



ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Ertan Sait KURTAR

88005

KABAKTA (*Cucurbita pepo* L.) HAPLOİD EMBRİYO
UYARTIMI VE BİTKİ OLUŞTURMA ÜZERİNDE
ARAŞTIRMALAR

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ADANA, 1999

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KABAKTA (*Cucurbita pepo* L.) HAPLOİD EMBRİYO UYARTIMI VE BİTKİ
OLUŞTURMA ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR**

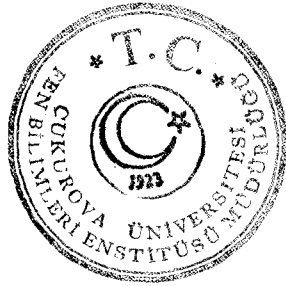
Ertan Sait KURTAR
DOKTORA TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 30/04/1999 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği İle Kabul Edilmiştir.

İmza.....	İmza.....	İmza.....
Doç.Dr. Nebahat SARI	Prof.Dr. Kazım ABAK	Prof.Dr. Ercan ÖZZAMBAK
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Kod No: 505




Prof. Dr. Melih BORAL
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: FBE.96.20

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

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ.....	V
ABSTRACT.....	VI
TEŞEKKÜR.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XV
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	11
2.1. Haploidi ile İlgili Çalışmalar.....	11
2.1.1. Anter Kültürleri.....	11
2.1.2. Ovül-Ovaryum Kültürleri.....	12
2.1.3. Eksik veya Yetersiz Polenlerle Tozlama.....	22
2.2. Işınlanmış Polenlerde Canlılık ve Çimlendirme Çalışmaları.....	35
2.3. Ploidi Düzeyini Belirleme.....	39
2.4. Kromozom Sayısının Katlanması.....	44
3. MATERYAL ve METOT.....	47
3.1. MATERYAL.....	47
3.2. METOT.....	49
3.2.1. <i>In situ</i> Çalışmalar.....	49
3.2.1.1. Işınlanmış Polenlerle <i>In situ</i> Partenogenesis Uyartımı.....	52
3.2.1.1.(1). Bitkilerin Yetiştirilmesi.....	49
3.2.1.1.(2). Erkek Çiçeklerin Toplanması, Işınlanması	
ve Muhafazası.....	52
3.2.1.1.(3). Dişi Çiçeklerin İzolasyonu	55
3.2.1.1.(4). Tozlama.....	56
3.2.1.2. Işınlamaya Alternatif Uygulamalar.....	58
3.2.1.2.(1). Farklı Türlerin Polenlerinden Yararlanma.....	58
3.2.1.2.(2). Polenlere Toluidin Mavisi, Kolhisin ve Su	
Uygulama.....	59

3.2.1.2.(3). Anter ve Ovül Kültürü Çalışmaları	60
3.2.1.2.(3).(a). Anter Kültürü.....	60
3.2.1.2.(3).(b). Ovül Kültürü.....	62
3.2.2. <i>In vitro</i> Kültürler.....	64
3.2.2.1. Dezenfeksiyon.....	65
3.2.2.2. Ekstraksiyon.....	65
3.2.2.3. Besin Ortamı.....	70
3.2.2.4. Kültür Koşulları.....	70
3.2.2.5. <i>In vitro</i> Bitki Gelişimleri ve Bitkilerin Dış Ortama Ağıstırılmaları.....	71
3.2.3. Sitolojik İncelemeler.....	75
3.2.3.1. <i>In vitro</i> Çiçek Tozu Canlılık Testleri.....	75
3.2.3.2. <i>In vitro</i> Çiçek Tozu Çimlendirme Testleri.....	75
3.2.3.3. <i>In situ</i> Çiçek Tozu Çimlendirme Testleri.....	76
3.2.4. Ploidi Düzeyinin Belirlenmesi.....	76
3.2.4.1. Kök Ucu Kromozom Sayımları.....	76
3.2.4.2. Stomaların İncelenmesi.....	77
3.2.4.3. Bitkilerde Bazı Morfolojik Özelliklerin İncelenmesi.....	78
3.2.5. Haploid Bitkilerde Kromozom Sayılarının Katlanması.....	78
3.2.6. Değerlendirme.....	79
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	80
4.1. Işınlanmış Polenlerle Uyartım Yoluyla Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Işın Dozu, Genotip ve Mevsimin Etkilerine İlişkin Bulgular.....	80
4.1.1. Polenlerin Canlılık Yeteneklerine İlişkin Bulgular.....	80
4.1.1.1. 1997 Yılı Bulguları.....	80
4.1.1.2. 1998 Yılı Bulguları.....	83
4.1.2. Polenlerin Çimlenme Yeteneklerine İlişkin Bulgular.....	86
4.1.2.1. <i>In vitro</i> Polen Çimlendirmeleri.....	86
4.1.2.2. <i>In situ</i> Polen Çimlendirmeleri ve Polen Tüpü Gelişimi.....	87

4.1.3. Işınlanmış Polenlerle Tozlanan Çiçeklerde Meyve Tutumu.....	91
4.1.3.1. 1997 Yılı Bulguları.....	91
4.1.3.2. 1998 Yılı Bulguları.....	97
4.1.4. Işınlanmış Polenlerle Tozlamaların Meyvelerde Ağırlık Değişimi ve Tohum Oluşumu Üzerine Etkileri.....	102
4.1.4.1. 1997 Yılı Bulguları.....	103
4.1.4.2. 1998 Yılı Bulguları.....	107
4.1.5. Işınlanmış Polenlerle Yapılan Tozlamaların Embriyo Uyardımına Etkileri.....	110
4.1.5.1. 1997 Yılı Bulguları.....	110
4.1.5.2. 1998 Yılı Bulguları.....	113
4.1.6. Işınlanmış Polenlerle Uyardım Sonucu Elde Edilen Embriyoların Değişik Gelişme Safhaları.....	115
4.1.6.1. 1997 Yılı Bulguları.....	115
4.1.6.2. 1998 Yılı Bulguları.....	120
4.1.7. Işınlanmış Polenlerle Uyardım Sonucu Elde Edilen Değişik Safhalardaki Embriyoların Köklenme ve Bitkiye Dönüşümleri.....	126
4.1.7.1. 1997 Yılı Bulguları.....	126
4.1.7.2. 1998 Yılı Bulguları.....	130
4.1.8. Değişik Safhalardaki Embriyolardan Elde Edilen Bitkilerin Gelişme Durumlarına İlişkin Bulgular.....	136
4.1.9. Haploid Üretim Etkinliği.....	139
4.1.9.1. 1997 Yılı Bulguları.....	140
4.1.9.2. 1998 Yılı Bulguları.....	143
4.2. Işınlamaya Alternatif Uygulamalara İlişkin Bulgular.....	148
4.2.1. Farklı Türlerin Polenlerinden Yararlanma.....	148
4.2.1.1. Farklı Türlerin Polenleriyle Tozlamaların Meyve Tutumu Üzerine Etkileri.....	148
4.2.1.1.(1). 1997 Yılı Bulguları.....	148
4.2.1.1.(2). 1998 Yılı Bulguları.....	151

4.2.1.2. Türlerarası Tozlamaların Meyve Ağırlığı, Tohum ve Embriyo Oluşumu ile Embriyo Gelişimi Üzerine Etkileri...	153
4.2.1.2.(1). 1997 Yılı Bulguları.....	153
4.2.1.2.(2). 1998 Yılı Bulguları.....	155
4.2.2. Polenlere Toluidin Mavisı, Kolhisin ve Su Uygulamaları.....	157
4.2.3. Anter ve Ovül Kültürü Çalışmalarına İlişkin Bulgular.....	157
4.2.3.1. Anter Kültürü.....	157
4.2.3.2. Ovül Kültürü.....	162
4.3. Bitkilerde Ploidi Düzeylerinin Belirlenmesi.....	162
4.3.1. Kök Ucu Kromozom Sayımları.....	162
4.3.2. Stoma Boyutları ve Bekçi Hücrelerindeki Kloroplast Sayıları.....	163
4.3.3. Morfolojik İnceleme Bulguları.....	165
4.4. Haploid Bitkilerde Kromozom Sayılarının Katlanması.....	168
5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR	169
KAYNAKLAR.....	182
ÖZGEÇMİŞ.....	203

ÖZ

DOKTORA TEZİ

**KABAKTA (*Cucurbita pepo* L.) HAPLOİD EMBRİYO UYARTIMI
VE BİTKİ OLUŞTURMA ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR**

Ertan Sait KURTAR

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Danışman : Doç. Dr. Nebahat SARI
Yıl: 1999, Sayfa: 203
Jüri : Doç. Dr. Nebahat SARI
: Prof. Dr. Kazım ABAK
: Prof. Dr. Ercan ÖZZAMBAK

Kabakta Co⁶⁰ kaynaklı gama ışını ile değişik dozlarda (25, 50, 75, 100, 200, 300 ve 400 Gy) ışınlanmış polenlerle 4 genotipte (Eskenderany F₁, Aceste F₁, Sakız ve Urfa Yerli) yapılan tozlamalardan sonra partenogenetik haploid embriyoların elde edilmesi, bu embriyoların bitkiye dönüştürülmesi, elde edilen bitkilerin ploidi düzeylerinin, kromozom sayımları ve diğer tekniklerle (stomatal incelemeler ve morfolojik gözlemler) doğrulanması araştırılmıştır. Ayrıca farklı türlerin polenleri, toluidin mavisi, kolhisin ve su uygulanmış polenlerle tozlama ile anter ve ovül kültürünün etkileri üzerinde de durulmuştur.

