bir kaynak olacağı düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Abak, K., 1993. Biber Islahında Anter Kültüründen Yararlanma. Bitki Islahı Simp. Bildirileri, Tübitak Toag Yay., 59-66.
- Anonim, 2018a. <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon>, (Erişim Tarihi: 25.12.2018).
- Anonim, 2018b. <http://www.altintohumculuk.com.tr/portfolioitem/kabak/>, (Erişim Tarihi: 22.01.2018).
- Anonim, 2018c. <http://www.altintohumculuk.com.tr/portfolio-item/kabak/>, (Erişim Tarihi: 22.01.2018).
- Anonim, 2018d. <http://www.durutohum.com/pages/kabak.html>, (Erişim Tarihi: 22.01.2018).
- Anonim, 2018e. <http://manier.com.tr/urun-detay/seyden-fl>, (Erişim Tarihi: 22.01.2018).
- Anonim, 2018f. http://www.tohumturk.com/urun/1327/brillante_fl_siyah_kabak_tohumu.aspx, (Erişim Tarihi: 22.01.2018)
- Anonim, 2018g. <http://www.agroplace.gr/product/kolokythi-chivas-fl-fak-1000sp/>, (Erişim Tarihi: 22.01.2018)
- Aras, V., Denli, N., Keleş, D., Nacar, Ç., 2011. Kabak (*Cucurbita pepo* L.) Hatlarının Morfolojik Karakterizasyonu ve Akrabalık Derecelerinin Belirlenmesi. Alatarım, 10 (1): 13-18.
- Bagni, N., Pistocchi, R., 1992. Polyamine Metabolism and Compartmentation in Plant Cells. In: "Nitrogen Metabolism of Plants" (K Mengel, DJ Pilbeam eds), Clarendon Press, Oxford, pp. 229-248.
- Bajaj, S., Rajam, M. V., 1996. Polyamine Accumulation and Near Loss of Morphogenesis in Long-Term Callus Cultures of Rice (Restoration of Plant Regeneration by Manipulation of Cellular Polyamine Levels). Plant Physiol., 112: 1343-1348.

- Beharav, A., Cohen, Y., 1995. Effect of Kinetin and GA₃ on *In Vitro* Ovule Embryo Culture of *Cucumis melo* L. Plant Growth Regul, 16 (3): 267–269.
- Bilge, E., 1982. Genetik. İstanbul Üniversitesi Yayınları, No: 2886, Fen Fak. Yay. No: 163-316 s.
- Bohanec, B., 2009. "Doubled Haploids Via Gynogenesis" in Advances in Haploid Production in Higher Plants, eds A. Touraev, B. P. Forster and S. M. Jain (Dordrecht : Springer Science, Business Media B. V.), 35-46.
- Büyüksulu, N., 2014. Besinlerin Poliamin İçerikleri. Müsbed, 4 (2): 105-110.
- Chadha, M. L., Lal, T., 1993. Improvement of Cucurbits. Advances in Horticulture Res., 5: 137-151.
- Chambonnet, D., Dumas de Vaulx, R., 1985. Obtention of Embryos and Plants from *in vitro* Culture of Unfertilized Ovules of *Cucurbita pepo*. Cucurbit Genetic. Coop. Rep., 8, 66.
- Chen, J. F., Cui, L., Malik, A. A., Mbira, K. G., 2011. *In vitro* Haploid and Diploid Production Via Unfertilized Ovule Culture. Plant Cell Tiss. Org., 104: 311-319.
- Chi, G. L., Lin, W. S., Lee, J. E., Pua, E. C., 1994. Role of Polyamines on de Novo Shoot Morphogenesis from Cotyledons of *Brassica campestris* spp. *pekinensis* (Lour) Olsson *In Vitro*. Plant Cell Rep., 13: 323-329.
- Dong, Y. Q., Zhao, W. X., Li, X. H., Liu, X. C., Gao, N. N., Huang, J. H., Tang, Z. H., 2016. Androgenesis, Gynogenesis and Parthenogenesis Haploids in Cucurbit Species, Plant Cell Reports, 35 (10): 1991-2019.
- Emiroğlu, Ü., 1980. Türk Tütün Çeşitlerinde Anter Kültürü. Bitki Islahı Sempozyumu (22-25/5/1979). Ege Bölge Zirai Araştırma Ens. Yay. No: 17/41: 12-18.
- Emiroğlu, Ü., 1982. Haploidi ve Bitki Islahındaki Önemi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 450, İzmir, 38 s.