Araştırma sonuçları, sadece 25 ve 50 Gray dozuyla ışınlanmış polenlerle tozlamaların etkili olduğunu göstermiştir. Farklı türlerin polenleri ve diğer tip polenler haploid embriyo uyartımı sağlamamış, anter ve ovül kültürlerinden ise haploid bitki elde edilememiştir. Işınlanmış polen tekniğinde genotiplerin etkisi önemli bulunmuş, Eskenderany F₁ genotipinden toplam 43 adet haploid bitki elde edilirken, Sakız genotipinden 27, Urfa Yerli genotipinden 13, Aceste F₁ genotipinden 10 adet ve toplam olarak 93 adet haploid bitki üretilmiştir. Samsun koşullarında en iyi tozlama döneminin haziran ve eylül ayları olduğu saptanmıştır. Elde edilen bitkilerin ploidi düzeyleri, embriyo safhalarına göre değişiklik göstermiştir. Haploid bitkilerden dihaploid hatların elde edilmesinde en uygun kolhisin dozu ve uygulama süresinin % 0.5'lik dozda 4 saat olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kabak, ışınlanmış polen, haploidi.

ABSTRACT

PhD THESIS

RESEARCHES ON HAPLOID EMBRYO INDUCTION AND PLANT OBTENTION IN SQUASH (*Cucurbita pepo* L.)

Ertan Sait KURTAR

DEPARTMENT OF HORTICULTURE
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Nebahat SARI
Year: 1999, Pages: 203
Jury : Assoc. Prof. Dr. Nebahat SARI
: Prof. Dr. Kazım ABAK
: Prof. Dr. Ercan ÖZZAMBAK

Derivation parthenogenetic haploid embryos with different doses (25, 50, 75, 100, 200, 300 and 400 Gy) gamma of Co⁶⁰ irradiated pollen in 4 squash genotypes (Eskenderany F₁, Aceste F₁, Sakız and Urfa Yerli), regeneration of these embryos, confirmation of the chromosome level with chromosome counting and other techniques (stomatal and morphological screening) were investigated. In addition, the effect of pollination with different species pollens; pollen treatment by toluidin blue, colchicine or water and anther and ovule cultures had been studied.

According to the results, pollination with only 25 and 50 Gray doses irradiated pollen had an effect on induction haploid embryos. Different species pollens and other type of pollens hadn't stimulating haploid embryos, anther and ovule cultures hadn't gave haploid plants. The genotypes had important effect on irradiated pollen techniques; 43 haploid plants of Eskenderany F₁ genotype, 27 haploid plants of Sakız genotype, 13 haploid plants of Urfa Yerli genotype, 10 haploid plants of Aceste F₁ genotype and totally 93 haploid plants were produced. The best pollination period of Samsun region was in june and september . The ploidy levels of plants had changed according to embryos stages. 0.5 % dose colchicine-4 hours treatment was the most suitable for the obtaining dihaploid lines.

Key Words: Squash, irradiated pollen, haploidy.

TEŞEKKÜR

Kazandırdığı değerli bilgi ve tecrübelerle beni araştırmacı olmaya ve hizmete teşvik eden, bu araştırma konusunu bana veren saygıdeğer hocam **Prof. Dr. Kazım ABAK**'a, çalışmamın başlangıcından sonuna değin değerli bilgileriyle beni yönlendirip yardım ve desteğini sürdüren danışman hocam sayın **Doç. Dr. Nebahat SARI**'ya teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında, her türlü desteklerini gördüğüm eşim **Zir. Müh. Gülser KURTAR**'a ve ailemin tüm bireylerine sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmalarımı yürüttüğüm Yüksekokulumuz bünyesindeki doku kültürü laboratuvarını ve serayı kuran sayın hocam **Prof. Dr. Enver ESENDAL**'a, laboratuvarı geliştirmemizde yardımlarını esirgemeyen sayın müdürümüz **Doç. Dr. Kudret KEVSEROĞLU**'na teşekkür ederim.

Işınlama çalışmalarında büyük yardımlarını gördüğüm Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı Başkanı sayın **Doç. Dr. Şaban ÇAKIR**'a, Yüksek Fizikçi **Tenzile OFLUOĞLU**'na, teknisyenler **Ramazan DEMİR** ve **Ahmet KILINÇ**'a, sitolojik çalışmalarımda büyük destek veren sayın **Prof. Dr. Sinan ETİ**'ye ve **Araş. Gör. Kubilay DERİN**'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

µm	: mikrometre
Gy	: gray
kGy	: kilogray
kRad	: kilorad*
Co ⁶⁰	: kobalt 60
DH	: Dihaploid
ESK	: Eskenderany F ₁
ACS	: Acceste F ₁
SKZ	: Sakız
UY	: Urfa Yerli
MYS	: Mayıs
HZR	: Haziran
TMZ	: Temmuz
AĞS	: Ağustos
EYL	: Eylül
TÇS	: Tozlanan Çiçek Sayısı
TMS	: Tutan Meyve Sayısı
MBO	: Meyve Bağlama Oranı
BS	: Bitki Sayısı
MS	: Meyve Sayısı
MA	: Meyve Ağırlığı
TTS	: Toplam Tohum Sayısı
OTS	: Ortalama Tohum Sayısı
TE	: Toplam Embriyo Sayısı
MBE	: Meyve Başına Embriyo Sayısı
SET	: Sert Embriyoların Toplamı
NET	: Nekrotik Embriyoların Toplamı
GT	: Genel Toplam

KE	: Köklenen Embriyo Sayısı
BDE	: Bitkiye Dönüşen Embriyo Sayısı
ŞBS	: Şaşırtılan Bitki Sayısı
MHB	: Meyve Başına Haploid Bitki Sayısı
TB	: Toplam Bitki Sayısı
YTBS	: 100 Tohumdaki Bitki Sayısı (adet/100 tohum)
YEBS	: 100 Embriyodaki Bitki Sayısı (adet/100 embriyo)
ZYMV	: Zucchini Yellow Mosaic Virus (Kabak Sarı Mozaik Virüsü)
NAA	: Naftalen Asetik Asit
IAA	: İndol Asetik Asit
IBA	: İndol Butirik Asit
2,4-D	: 2,4 dikloro fenoksi asetik asit
GA ₃	: Giberellik Asit
BAP	: Benzil Amino Pürin
2.IP	: 2. İzopentenil Adenin
TTC	: Trifenil Tetrazolium Klorür
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
MS	: Murashige and Skoog
NN	: Nitsch-Nitsch

* : 1 gray 100 rad (0.1 kRad)'a eşittir.

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>ÇİZELGE NO</u>	<u>SAYFA</u>
Çizelge 1.1. <i>Cucurbita</i> cinsi içerisine giren önemli türlerin tanılama anahtarı.....	8
Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan çeşitlerin bazı özellikleri.....	49
Çizelge 3.2. 1997 ve 1998 yıllarında tohum ekim, fide dikim tarihleri ile her dönem ve genotipe ait bitki sayıları ve yetiştirme yerleri.....	50
Çizelge 3.3. 1997 ve 1998 yıllarına ait ışınlama dozları, tarihleri ve süreleri (dakika).....	54
Çizelge 3.4. Polen ışınlama ve tozlama tarihleri.....	57
Çizelge 3.5. E20A besisi ortamının bileşimi	70
Çizelge 4.1. 1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte değişik dozlarda ışınlanmış polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları.....	92
Çizelge 4.2. 1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte ışınlanmış 0 ve 1 gün yaşlı polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları.....	95
Çizelge 4.3. 1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte değişik dozlarda ışınlanmış polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları.....	98
Çizelge 4.4. 1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte ışınlanmış 0 ve 1 gün yaşlı polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları.....	101
Çizelge 4.5a. 1997 yılında aylara bağlı olarak farklı dozlarda ışınlanan polenlerle tozlama sonucu Eskenderany F ₁ ve Acceste F ₁ genotiplerinde elde edilen meyvelerin sayısı, ortalama ağırlıkları, toplam ve meyve başına tohum sayıları.....	104
Çizelge 4.5b. 1997 yılında aylara bağlı olarak farklı dozlarda ışınlanan polenlerle tozlama sonucu Sakız ve Urfa Yerli genotiplerinde elde edilen meyvelerin sayısı, ortalama ağırlıkları, toplam ve meyve başına tohum sayıları.....	105

Çizelge 4.6.	1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen ortalama tohum sayıları (adet/meyve).....	106
Çizelge 4.7.	1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen meyvelerin ortalama ağırlıkları (g).....	106
Çizelge 4.8a.	1998 yılında aylara bağlı olarak farklı dozlarda ışınlanan polenlerle tozlama sonucu Eskenderany F ₁ ve Acceste F ₁ genotiplerinde elde edilen meyvelerin sayısı, ortalama ağırlıkları, toplam ve meyve başına tohum sayıları.....	108
Çizelge 4.8b.	1998 yılında aylara bağlı olarak farklı dozlarda ışınlanan polenlerle tozlama sonucu Sakız ve Urfa Yerli genotiplerinde elde edilen meyvelerin sayısı, ortalama ağırlıkları, toplam ve meyve başına tohum sayıları.....	109
Çizelge 4.9.	1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen ortalama tohum sayıları (adet/meyve).....	110
Çizelge 4.10.	1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen meyvelerin ortalama ağırlıkları (g).....	110
Çizelge 4.11.	1997 yılında farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle uyartım sonucu aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen embriyo sayıları ile meyve başına ortalama embriyo sayıları (adet).....	111
Çizelge 4.12.	1997 yılında farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle uyartım sonucu aylara bağlı olarak elde edilen ortalama embriyo sayıları (adet/meyve).....	112
Çizelge 4.13.	1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen ortalama embriyo sayıları (adet/meyve).....	112
Çizelge 4.14.	1998 yılında farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle uyartım sonucu aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen embriyo sayıları ile meyve başına ortalama embriyo sayıları (adet).....	114

Çizelge 4.15. 1998 yılında farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle uyartım sonucu aylara bağlı olarak elde edilen ortalama embriyo sayıları (adet/meyve).....	115
Çizelge 4.16. 1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen ortalama embriyo sayıları (adet/meyve).....	115
Çizelge 4.17a. 1997 yılında Eskenderany F ₁ genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları.....	116
Çizelge 4.17b. 1997 yılında Acceste F ₁ genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları.....	117
Çizelge 4.17c. 1997 yılında Sakız genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları.....	118
Çizelge 4.17d. 1997 yılında Urfa Yerli genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları.....	119
Çizelge 4.18. 1997 yılı içerisinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları.....	120
Çizelge 4.19a. 1998 yılında Eskenderany F ₁ genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları.....	121
Çizelge 4.19b. 1998 yılında Acceste F ₁ genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları.....	122
Çizelge 4.19c. 1998 yılında Sakız genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları.....	123
Çizelge 4.19d. 1998 yılında Urfa Yerli genotipinde aylara bağlı olarak elde	

edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları.....	124
Çizelge 4.20. 1998 yılı içerisinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları.....	125
Çizelge 4.21a. 1997 yılında Eskenderany F ₁ genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları...	127
Çizelge 4.21b. 1997 yılında Acceste F ₁ genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları...	128
Çizelge 4.21c. 1997 yılında Sakız genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları.....	128
Çizelge 4.21d. 1997 yılında Urfa Yerli genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları...	129
Çizelge 4.22. 1997 yılı içerisinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların bitkiye dönüşüm oranları.....	130
Çizelge 4.23a. 1998 yılında Eskenderany F ₁ genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları...	131
Çizelge 4.23b. 1998 yılında Acceste F ₁ genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları...	132
Çizelge 4.23c. 1998 yılında Sakız genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları.....	133
Çizelge 4.23d. 1998 yılında Urfa Yerli genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları...	135
Çizelge 4.24. 1998 yılı içerisinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları.....	136
Çizelge 4.25. Kök ucu kromozom sayımları sonucunda değişik safhalardaki embriyolardan elde edilen haploid ve diploid bitki sayıları ve oranları.....	140
Çizelge 4.26. 1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu elde edilen toplam haploid bitki	

sayısı ile bu bitkilerin 100 tohum ve 100 embriyodaki sayısı.....	142
Çizelge 4.27. 1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen meyve başına haploid bitki sayısı (adet).....	143
Çizelge 4.28. 1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte değişik dozlarda ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu elde edilen toplam haploid bitki sayısı ile bu bitkilerin 100 tohum ve 100 embriyodaki sayısı..	146
Çizelge 4.29. 1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen meyve başına haploid bitki sayısı (adet).....	147
Çizelge 4.30. 1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte farklı türlere ait polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları.....	149
Çizelge 4.31. 1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte farklı türlere ait polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları.....	152
Çizelge 4.32. 1997 yılında farklı türlere ait polenlerle tozlama sonucu elde edilen meyvelerin sayısı, ortalama ağırlıkları, tohum ve embriyo sayıları, embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları.....	154
Çizelge 4.33. 1998 yılında farklı türlere ait polenlerle tozlama sonucu elde edilen meyvelerin sayısı, ortalama ağırlıkları, tohum ve embriyo sayıları, embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları.....	156
Çizelge 4.34. 1997 yılında dört genotipte toluidin mavisi, kolhisin ve saf su uygulanmış polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları.....	157
Çizelge 4.35. Kallus oluşturan anter oranı (%).....	158
Çizelge 4.36. Anter kültüründe oluşan kallusların ortalama alanları (mm ²).....	159
Çizelge 4.37. Urfa Yerli genotipine ait haploid ve diploid bitkilerin stoma uzunluk (µm), çap (µm), yoğunluk (adet/mm ²) ve kloroplast sayıları (adet).....	164
Çizelge 4.38. Urfa Yerli genotipinde değişik sürelerde uygulanan % 0.5'lik kolhisinin bitki gelişimi üzerine etkisi.....	168

ŞEKİLLER DİZİNİ

SEKİL NO

SAYFA

Şekil 3.1.	Araştırmada kullanılan genotipler a) Eskenderany F ₁ , b) Aceste F ₁ , c) Sakız, d) Urfa Yerli.....	48
Şekil 3.2.	Fidelerin tül perde yardımıyla hastalık enfeksiyonundan korunması.	51
Şekil 3.3.	Kabak bitkisinde ve meyvelerinde ZYMV simptomları.....	52
Şekil 3.4.	Anthesisten bir gün önce toplanmış erkek çiçekler.....	53
Şekil 3.5.	Işınlanmak üzere hazırlanmış anterler.....	53
Şekil 3.6.	Anterlerin ışınladığı Co ⁶⁰ kaynaklı gama ışını veren Theratron 780-C marka teloterapi cihazı.....	53
Şekil 3.7.	Anthesisten bir gün önce pens ile izole edilmiş bir dişi çiçek.....	55
Şekil 3.8.	Anthesis günündeki bir dişi çiçeğin ışınlanmış polenlerle tozlanması.....	56
Şekil 3.9.	Tozlama sonrası dişi çiçeğin penslenmesi ve selofan kese ile kapatılarak etiketlenmesi.....	57
Şekil 3.10.	Tek çekirdekli mikrospor dönemi (720x).....	60
Şekil 3.11.	Kabakta erkek çiçek oluşumunun değişik aşamaları.....	61
Şekil 3.12.	MS besisi ortamı üzerinde kültüre alınmış ovüller.....	63
Şekil 3.13.	Işınlanmış polenlerle tozlanan çiçeklerden elde edilen meyveler.....	64
Şekil 3.14.	Ekstraksiyon öncesi bir meyvenin steril kabin altında % 96'lık etil alkol ile yakılarak dezenfekte edilmesi.....	65
Şekil 3.15.	Steril kabin içerisinde meyvelerden çıkarılan değişik aşamadaki (dolu, üst solda; boş, üst sağ ve altta) tohumlar.....	66
Şekil 3.16.	Kabakta değişik embriyo şekilleri a) Nokta, b) Globüler, c) Ok ucu, d) Çubuk, e) Torpedo, f) Yürek, g) Kotiledon, h, i, j, k, l) Şekilsiz, m, n) Nekrotik.....	68
Şekil 3.17.	Embriyo ve bitkilerin geliştirildiği iklim odası.....	71
Şekil 3.18.	Kavanozlarda yetiştirilen bitkilerin dış koşullara alıştırılması.....	73
Şekil 3.19.	Tüplerde yetiştirilen bitkilerin dış koşullara alıştırılması.....	73
Şekil 3.20.	Saksılara dikilmiş bitkiler.....	74

Şekil 4.1.	25 Gy dozunda ışınlanmış polenlerin TTC ile boyanmış 0. gün polenleri (180x).....	80
Şekil 4.2.	1997 yılı mayıs ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri.....	82
Şekil 4.3.	1997 yılı haziran ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri.....	82
Şekil 4.4.	1997 yılı temmuz ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri.....	82
Şekil 4.5.	1997 yılı ağustos ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri.....	83
Şekil 4.6.	1997 yılı eylül ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri.....	83
Şekil 4.7.	1998 yılı mayıs ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri.....	85
Şekil 4.8.	1998 yılı haziran ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri.....	85
Şekil 4.9.	1998 yılı temmuz ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri.....	85
Şekil 4.10.	1998 yılı ağustos ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri.....	86
Şekil 4.11.	1998 yılı eylül ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri.....	86
Şekil 4.12.	Stigma yüzeyinden alınan ekstraktta çimlenmekte olan bir polen (720x).....	87
Şekil 4.13.	25 Gy dozunda ışınlanmış polenlerde stigma üzerinde çimlenme....	88
Şekil 4.14.	25 Gy dozunda ışınlanmış polenlere ait çim borularının stil içindeki gelişimleri.....	88
Şekil 4.15.	50 Gy dozunda ışınlanmış polenlerde stigma üzerinde çimlenme....	89

Şekil 4.16.	50 Gy dozunda ışınlanmış polenlere ait çim borularının stil içindeki gelişimleri.....	89
Şekil 4.17.	75 Gy dozunda ışınlanmış polenlere ait çim borularının stil içindeki gelişimleri.....	90
Şekil 4.18.	100 ve 200 Gy dozunda ışınlanmış polenlerin stigma üzerindeki durumları.....	90
Şekil 4.19.	1997 yılında aylara bağlı olarak ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu dört genotipte elde edilen meyve bağlama oranları (%).....	93
Şekil 4.20.	1997 yılında farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle tozlanan genotiplerde meyve bağlama oranları (%).....	93
Şekil 4.21.	1998 yılında aylara bağlı olarak ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu dört genotipte elde edilen meyve bağlama oranları (%).....	99
Şekil 4.22.	1998 yılında farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle tozlanan dört genotipte meyve bağlama oranları (%).....	99
Şekil 4.23.	Yüksek dozda ışınlanmış polenlerle tozlamalardan elde edilmiş içi boş bir meyve (Acceste F ₁).....	103
Şekil 4.24.	Köklenmekte olan yürek ve kotiledon safhadaki embriyolar.....	126
Şekil 4.25.	Değişik safhalardaki embriyoların bitkiye dönüşümleri için geçen ortalama süre (gün).....	137
Şekil 4.26.	Değişik safhalardaki embriyolardan gelişen bitkilerin ilk mikroçeliklemeye gelmeleri için geçen ortalama süre (gün).....	137
Şekil 4.27.	Değişik safhalardaki embriyolardan gelişen bitkilerin ilk mikroçeliklemeye geldikleri aşamadaki ortalama boyları (cm).....	138
Şekil 4.28.	Değişik safhalardaki embriyolardan gelişen bitkilerin ilk mikroçeliklemeye geldikleri aşamadaki ortalama boğum sayıları (adet).....	138
Şekil 4.29.	Değişik safhalardaki embriyolardan gelişen bitkilerin ilk mikroçeliklemeye geldikleri aşamadaki ortalama boğum arası uzunlukları (cm).....	139