- Emiroğlu, Ü., Gürel, A., 1993. Bitki Islahında Modern Biyoteknoloji. Short Course, The Biotechnology Revaluation. February 8-12, 1993. Organized by Ege Univ. Biotech. Cent and Fac. of Agr. Dep. of Crop Sci., İzmir, 103-110.
- Erol, M. H., 2018. Hıyarlarda Ovül-Ovaryum Kültürleri ve Işınlanmış Polen Tekniği ile Spermidin ve Putresin Uygulamalarının Haploid Embriyo Uyarımına Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 99 s.
- FAOSTAT, 2017. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>, (Erişim Tarihi: 22.01.2018)
- Ficcadenti, N., Sestili, S., Annibali, S., Marco, M. D., Schiavi, M., 1999. *In vitro* Gynogenesis to Induce Haploid Plants in Melon (*Cucumis melo* L.). J. Genet. Breed., 53 (3): 255-257.
- Gémes Juha'Sz, J. A., Venczel, G., Balogh, P., 1997. Haploid Plant Induction in Zucchini (*Cucurbita pepo* L. convar. Giromontiina Duch) and in Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Lines Through *in vitro* Gynogenesis. Acta Horticulturae, 447: 623-625.
- Gémes Juha'Sz, J. A., Balogh, P., Ferenczy, A., Kristo'f, Z., 2002. Effect of Optimal Stage of Female Gametophyte and Heat Treatment on *in vitro* Gynogenesis Induction in Cucumber (*Cucumis sativus* L.). Plant Cell Rep., 21 (2): 105-111.
- Gémésné, J. A., Venczel, G., 1996. *In vitro* Gynogenesis Induction in Zucchini (*Cucurbita pepo* L. convar. giromontiina Duch) Lines. Proceedings of the VI. Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding, 200-201.
- Halperin, W., Wetherell, D. F., 1964. Adventive Embryony in Tissue Cultures of the Wild Carrot, *Daucus carota*. American Journal of Botany, 51 (3): 274-283.

- Hamasaki-Katagiri, N., Katagiri, Y., Tabor, C. W., Tabor, H., 1998. Spermine is not Essential of Growth of *Saccharomyces cerevisiae*: Identification of the *SPE4* Gene (spermine synthase) and Characterization of a *SPE4* Deletion Mutant. *Gene*, 210: 195-201.
- Heiser, C. B., 1973. Seed to Civilization: The Story of Man's Food. W. H. Freeman and Company, San Francisco, 243 p.
- Hussain, J., Khan, F. U., Ullah, R., Muhammed, Z., Rehman, N. U., Shinwari, Z. K., Khan, I. U., Zohaib, M., Imad-ud-din, Hussain, A. M., 2011. Nutrient Evaluation and Elemental Analysis of Four Selected Medicinal Plants of Khyber Pakhtoon Khwa, Pakistan. *Pak. J. Bot.*, 43 (1): 427-434.
- Imai, A., Matsumaya, T., Hanzawa, Y., Akiyama, T., Tamaoki, M., Saji, H., Shirano, Y., Kato, T., Hayashi, H., Shibata, D., Tabata, S., Komeda, Y., Takahashi, T., 2004. Spermidine Synthase Genes are Essential for Survival of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 135: 1565-1573.
- Jeffrey, C., 1990. Systematics of the *Cucurbitaceae*. In: Bates, D. M., Tropical East Africa, Vol. 4. Whitefriars Press Ltd., London and Tonbridge, 157 pp.
- Kevers, C., Le Gal, N., Monteiro, M., Dommes, J., Gaspar, T., 2000. Somatic Embryogenesis of *Panax Ginseng* in Liquid Cultures: A Role for Polyamines and Their Metabolic Pathways. *Plant Growth Regul.*, 31: 209-214.
- Klug, S. W., Cummings, R. M., 2002. Genetik Kavramlar (ed: Öner, C.). Palme Yayıncılık, Ankara (Çeviri).
- Kurtar, E. S., 1999. Kabakta (*Cucurbita pepo* L.) Haploid Embriyo Uyarımı ve Bitki Oluşturma Üzerine Araştırmalar. Ç. Ü. Fen Bil. Ens. Bahçe Bit. Anabilim Dalı. Doktora Tezi. 203 s.
- Kurtar, E. S., Balkaya, A., 2016. Kestane Kabağı (*Cucurbita maxima* L.) ve Bal Kabağı (*Cucurbita moschata* L.)'nda Işınlanmış Polen Tekniği ile Elde Edilmiş Küçük Yapılı Embriyoların Bitkiye Dönüşümü Üzerine Besi Ortamlarının Etkisi. 7. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Bildirileri - Cilt 2: Sebzeçilik - Bağcılık - Süs Bitkileri, 175-179.