Şekil 4.30.	1997 yılında 100 tohumdaki embriyolardan elde edilen haploid bitki sayıları.....	140
Şekil 4.31.	1997 yılında 100 embriyodan elde edilen haploid bitki sayıları.....	141
Şekil 4.32.	1997 yılında meyve başına elde edilen haploid bitki sayıları.....	143
Şekil 4.33.	1998 yılında 100 tohumdaki embriyolardan elde edilen haploid bitki sayıları.....	144
Şekil 4.34.	1998 yılında 100 embriyodan elde edilen haploid bitki sayıları.....	144
Şekil 4.35.	1998 yılında meyve başına elde edilen haploid bitki sayıları (adet)...	147
Şekil 4.36.	Sakız x <i>C. moschata</i> tozlamasından elde edilen embriyolardan gelişen bitkilerin meyveleri.....	155
Şekil 4.37.	Anterlerden oluşmakta olan kalluslar.....	158
Şekil 4.38.	Kallus üzerinde bitkiciklerin çıkışı.....	160
Şekil 4.39.	Kültür tüplerinde büyümekte olan bitkicikler.....	160
Şekil 4.40.	Anter kültüründen gelen bitkilerin plastik kaplardaki görünüşü.....	161
Şekil 4.41.	Anter kültüründen gelen bitkilerde kromozomlar (1800x).....	161
Şekil 4.42.	Diploid yapıdaki bitkilerin kromozomları ($2n=2x=40$).....	162
Şekil 4.43.	Haploid yapıdaki bitkilerin kromozomları ($n=20$).....	163
Şekil 4.44.	Haploid bir bitkiye ait stomalar (1800x).....	164
Şekil 4.45.	Diploid bir bitkiye ait stoma (1800x).....	164
Şekil 4.46.	Kültür odası şartlarında büyümekte olan haploid bir bitki.....	165
Şekil 4.47.	<i>In vitro</i> 'da aynı zamanda yetiştirilmeye alınmış diploid (solda) ve haploid (sağda) bitkilerin gelişme durumları.....	165
Şekil 4.48.	Haploid (solda) ve diploid (sağda) bitkilere ait yapraklar.....	166
Şekil 4.49.	Diploid (solda) ve haploid (sağda) bitkilere ait anthesisten bir gün önceki aşamada erkek çiçekler.....	167
Şekil 4.50.	Diploid (solda) ve haploid (sağda) bitkilere ait anthesisten bir gün önceki aşamada dişi çiçekler.....	167

1. GİRİŞ

Bitki ıslahı bitkilerin yetiştirilmesi ile başlar ve geçmişi çok eskilere dayanır. Günümüzde bitki ıslahı çalışmaları, *in vitro* tekniklerin de devreye girmesiyle önemli gelişmeler kaydetmiştir.

Kromozomlar canlı varlıkların genetik yapısını belirler, birim olarak “genom” terimi ile açıklanır ve “x” ile tarif edilir. “x” kromozom sayısına sahip bitkilere “haploid” veya “monoploid” adı verilir. Canlılarda eşey hücreleri yani gametler normal kromozom sayısının yarısını taşır ve “n” olarak ifade edilir. Somatik hücrelerin kromozom sayısı ise “2n” ile gösterilir ve “diploid” olarak adlandırılır (**Düzgüneş ve Ekingen, 1974; Emiroğlu, 1982; Şehirali ve Özgen, 1988; Demir, 1990**). Haploid bitkiler kök, gövde, dal, yaprak, çiçek ve bazı durumlarda meyveler de vererek normal gelişim gösterirler. Ancak, haploid bitkilerin doku ve organlarını oluşturan hücreler, diploidlere göre biraz daha küçük olduğundan, haploid bireyler morfolojik olarak diploidlerin biraz küçültülmüş örnekleridir (**Bilge, 1981; Emiroğlu, 1982**). Boyları daha kısa, yaprakları dar ve küçük olan bu bitkilerin çiçekleri de küçük olup polen oluşturmama nedeniyle kısırdırlar, tohum bağlayamazlar (**Emiroğlu, 1980; Abak, 1993**).

Normal döllenmelerden sapmalar sonucu spontan haploidlerin olduğu uzun süredir bilinmekle birlikte, oluşan haploidlerin oranının düşük olması sebebiyle ıslah programlarında yer alamamıştır. Bu sebeple araştırmacılar bu oranı artırmak amacıyla bir takım uğraşlar içine girmişlerdir (**Pierik, 1989; Emiroğlu ve Gürel, 1993a**). “n” sayıda kromozoma sahip ve haploid olarak adlandırılan bitkilerin elde edilmesi olarak tanımlanan haploidizasyonun ıslah çalışmalarında kullanılması ancak değişik *in vitro* tekniklerin devreye girmesi ve çok sayıda haploid bitkinin elde edilmesi ile gerçekleşebilmiştir. Haploid bitkilerin elde edilmesini takiben çeşitli yöntemlerle bu haploidlerin kromozom sayısının iki katına çıkarılarak türün normal kromozom sayısına (2n) yeniden ulaşılması ve homozigot fertil bitkilerin elde edilmesine ise “diploidizasyon” adı verilmektedir. Bu bitkiler elde ediliş şekillerine uygun olarak “doubled haploid”ler olarak isimlendirilir. Değişik araştırmacılarca “dihaploid”,

“haplodiploid”, “haploide doublé”, “katlanmış haploid”, hatta son zamanlarda sadece “DH” terimleri de kullanılmaktadır (**Hermesen ve Ramanna, 1981; Emiroğlu, 1982; Sangwan ve Sangwan-Norrel, 1990; Emiroğlu ve Gürel, 1993a; Sarı, 1994; Sarı ve ark., 1998**).

Haploidler *in situ* ya da *in vitro* kaynaklı olabilirler. Doğada kendiliğinden ortaya çıkan haploid bitkilerin birçok farklı yollardan oluştuğu görülmüştür (**Tisserat ve ark., 1979; Hermesen ve Ramanna, 1981; Sanford, 1983; Lanaud, 1988; Pierik, 1989; Sangwan ve Sangwan-Narrel, 1990**). Bunlar 5 ana başlık altında toplanabilir.

Normal döllenme sonucu oluşan zigotun bölünmesi esnasında yanındaki sinergit hücrelerinden biri de bölünerek gelişmeye başlar ve haploid embriyoya dönüşür. Poliembriyoni olarak adlandırılan bu olay sayesinde aynı tohum içerisinde biri haploid, diğeri ise diploid iki embriyo oluşur (**Lacadena, 1974; Emiroğlu, 1982**).

Haploidlerin oluştuğu bir diğer yolda ise döllenme sonrası embriyo gelişiminin ilk devrelerinde ebeveynlerden birine, genellikle babaya ait kromozomlar elimine olur. Kromozom eliminasyonu denilen bu olay neticesinde gelişen embriyo “n” sayıda kromozom içerir (**Subrahmanyam ve Kasha, 1973; Hermesen ve Ramana, 1981; Pierik, 1989**).

Erkek ve dişi eşey hücrelerinin birleşerek embriyo oluşturduğu, ancak çekirdekli birleşmenin söz konusu olmadığı semigami durumunda ise anormal döllenme sonucu ana ve baba kökenli dokuların bulunduğu kimeralı bitkiler oluşur (**Turcotte ve Feaster, 1969 ve 1982; Lanaud, 1988**).

Döllenme olmaksızın, erkek eşey hücresi uyartımı sonucu, yumurta hücresi veya antipodal hücrelerden birinin zigot gibi davranıp bölünmeye başlayarak haploid embriyo oluşturma şeklinde cereyan eden gynogenesis olayında dişi eşey hücresi, erkek eşey hücresiyle birleşmez. Fakat embriyo kesesi sekonder çekirdekleri ile polen generatif çekirdeği birleşerek haploid embriyonun çimlenip gelişebilmesi için gereksinim duyacağı endospermi oluştururlar (**Bhojwani ve Razdan, 1983; Sauton, 1987; Yang ve Zhou, 1990**).

Haploidlerin oluştuğu beşinci yol olan androgenesiste ise yumurta hücresinin döllenmesinden önce dişi eşey hücresinin çekirdeği inaktif hale geçer veya elimine edilir ve yalnızca babaya ait kromozom takımını taşıyan haploidler oluşur (**Lanaud, 1988**).

Apomiksiz veya partenogenesis yoluyla doğada kendiliğinden oluşan haploid bitkilerin bulunduğu en önemli kaynak ikiz (iki embriyolu) tohumlardır (**Bajaj, 1983; Chambonnet, 1988; Pierik, 1989**).

Haploidlerin doğada kendiliğinden ortaya çıkış frekansları türlere bağlı olarak % 0.1-0.001 arasında değişmekte, bazı türlerde ise hiç ortaya çıkmamaktadır (**Pochard ve Dumas de Vaulx, 1979; Yeung ve Thorpe, 1981; Turcotte ve Feaster, 1982; Bhojwani ve Razdan, 1983; Zhang ve ark., 1990**).

Haploidlerin yüksek oranda ve düzenli eldesi için değişik araştırmacılar tarafından birçok yöntem denenmiştir (**Hosemans ve Bossoutrot, 1983**). Bu yöntemleri iki grupta toplamak mümkündür:

1. *In situ* haploid uyartımı: *In situ* haploid uyartımını teşvik amacıyla türler arası melezlemeler, tozlamamanın geciktirilmesi, ışınlanmış polenlerle tozlama, değişik kimyasal maddeler ve hormon uygulamaları, sıcaklık şokları, “X” veya “UV” ışınları uygulaması gibi yöntemler kullanılmaktadır (**Yeung ve Thorpe, 1981; Hermesen ve Ramanna, 1981; Bhojwani ve Razdan, 1983; Bajaj, 1983; Lespinasse ve ark., 1983; Pierik, 1989**).

Bunlardan türlerarası melezlemeler ve ışınlanmış polen uygulamaları en çok kullanılan yöntemlerdir (**Lacadena, 1974; Sangwan ve Sangwan-Norrel, 1990**). Ayrıca çiçek tozlarına veya bitkilere toluidin mavisi, maleik hidrazit, azotoksit, kolhisin, kloramfenikol ve paraflor fenilalanin gibi kimyasallar veya 2-kloro etik fosfonik asit, 2,4-D gibi bitki gelişimini düzenleyiciler uygulamak da haploidi açısından ilginç sonuçlar verebilmektedir (**Montelongo-Escobedo ve Rowe, 1969; Illies, 1974; Bajaj, 1983; Pierik, 1989**).

2. *In vitro* dişi veya erkek gamet kültürleri: İlk kez, **Guha ve Maheshwari** (1964) tarafından *Datura innoxia* Mill. bitkisinde *in vitro* anter kültürü yoluyla düzenli ve yüksek oranda haploid bitkiler elde edilmesi, **Bourgin ve Nitsch** (1967)

adlı araştırmacıların da tütün (*Nicotiana tabacum*) bitkisinde haploid bitkiler elde etmeleri ıslahçılar ve doku kültürü ile çalışanlar arasında ilgiyle karşılanmış, kısa sürede konu ile ilgili çalışmalar hızlanmıştır.

Bu güne kadar yaklaşık 25 familyaya ait 200 civarındaki türde *in vitro* androgenesis başarıyla uygulanmıştır (Bajaj, 1983; Bhojwani ve Razdan, 1983; Dunwell, 1985; Pierik, 1989; Sangwan ve Sangwan-Norrel, 1990; Hatipoğlu ve ark., 1994; Çeliktaş ve Hatipoğlu, 1997; Gémesné ve ark., 1998; Metwally ve ark., 1998 a). Elde edilen bu androgenik haploidler, homozigot dihaploid hatlar olarak buğday, arpa, çeltik, kolza, mısır, ayçiçeği, tütün, kuşkonmaz, lahana, biber ve patlıcan gibi çok sayıda türde ıslah programlarında kullanılmış, bu türlerde dihaploidizasyon ile geliştirilen çeşitlerin tarla denemelerine geçilmiş ve hatta üretimlerine başlanmıştır (Wenzell, 1985; Kuckuck ve ark., 1991; Caranta, 1992; Gallais ve Bannerot, 1992).

1970 ve 1980'li yıllarda haploid ve dihaploidlerin eldesinde ümit verici bir teknik olarak anter ve polen kültüründe yoğun çalışmalar devam etmiş, birçok türde de döllenmemiş ovül ve ovaryum kültürleriyle (*in vitro* gynogenesis) haploidler elde edilmiştir (Yang ve Zhou, 1990). Bu yolla, özellikle, arpa, çeltik, gerbera ve pamukta alınan ilginç sonuçlar yanında, yaklaşık 20 türde, oluşum frekansı istenilen düzeyde olmasa da, haploid bitkiler elde edilmiştir (Yang ve Zhou, 1990; Thorpe, 1990).

In vitro veya *in situ* uyartılı ve spontan partenogenesiste normal döllenme meydana gelmemektedir. Haploid embriyo ya yumurta hücresinden (gynogenesis) veya embriyo kesesindeki diğer hücrelerden birinin (sinergid, antipodal hücre) bölünerek (apogamy) haploid bir embriyo oluşturmasıyla ya da anterlerin veya polenlerin (androgenesis) doğrudan *in vitro*'da kültüre alınmasıyla oluşmaktadır (Sneep ve Hendriksen, 1979). Bu embriyolar bazı türlerde bitkiye dönüşerek haploid bitki elde edilmesine imkan vermektedir.

Haploidlerin elde edilmesine genotip, donör bitkinin büyüme koşulları ve yaşı, polen tanesinin gelişme safhası, çiçek tomurcuğu veya anterlerin ön muameleye tabi tutulması, kültür ortamının besin kompozisyonu, kültür odasının koşulları, kültür kabının tabiatı, kültüre alınan anterlerin sayısal yoğunluğu, eksplantasyon ve anter

duvarının aktivitesi etki etmektedir (Chambonnet, 1988; Karakullukçu ve Abak, 1993a ve 1993b; Kurt ve ark., 1994).

Haploidizasyon ıslah çalışmalarında araştırmacılara önemli avantajlar sunmaktadır (Reinert ve Bajaj, 1977; Pochard ve Dumas de Vaulx, 1979; Ingram ve Macdonald, 1980; Poincelot, 1980; Vural, 1981; Welsh, 1981; Hermesen ve Ramanna, 1981; Abak, 1982; Emiroğlu, 1982; Bajaj, 1983; Lespinasse ve ark., 1983; Abak, 1985; Dunwell, 1985; Abak, 1988; Chambonnet, 1988; Abak, 1993; Demarly ve Sibi, 1989; Pierik, 1989; Bhojwani, 1990; Gallais, 1990; Sangwan ve Sangwan-Norrell, 1990; Thorpe, 1990; Zhang ve ark., 1990; Kuckuck ve ark., 1991; Emiroğlu ve Gürel, 1993a; Sarı, 1994; Abak ve ark., 1996). Bu avantajlar aşağıdaki şekilde sıralanabilir:

1. Haploidler ve dihaploidler sitolojik ve genetik açıdan çok önemli deneysel materyallerdir.
2. Diploid materyale uygulanan mutagenlerin resesif yönde yarattığı mutasyonlar, bu materyallerden seçilen haploidler yardımıyla daha ilk generasyonda belirlenebilmektedir. Haploid hücreler yapılan mutasyon teşviki uygulamalarında kimera oluşturmazlar ve mutant hücreler çok kolay ayırt edilir. Ayrıca haploid hücre ya da bitkilerde ortaya çıkan mutasyonlar, bu bitkilerin kolayca diploidizasyonu sonucu yeni çeşitlerin geliştirilmesinde yarar sağlayabilir.
3. Haploid hücre kültürü, mutasyonlar ve hücre modifikasyonlarının incelendiği somatik hücre genetiği çalışmalarında çok elverişli bir yöntemdir.
4. Haploidler ve dihaploid homozigotlarda genetik açılım (Segregation) basittir, resesif genler dominantlar tarafından örtülmezler.
5. Haploidlerin, değişik ortamlarda ve farklı patojenlere ya da patojenlerin farklı ırklarına karşı *in vitro* seviyede seçime olanak vermesi hastalıklara dayanıklılık çalışmalarında yer, zaman ve maddi kazanç sağlar.
6. Özellikle yabancı döllen türlerde 10-12 generasyon tekrarlanan kendilemeler ile ulaşılan homozigotiye, dihaploidizasyon yönteminin kullanılmasıyla bir generasyonda en hızlı ve kolay bir şekilde ulaşılır.

7. Kendilemenin olanaksız olduğu bazı dioik türlerde haploid uyartımı ve bunu takip eden kromozom katlanmasıyla saf erkek bitkiler elde etmek mümkündür. Örneğin, kuşkonmaz bitkisinde erkek bireyler dişi bireylerden daha erkenci ve daha yüksek verimlidirler. Dişi (XX) ve erkek (XY) bitkiler melezlendiğinde % 50 dişi, % 50 erkek kuşkonmaz bitkileri elde edilir. Erkek kuşkonmazların anterlerinden çekilen haploidlerde (X ve Y) kromozom katlanması sonucu süper erkek (YY) bitkiler elde edilir ve bunlar vegetatif olarak çoğaltılabilir. Dişi bitkiler (XX) süper erkek bitkilerle melezlendiğinde de sadece erkek bitkiler (XY) oluşur.
8. Klasik yöntemlerle homozigotiye ulaşmanın oldukça zor olduğu ve kendileme depresyonunun görüldüğü çilek ve lahana gibi türlerde dihaploidizasyon ile bu sorun bir generasyonda çözülebilir.
9. Homozigoti meyve ağaçları, yumrulu bitkiler ve orman ağaçları gibi tohumdan çiçeklenmeye kadar oldukça uzun bir gençlik dönemi olan bitkiler için de önemlidir. Klasik tekrarlanan kendilemeler mümkün olsa bile, homozigotinin elde edilmesi bu grup bitkilerde oldukça uzun bir sürede gerçekleşir.
10. Dihaploid bitkilerden oluşturulan saf hatlar kendine ve yabancı döllen türlerde doğrudan çeşit olarak veya hibrit çeşitlerin geliştirilmesinde ebeveyn olarak kullanılabilirler. Dihaploidlerin kullanılması ile tütün, pamuk, buğday, arpa, çeltik, biber ve kavun gibi birçok türde yeni F₁ hibrit çeşitler geliştirilerek kullanıma sunulmuştur.
11. DH hatları mevcut ıslah yöntemlerinin etkinliğini artırma potansiyeline sahiptirler. Dominansi etkisinin kalkması nedeniyle, heterozigot bitkilerin kendilenmiş döllerinin değerlendirilmesinde DH hatları çok güvenlidir. Dihaploid bitkilerin döllerinde bir açılım olmadığı için genotipler arasında çok iyi bir eliminasyon yapılabilir. Ayrıca, eklemeli gen etkisi ikiye katlanır.

Kabak (*Cucurbita pepo* L.) *Dicotyledoneae* sınıfı, *Cucurbitales* takımı, *Cucurbitaceae* familyasının, *Cucurbita* cinsine ait tek yıllık bir bitkidir ve tür bakımından familyanın en zengin bitki grubudur. Kabağın orijin merkezi olarak Çin-Japonya, Endonezya, Hindistan ve Amerika gösterilmektedir. Bazı kaynaklarda, *Cucurbita pepo* ve *Cucurbita moschata* 'nın Amerika, *Cucurbita maxima* 'nın ise Asya

kökenli olduğu söylene de, kabağın ana vatanının Amerika olduğu ve burada M.Ö. 2000’li yıllardan beri yetiştirildiği kabul edilmektedir. Tamamı diploid ($2n=40$)’dır ve iri, turuncu rengi çiçekleri ile tanımlanırlar. İngilizcede kabaklara verilen genel “Squash” adı esasında kızıl derililerin kullandığı “Askutasquash” tan gelir ve bunun anlamı pişirilmeden yenilen ham meyvedir (Günay, 1992). Meyvesi çiğ veya pişmiş olarak tüketildiği gibi, çekirdeklerinden çerez ve parazitatör olarak faydalanmak ve dekoratif meyvelerini süs olarak değerlendirmek amacıyla da yetiştirilmektedir. Ayrıca Akdeniz bölgesinde geleneksel olarak iri çiçekleri kavrularak ve dolma gibi doldurularak da tüketilmektedir.