- Kurtar, E. S., Balkaya, A., Ozer, M. O., 2018. Production of Callus Mediated Gynogenic Haploids in Winter Squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and Pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.). Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 54 (1): 9-16.
- Kusano, T., Berberich, C., Tateda, C., Takahashi, Y., 2008. Polyamines: Essential Factors for Growth and Survival. An International Journal of Plant Biology, 228 (3): 367-381.
- Kwack, N. S., Fujieda, K., 1988. Somatic Embryogenesis in Cultured Unfertilized Ovules of *Cucurbita moschata*. J. Japan. Soc. Hort. Sci., 57 (1): 34-42.
- Lower, R. L., Edwards, M. D., 1986. Cucumber Breeding. In: Breeding Vegetable Crops (ed: Basset, M. J.). AVI Publishing Comp. Inc. Connecticut, 173-207.
- Metwally, E. I., Moustafa, S. A., El-Sawy, B. I., Haroun, S. A., Shalaby, T. A., 1998. Production of Haploid Plants from *in vitro* Culture of Unpollinated Ovules of *Cucurbita pepo*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 52 (3): 117-121.
- Min, Z.Y., Li, H., Zou, T., Tong, L., Cheng, J., Sun, X. W., 2016. Studies of *in vitro* Culture and Plant Regeneration of Unfertilized Ovary of Pumpkin. Chin. Bull. Bot., 51 (1): 74-80.
- Paris, H. S., 2001. Characterization of the *Cucurbita pepo* Collection at the Newe Ya'ar Research Center, Israel. PGR Newsletter, FAO-Bioversity. Issue No. 126: 41-45.
- Peirce, L. C., 1987. Vegetable, Characteristics, Production and Marketing, John Willy and Sons. Inc. Published Simultaneously in Canada, 18: 333-335
- Pierik, R. L. M., 1989. *In vitro* Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publ., Dordrecht, 344 p.

- Pochard, E., Dumas de Vaulx, R., 1979. Haploid Parthenogenesis in *Capsicum annuum* L. Reprinted from the Biology and Taxonomy of the *Solanaceae* (eds: Hawkins, G., Lester, Shelding, A. D.). Linnean Society Symp., Series No: 7, 455-472.
- Rakha, M. T., Metwally, E. I., Moustafa, S. A., Etman, A. A., Dewir, Y. H., 2012. Evaluation of Regenerated Strains from Six '*Cucurbita*' Interspecific Hybrids Obtained Through Anther and Ovule '*in vitro*' Cultures. Australian Journal of Crop Science, 6 (1): 23-30.
- Roberts, S. C., Jiang, Y. Q., Jardim, A., Carter, N. S., Heby, O., Ullman, B., 2001. Genetic Analysis of Spermidine Synthase from *Leishmania donovani*. Mol. Biochem. Parasitol., 115: 217-226.
- Robinson, R. W., Decker-Walters, D. S., 1997. Cucurbits In Crop Production Science in Horticultures Series. CAB International Departmant of Horticultural Science. Cornell University and D. S. Decker-Walters, The Cucurbit Network U.S.A, 221.
- Shail, J. W., Robinson, R. W., 1987. Anther and Ovule Culture of *Cucurbita*. Cucurbits Genetics Cooperative Rep., 10, 92.
- Shalaby, T. A., 2007. Factors Affecting Haploid Induction Through *in vitro* Gynogenesis in Summer Squash (*Cucurbita pepo* L.). Scientia Horticulturae, 115 (1): 1-6.
- Smith, T. A., 1970. Putrescine, Spermidine and Spermine in Higher Plants. Phytochemistry, 9 (7): 1479-1486.
- Solmaz, İ., Sarı, N., Caymaz, G., Gürsoy, I., Göçmen, M., Gökseven, A., Aydın, İ., 2011. Karpuzda Haploid Embriyo Uyartımı ve Bitki Elde Edilmesi Üzerine Farklı Çeşit ve *in vitro* Kültür Ortamlarının Etkisi. Türkiye VI. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 04-08 Ekim 2011, Şanlıurfa (Bağcılık, Sebzecilik ve Süs Bitkileri), Bahçe Bilimi Yayın No: 2, 445-450.