Meyve şekilleri çok değişken (yuvarlak, yassı, silindirik, eliptik, armut şeklinde, disk şeklinde vb.), aynı şekilde renkleri farklı (yeşil, gri, kırmızı, sarı, turuncu, siyah vb.) ve hatta karışık renkli, benekli, şeritli olanları vardır.

Kabak cins ve türlerini şu şekilde sıralamak mümkündür:

1. *Cucurbita pepo* (yazlık kabak)
2. *Cucurbita moschata* (kışlık bal kabakları)
3. *Cucurbita mixta* (kışlık bal kabakları)
4. *Cucurbita maxima* (kışlık kestane kabakları)
5. *Cucurbita ficifolia* (çok yıllık, kışlık kabaklar)
6. *Luffa cylindrica* (lif kabakları-meyve kesiti daire şeklinde)
7. *Luffa acutangula* (lif kabakları-meyve kesiti yıldız şeklinde)
8. *Lagenaria siceraria* (su kabakları)
9. *Momordica charantia* (acı kavun)
10. *Sechium edule* (şayot)

Bu türlerden kültürü en fazla yapılanı ilk dördüdür ve bu türleri birbirinden ayırt etmeye yarayan bazı özellikler Çizelge 1.1’de sunulmuştur.

Sahip olduğu çeşitli ve uygun iklim koşulları ile kabakgiller familyasına bağlı bir çok türün yetiştirilmesine olanak sağlayan ülkemizde kabak; domates, karpuz, kavun, soğan, hıyar, biber, patlıcan, lahana ve fasulyeden sonra en fazla üretilen sebzedir. 1996 yılı istatistiklerine göre toplam kabak üretimi 380 000 ton civarındadır. Bu üretimin 64 000 ton kadarını bal kabağı üretimi teşkil etmekte olup, yetiştiriciliği

Samsun (6 500 ton) ili başta olmak üzere Sakarya (5 750 ton) ve Konya (5 400 ton) illerinde yoğunlaşmıştır. Yazlık kabak üretimi ise özellikle örtüaltı yetiştiriciliği şeklinde, Antalya (81 000 ton), Hatay (37 000 ton), İçel (34 000 ton) ve Adana (18 000 ton) illerinde; açıkta ise hemen hemen tüm ülke genelinde yapılmaktadır. Ayrıca, Nevşehir ili ve çevresinde 520 ton kadar da çerezlik kabak üretimi yapılmaktadır (Anonymous, 1996).

Çizelge 1.1. *Cucurbita* cinsi içerisine giren önemli türlerin tanılama anahtarı (Blancard ve ark., 1995)

	<i>C. pepo</i>	<i>C. moschata</i> <i>C. mixta</i>	<i>C. maxima</i>
Tohum rengi	Beyaz	Beyaz	Beyaz
Yaprak şekli	Üç parçalı, çok çıkıntılı (loblu)	Üç parçalı, az çıkıntılı	Yuvarlak az çıkıntılı (loblu)
Yaprakta benek	Var	Var	Az
Meyve sapı kesiti	Açılı (5 açılı)	Açılı (5 açılı)	Yuvarlak
Sapın meyveye bağlantısı	Meyveye devamlı	Genişleyen	Daralan
Meyve kabuğu	Parlak	Mat	Parlak
Tüylülük biçimi	Dikensi sert tüylü	Tüylü	Az tüylü

Özellikle örtüaltı sebze yetiştiriciliğinde, hemen hemen tamamı yurt dışından döviz ödenerek ithal edilen hibrit tohumlar kullanılmaktadır. Zira yabancı çeşitlerle boy ölçüşebilecek özellikte olan yerli hibrit sebze çeşitlerimizin sayısı henüz çok azdır (Kaynak ve ark., 1990). Bu nedenle verim, kalite, hastalık ve zararlılara dayanıklı yerli çeşitlerimizi ortaya çıkartmak ve bu çeşitlerden hareketle F₁ hibrit çeşitler elde etmek amacıyla haploidi tekniği ıslah çalışmalarında kolaylıklar sağlayacaktır.

Cucurbitaceae familyasına giren türlerin çiçek yapılarının çok farklı özelliklerde (monoik, andromonoik, gynoik, gynomonoik, hermafrodit) olması ve doğal olarak yabancı döllenmeleri nedeniyle ıslah çalışmaları uzun süre almaktadır (Lower ve Edwards, 1986). Ülkemizde kabak ıslah çalışmalarından birisi, kabuksuz çekirdekli saf bir çeşit geliştirmek üzere 1985 yılında Ankara Üniversitesi Ziraat

Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde başlatılmış ve ümitvar sonuçlar alınmaya başlanmıştır. Ayrıca, ıslah hatları içerisinde seçilen 6 adet kabuklu çekirdekli kabak hattı ile Nevşehir ili Avanos ilçesinde yetiştirilen bir kabuklu çekirdekli kabak popülasyonu ile yürütülen ve 1. döl kademesinin elde edildiği bir diğer ıslah programı da 1993 yılında aynı bölümde başlatılmıştır (**Sandı, 1998**). Sakarya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde ise *Cucurbita maxima* (kestane kabağı)'nın bölgeye has popülasyonlarından seleksiyon yoluyla çeşit elde edilmesine yönelik olarak yürütülen ve 1993 yılında başlayan çalışma 1998 yılında tamamlanmış, elde edilen bir çeşit adayının 1999 Nisan ayında tescil komisyonuna sunulması da planlanmıştır (**Özseven, 1999***).

Cucurbitaceae familyasına giren kabak türünde doğada spontan haploidi oluşumuna rastlanmamıştır. 1987'li yıllara kadar, anter veya ovul kültürleriyle *in vitro* haploid bitki eldesi üzerine yapılan araştırmalarda elde edilen sonuçlar genetik ve ıslah çalışmalarında kullanılabilecek düzeyde olmamıştır (**Chambonnet ve Dumas de Vault, 1985; Shail ve Robinson, 1987**). Ancak, **Metwally ve ark. (1998 a, b)**'nin kabakta anter ve ovul kültürleriyle önemli sayılabilecek miktarda haploid bitki elde ettiklerini bildirmeleri, bu konuda değişik teknikler üzerinde durulması gereğini de ortaya koymuştur. *Cucurbitaceae* familyasının ilk haploidleri hıyarda **Aalders (1958)**, kavunda **Dumas de Vault (1979)** ve karpuzda **Gürsöz (1990)** tarafından elde edilmiştir.

Son yıllarda kabakgillerde gynogenesis yoluyla *in situ* partenogenetik haploid embriyo eldesinden olumlu sonuçlar alınmaya başlanmıştır. Işınlanmış polenlerle tozlama yoluyla *in situ* haploid embriyo uyartımı ve bu embriyolardan *in vitro* bitki eldesi üzerinde yapılan çalışmalarda kavun (**Sauton ve Dumas de Vault, 1987; Savin ve ark., 1988; Sarı ve ark., 1992 a; Maestro-Tejada, 1992; Cuny, 1992; Abak ve ark., 1996**), hıyar (**Troung-Andre, 1988; Sauton, 1989; Niemirowicz-Szczytt ve Dumas de Vault, 1989; Çağlar ve Abak, 1999**) ve karpuz (**Gürsöz ve ark., 1991; Sarı ve ark., 1994**) türlerinde oldukça olumlu sonuçlar alınmıştır.

* S. ÖZSEVEN, sözlü görüşme, 1999, Sakarya Tarımsal Araş. Enst., Sakarya.

Sonuçları sunulan çalışmada, kabakta ışınlanmış polenlerle tozlama yoluyla partenogenetik haploid embriyo uyartımı ve *in vitro* koşullarda kültüre alınan bu embriyolardan bitki elde edilmesi amaçlanmıştır. Haploid bitki eldesi üzerine genotipin, ışın dozunun ve mevsimin etkileri, elde edilen bitkilerin ploidi düzeylerinin belirlenmesinde kullanılabilecek kriterler araştırılmıştır. Ayrıca ışınlanmış polen tekniği yerine geçebileceği düşünülen, türler arası tozlamalar, polenlere kolhisin, toluidin mavisi ve su uygulamaları ile anter ve ovul kültürleri gibi teknikler üzerinde de durulmuştur.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Haploidi ile İlgili Çalışmalar

Blakeslee ve ark. (1922), tarafından *Datura stromonium* bitkisinde yapılan çalışmalar sırasında doğal (spontan) haploidlere rastlandığının açıklanması ile haploidi çalışmaları başlamıştır. Kostoff, 1929 yılında *Nicotiana tabacum*'un ($2n=36$) *N. langsdorfii* ile tozlanmasından haploid bitkiler elde etmiştir (**Sangwan ve Sangwan Norrel, 1990**). Bu ilk bitkilerden sonra, bir çok türde bir yandan spontan olarak ortaya çıkan haploid bitkiler üzerinde çalışılırken, öte yandan da değişik yöntemlerle haploid bitki elde etme çalışmaları yoğunluk kazanmıştır. 1940 ve 1960 yılları arasında haploidlerin uyartımı için türler arası tozlama tekniği geliştirilmeye çalışılmış ise de, çok düşük düzeyde ve düzensiz haploidlerin eldesinden öteye gidilememiştir. Bu arada, haploid eşey hücreleri taşıyan dokular *in vitro*'da kültüre alınarak başarıya ulaşılmaya çalışılmıştır. Her iki cinsiyete ait gametlerle yürütülen bu çalışmalar sonucu, erkek gametlerden hareketle "anter" ve "mikrospor-polen" kültürü, dişi gametlerden hareketle "ovül-ovaryum" ve "embriyo" kültürleri olarak adlandırılan yöntemler geliştirilmiştir.

2.1.1. Anter Kültürleri

Guha ve Maheswari (1964) *Datura innoxia* anterlerinin *in vitro*'da kültüre alınmasıyla fazla miktarda ve düzenli olarak haploid embriyolar elde edilebildiğini bildirmişlerdir. **Bourgin ve Nitsch (1967)** de *Nicotiana* türleri anterlerinden kısa süre içinde (5-7 hafta), çok sayıda, ilk kez normal yeşil renkli haploid bitkilerin elde edilebildiğini göstermişlerdir. Daha sonra biber (**Sibi ve ark., 1979; Abak, 1983; Gémesné ve ark., 1998**), kuşkonmaz (**Doré, 1976**), patlıcan (**Chambonnet ve Dumas de Vaulx, 1985 ve 1988; Karakullukçu ve Abak, 1992 ve 1993 a**), lahana (**Doré ve Bouldard, 1988; Roulund ve ark., 1990**), çilek (**Rosati ve ark., 1975; Quarto ve ark., 1991**), buğday (**Picard, 1984; Hatipoğlu ve ark., 1994**), arpa

(Dale, 1975; Finnie ve ark., 1990; Çelikleş ve Hatipoğlu, 1997) ve çavdar (Wenzel ve Thomas, 1974) gibi çoğunlukla *Solanaceae*, *Graminae* ve *Cruciferae* familyalarına ait olmak üzere pek çok türde anter-polen kültürü uygulamaları yapılmıştır. Anter kültürleri 1970 ve 1980'li yıllarda haploid ve dihaploidlerin eldesinde en çok kullanılan teknik olmuştur. Oldukça başarılı sonuçlar alınan bu teknik sayesinde, günümüzde pek çok türde haploidi yöntemi ıslah programlarında kullanılır duruma gelmiştir (Oinuma, 1977; Doré ve Boulidard, 1988; Kuckuck ve ark., 1991).

Ülkemizde de biberde (Abak ve ark., 1992; Abak, 1993; Abak ve ark., 1998), tütünde (Emiroğlu 1980 ve 1982; Emiroğlu ve ark., 1993b), buğdayda (Hatipoğlu ve ark., 1994) ve arpada (Çelikleş ve Hatipoğlu, 1997) anter kültürü tekniği ıslah programlarına girmiş, ayrıca patlıcan (Karakullukçu ve Abak, 1992 ve 1993a) ve patates (Yıldırım ve ark., 1990)'de olumlu sonuçlar alınmıştır.

2.1.2. Ovül-Ovaryum Kültürleri

Aalders (1958), hıyarda (*Cucumis sativus* L.) monoploid bitki elde etmek amacıyla, olgunlaşmamış devrede hasat ettiği meyvelerin tohumlarını su üzerinde yüzdürme yoluyla ayırarak, su yüzeyinde kalan hafif tohumlarla embriyo kültürü yapmış ve 13 adet monoploid hıyar bitkisi elde etmiştir. *Cucurbitaceae* familyasının ilk monoploidleri olan bu bitkilerden 8 tanesinin büyütülmesine ve kolhisin yardımıyla diploid hale getirilmesine rağmen, bunlardan yeni nesiller elde edilememiştir.

Daha sonraki yıllarda, *Ginkgo biloba* bitkisinde dişi gametten hareketle haploid dokular oluşturulmuş (Tulecke, 1964), *Solanum melongena* ve *Zea mays*'ın yumurtalıklarında haploid hücrelerin bölündüğü gözlenmiş (Uchimiya ve ark., 1971), *Hordeum vulgare* L. x *Hordeum bulbosum* L. arasındaki melezlemelerde de kromozom eliminasyonundan yararlanılarak haploid embriyolar elde edilmiş ve yeni besi ortamları geliştirilerek (Norstog, 1973) *in vitro* kültürde yaşatılmıştır. Ancak bu çalışmaların hiç birinde de haploid dokular ve embriyolar bitki haline dönüştürülememiştir.

In vitro gynogenesisise olumlu cevap veren türlerin büyük bölümü *Gramineae* familyasından olup, döllenmemiş ovaryum kültürleri sonucu dişi kökenli ilk haploid bitkiler de *Hordeum vulgare* 'de elde edilmiştir.

San Noeum (1976), arpada (*Hordeum vulgare*) yaptığı çalışmada aynı çiçekteki çiçek tozlarının gelişme durumuna göre sınıflandırdığı döllenmemiş yumurtalıkları 3 gruba ayırarak *in vitro*'da kültüre almıştır. Gelişmekte olan yumurtalıkları çiçek tozlarının tek çekirdekli olduğu aşamada G₁, iki çekirdekli olduğu aşamada G₂, üç çekirdekli fakat antesisten önceki aşamada G₃ olarak adlandırmıştır. Değişik boylarda kültüre alınan bu üç grup yumurtalıktan G₁ aşamasında olanlar şişkinleşmiş veya az şişkinleşmiş, daha sonra da ölmüştür. G₂ ve G₃ aşamasında olanlar ise % 8-12 sakkaroz içeren ortamlarda yaklaşık % 0.6 oranında haploid bitkiler vermiştir. Bunlar *in vitro* kültürde elde edilen ilk dişi kökenli haploid bitkiler olmuştur.

Yine **San Noeum (1979)**, arpada 4 çeşitte ovaryum kültürü yapmış ve kültüre aldığı ovaryumların % 0.2-1.0'inin bir veya iki, nadiren de sekize kadar bitki verebildiğini belirtmiştir.

Zhu ve Wu (1979), buğday (*Triticum aestivum*) ve tütünde (*Nicotiana tabacum*) tozlanmamış yumurtalıklardan *in vitro* haploid bitkiler elde etmişlerdir. Araştırmacılar, "Chum Hwei No.1" buğday çeşidi ile "Copus Yeusnheku No.4" tütün çeşidini kullanmışlar ve aynı çiçeğin polenlerinin tek çekirdekli olduğu dönemde yumurtalıkları *in vitro*'da kültüre almışlardır. Kültür süresince transfer yapılmaksızın buğdayda kültüre alındıktan 42 gün, tütünde ise 23 gün sonra bitkicikler elde edilmiş, kök ucu kromozom sayımları ile bunların haploid oldukları doğrulanmıştır. Araştırmacılar, ayrıca buğday ovaryumlarından önce kallus sonra bitkicikler geliştirirken, tütünde kallus oluşmaksızın ovaryum içindeki ovüllerden direkt olarak bitkicilerin geliştiğini gözlemişlerdir.

Asselin de Beauville (1980), çeltikte (*Oryza sativa* L.) *in vitro* haploid bitki eldesi üzerinde yaptığı çalışmada, eksplant olarak döllenmemiş yumurtalıkları kullanmış ve gynogenesisin bu türde de başarılı olduğunu göstermiştir. Araştırmacı, farklı ortam pH dereceleri (6.0, 6.4 ve 6.8) ile ortama katılan sakkaroz (% 2, % 3 ve % 6) ve maya özünün etkilerini incelemiş, en iyi sonucun % 6 sakkaroz ile 2 g/l maya

özü bulunduran 6.4 pH derecesindeki ortamdan alındığını belirtmiştir. Bu ortamda haploidi frekansı % 1.3, bunların bitkiye dönüşüm oranları da % 19.4 olmuştur.

Sitbon (1981), *Gerbera jamesonii* bitkisinde döllenmemiş ovüllerin *in vitro* kültürü ile klorofil içeren haploidler elde etmiştir. Değişik ortamları deneyen araştırmacı, en iyi sonucu MS + 2 mg/l BAP veya kinetin + 0.5 mg/l IAA içeren ortamlardan almıştır.

Çeltikte **Zhou ve Yang (1980)**, standart ovaryum kültürü yerine "başakçık kültürü" geliştirmişlerdir. Araştırmacılar, bu yöntemi kullanarak, kültüre aldıkları çeltik çeşitlerinden *japonica* türüne ait 15 çeşidin hepsinden, *indica* türüne ait 4 çeşidin ancak 2'sinden olumlu sonuçlar almışlardır.

Zhu ve ark. (1980) ile **Zhu ve Wu (1981)** tozlanmamış yumurtalıkları *in vitro*'da kültüre alarak haploid bitkicikler elde etme yöntemini erkek kısır tütün hatlarında uygulayarak başarılı sonuçlar almışlardır. Araştırmacılar, haploid bitkiler elde ederek, bunları yeni bitkiler olarak ovaryum kültüründe kullanmışlardır.

Zhu ve ark. (1981) buğdayda biri melez, öteki erkek kısır olmak üzere 5 çeşidin döllenmemiş ovaryumlarını *in vitro*'da kültüre almışlardır. Farklı dozlarda oksin ve sitokinin içeren değişik ortamlar üzerinde kültüre alınan ovaryumlardan haploid bitkiciklerin elde edilme frekansı % 1.95 ve % 6.67 arasında olmuştur. En iyi sonuçlar 0.5 mg/l NAA, 1 mg/l kinetin, 500 mg/l lectalbumin hydrolysate ve 60 g/l sakkaroz ile 6 g/l agar içeren MS temel besi ortamından elde edilmiştir. Ovaryumlar; transfer yapılmaksızın aynı ortam üzerinde gelişerek kallus oluşturmada doğrudan, kuvvetli kök sistemine sahip, sağlıklı yeşil haploid bitkicikler vermiştir. Kardeşler ayrılarak alt kültüre alınmış, bunlardan da yine kardeşlenen yeni ve sağlıklı bitkicikler elde edilmiştir.

Wang ve Kuang (1981)'in arpada yaptıkları ovaryum kültüründe ovaryumların kallus oluşturmada doğrudan doğruya, kuvvetli kök ve sürgün oluşturan bitkicikler geliştirdiği saptanmıştır. Haploid bitki elde etme oranı % 1.3-1.4 arasında değişmiştir. Toprağa şaşırtılan bitkilerdeki kök ucu kromozom sayımları ile bu bitkilerin haploid oldukları doğrulanmıştır.