- Sun, S. R., Zhai, Q. H., Hu, J. B., Chen, J. F., Zhang, P., 2009. Effects of Several Physiological Factors on Embryo Formation in Unpollinated Ovary Culture of Pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch. ex Poiret). Plant Physiol. Commun., 45 (10): 977-980.
- Suprunova, T., Shmykova, N., 2008. *In vitro* Induction of Haploid Plants in Unpollinated Ovules, Anther and Microspore Culture of *Cucumis sativus*. Proceedings of the IXth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae. Avignon, France, 371-374.
- Şehirali, S., Özgen, M., 1988. Bitki Islahı. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yay. No: 1059, 261 s.
- Thorpe, T. A., Stasolla, C., 2001. Somatic Embryogenesis. In Current trends in the Embryology of Angiosperms (pp. 279-336). Springer, Dordrecht.
- TÜİK, 2018. <http://www.tuik.gov.tr>, (Erişim Tarihi: 22.02.2019)
- Urano, K., Hobo, T., Shinozaki, K., 2005. Arabidopsis ADC Genes Involved in Polyamine Biosynthesis are Essential for Seed Development. FEBS Lett., 579: 1557-1564.
- Vasudevan, A., Selvaraj, N., Ganapathi, A., Kasthuriengan, S., Anbazhagan, V. R., Manickavasagam, M., Choi, C. W., 2008. Leucine and Spermidine Enhance Shoot Differentiation in Cucumber (*Cucumis sativus* L.). *In vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant, 44 (4): 300-306.
- Wei, A. M., Du, S. L., Han, Y. K., Liu, N., Zhang, G. H., 2010. A Study on the Relationship between Cucumber Gynogenesis and Content of Ovary Hormones and Polyamines. IVth International Symposium on Cucurbits, Int. Soc. Horticultural Science, 871, 625-630.
- Yang, H. Y., Zhou, C., 1990. *In vitro* Gynogenesis. (ed. Bhojwani, S.S), Plant Tissue Culture: Applications and Limitations. Elsevier Sci. Pub., Amsterdam-The Netherlands, 242-258 p.

- Yıldız, Ç., 2019. Karpuz Genetik Kaynaklarında Ovül-Ovaryum Kültürü Yöntemiyle Haploid Bitki Elde Edilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 81 s.
- Yılmaz, E., Ö., 2005. Yazlık Kabakta (*Cucurbita pepo* L.) Ovaryum Kültürü Yoluyla Haploid Bitki Eldesi. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, 57 s.
- YoungQiang, G., Jihanshe, W., Huiling, Z., Caixiang, W., Haizhen, L., Minhua, C., 2004. Studies on the Methods for Ploidy Identification Inregenerated Plant from Unpollinated Ovules of *Cucurbita pepo*. Acta Articultrae Boerali-Sinica, 109.

ÖZGEÇMİŞ

1993 yılında İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Konya'da tamamladıktan sonra, 2012 yılında Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü'nde lisans eğitime başladı. 2016 yılında 'Ziraat Mühendisi' unvanı ile mezun oldu. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda 2017 yılında yüksek lisans eğitime başladı.