Compositae familyasına ait türlerden özellikle *Gerbera jamesonii* ve *Helianthus annuus*'da *in vitro* gynogenesis ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. **Sitbon (1981)**, *Gerbera jamesonii* bitkisinde gynogenesis yoluyla haploid bitki eldesi üzerinde çalışmıştır. Araştırmacı, ovaryum kültüründen olumlu sonuç alamamasına karşılık, döllenmemiş ovülleri *in vitro*'da kültüre alarak haploid bitkiler elde etmeyi başarmıştır. Aynı araştırmacı, farklı ortamların haploid oluşumu üzerindeki etkilerini de incelemiş ve 2 mg/l BAP veya 2 mg/l kinetin + 0.5 mg/l IAA içeren MS temel besi ortamının en iyi sonucu verdiğini saptamıştır.

Wu ve Cheng (1982), tütünde döllenmemiş genç yumurtalıkları *in vitro* kültüre alarak haploid bitkiler (n=24) elde etmişlerdir. Haploid bitkiciklerin orijin olarak ya kallus oluşturma safhası geçirmeksizin doğrudan megaspordan veya embriyo kesesi içindeki yumurta hücresinden oluştuğunu, ayrıca kalluslardan embriyoidler, bunlardan da yine bitkiciklerin meydana geldiğini belirtmişlerdir. Temel besi ortamına konulan thiamin, pyridoxine, askorbik asit, nikotinik asit, myoinositol ve folik asit konsantrasyonları artırıldığında *in vitro*'da kültüre alınan ovaryumlardan embriyoid ve embriyonik kallus oluşumunun önemli ölçüde arttığını saptamışlardır. Araştırmacılar, dışsal hormonların ise ovaryumlardan embriyoid oluşumunun teşviki için gerekli, fakat embriyonik kallus teşviki için mutlak gerekli olmadığını belirtmişlerdir.

Dryanovska ve Ilieva (1983), kavunda (*Cucumis melo* L.) organogenesis ve haploidinin teşviki amacıyla anter ve ovül kültürü yapmışlardır. Araştırmacılar, ovülleri plasenta ile birlikte kültüre alarak haploid kallus oluşturmuş ve bunlardan da bir adet haploid bitki elde etmişlerdir.

Truong-Andre ve Demarly (1983), mısırdaki 3 hat ve 2 melez çeşide ait döllenmemiş yumurtalıkları kültüre alarak gynogenesis yoluyla haploid bitki eldesinde genotipin ve mevsimin etkili olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar, denemede kullandıkları 5 çeşitten yalnızca birinden olumlu sonuç alındığını ve uygun mevsimin ilkbahar olduğunu belirtmişlerdir.

Hosemans ve Bossoutrot (1983), şeker pancarında (*Beta vulgaris* L.) erkek kısır 4 genotipin döllenmemiş ovüllerini anthesisden hemen önceki safhada, farklı dozlarda oksin ve sitokininler içeren ortamlar üzerinde kültüre almışlardır. Ovüllerin

bir veya iki ay içerisinde genotip ile kullanılan oksin ve sitokinin konsantrasyonlarına bağlı olarak % 0.2- 4.4 arasında değişen oranlarda, mikropil çevresinde kalluslar veya embriyolar oluşturdıklarını gözlemişlerdir. Araştırmacılar, kültüre alınan ovüllerin yaklaşık % 2.1'inin kallus ve embriyo verdiğini, bunlardan da 17 adet (% 10.9) bitki geliştiğini bildirmişlerdir. Vegetatif olarak çoğaltılıp toprağa şaşırtılan bu bitkilerin bazılarının köklerinde spontan kromozom katlanmaları olduğu ve bitkilerin diploid hale geldikleri saptanmıştır. Araştırmacılar, bu sonuçlara dayanarak haploid bitkilerin elde edilmesi bakımından şeker pancarında, anter kültürü veya türler arası melezlemelerle kıyaslandığında ovül kültürünün daha verimli olduğunu vurgulamışlardır.

Gu ve Cheng (1983), *in vitro* kültüre aldıkları *Lilium davidii* ovaryumlarından 35 adet bitkicik elde etmişler ve bu bitkilerin yaklaşık % 66'sının haploid, % 34'ünün diploid olduğunu saptamışlardır.

Meynet ve Sibi (1984), *Gerbera jamesonii*'de de döllenmemiş ovülleri kültüre almışlardır. İlk erkek çiçek açmadan bir gün önce alınan tablalalardan ovüller çıkarılarak sırasıyla, kallus başlangıcı, transfer, bitkiciklerin gelişimi ve köklenme olmak üzere 4 farklı ortama belirli aralıklarla şaşırtılmışlardır. Araştırmacılar, denemede kullandıkları "Fresultane" çeşidinde kültür başlangıcından itibaren 60 günden daha kısa bir süre içerisinde ve % 4-7 oranında haploid bitkiler elde etmişlerdir. *Gerbera jamesonii*'de haploid bitki eldesinin genotip ve mevsimden etkilendiğini bildiren araştırmacılar, haziran ayında % 4.64 olan haploid bitki eldesi oranının eylül ayında % 7.47'ye yükseldiğini saptamışlardır. Ayrıca, bu yöntemin enginar ve marul gibi diğer *Compositae* familyası türlerine de uygulanabileceğini bildirmişlerdir.

Chambonnet ve Dumas de Vault (1985), kabakta (*Cucurbita pepo* L.) döllenmemiş ovülleri anthesisten 1-2 gün önce kültüre alarak % 4-7 oranında bitkicikler elde etmişlerdir. Araştırmacılar, sitolojik incelemeler sonucunda bitkilerin diploid, haploid-diploid kimeralar ve poliploid gibi değişik ploidi düzeyine sahip olduklarını belirtmişlerdir.

Bossoutrot ve Hosemans (1985), farklı kültür ortamlarının şeker pancarında (*Beta vulgaris* L.) ovül gelişimine etkisini incelemişler, 2 mg/l oksin + 80 g/l sakkaroz

içeren ortamda en yüksek haploid bitki oranını (% 4.4) elde etmişlerdir. Haploid bitki oranı, 4 mg/l 2.4-D + 60 g/l sakkaroz uygulamasında % 0.2'ye kadar düşmüştür.

Bornman (1985), şeker pancarında ovül kültürüyle % 0.3-3 oranında gynogenik embriyolar elde edildiğini ve bu embriyolardan bir kısmının da haploid bitkiye dönüştüğünü bildirmiştir.

Gelebart ve San (1987), ayçiçeğinde *in vitro* gynogenesis üzerindeki çalışmalarında, içerisinde erkek kısır hatların da bulunduğu 8 genotip kullanmışlardır. Araştırmacılar, başlangıçta karanlıkta kültüre aldıkları ve daha sonra regenerasyon için aydınlığa transfer ettikleri ovaryumlardan ortalama % 0.5 oranında bitki elde etmişlerdir. Elde edilen toplam 37 adet bitkiden 20'sinin haploid, 8'inin diploid ve 9'unun da miksoploid ($2n+n$) olduğu belirlenmiştir.

Shail ve Robinson (1987), *Cucurbita pepo* türüne giren kabaklardan 3 çeşitte ovül kültürü yapmışlardır. Araştırmada yalnızca 1 çeşitten kalluslar elde edilmiş fakat bitkiye dönüştürülememiştir. Bu çeşidin *C. ecuadorensis* ile tozlanmasından 24-72 saat sonra çıkarılıp kültüre alınan ovüllerden de (kallus ve kök gelişimi olmasına rağmen) bitki elde edilememiştir. Buna karşılık, olgun meyvelerden çıkarılarak *in vitro*'da kültüre alınan embriyolar türler arası melez bitkiler vermişlerdir.

Kwack ve Fujieda (1988), *Cucurbita moschata*'nın döllenmemiş ovüllerini *in vitro*'da kültüre alarak haploidi uyartımını incelemişlerdir. Araştırmacılar, anthesis safhasında alınarak 2 gün 5 °C 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 embriyoların uygun bir ortama transfer edildiğinde çoğunun kallus oluşturmaya yöneldiği ve anormal morfolojik gelişmeler gösterdiği, sadece birkaç tanesinin normal sürgün ve kök verdiği izlenmiştir. Elde edilen 3 bitkiden birinin diploid ($2n=40$), ikisinin ise tetraploid olduğu saptanmıştır.

Zhang ve Lespinasse (1988), elma (*Malus x domestica* Borkh.) ovüllerini kültüre alarak embriyogenesis üzerinde çalışmışlardır. Araştırmada "Erovan", "Lodi" ve "RI-49" genotiplerine ait çiçek tomurcukları, embriyo kesesinin 8 haploid çekirdekli olduğu balon safhasında toplanmıştır. Eksplant olarak bu tomurcuklardan

çıkarılan ovaryumlar, plasenta ile birlikte ovüller ve izole edilen çıplak ovüller kullanılmıştır. Bu ovüller 12 farklı kombinasyonda hormon ve sakkaroz ilave edilmiş MS temel besin ortamında kültüre alınmışlardır. Her 3 genotipte besi ortamına göre % 0-32 arasında değişen oranlarda kallus oluşturmuş, MS mikro ve 1-2 MS makro tuzlar + NN vitaminler + 1.0 mg/l 2-4, D + 2.0 mg/l BA içeren % 10 sakkaroz ilave edilmiş ortamlar üzerinde kültüre alınmış, "RI-49" ovüllerinden iki adet embriyo benzeri yapılar elde edilmiştir. Ancak bu "embriyoidler" bitkiye dönüştürülememiştir.

In vitro ovaryum ve ovül kültürleri üzerinde çalışan birçok araştırmacı, genotipin etkisine dikkat çekmiştir.

Yan ve ark. (1988), ayçiçeğinde farklı genotiplerin *in vitro* gynogenesis tepkilerini inceleyerek, denemede kullandıkları 12 çeşidi, gynogenesis yanıt verenler, tepkisiz fakat somatik kallus oluşturanlar ve her ikisine de yanıt vermeyenler olmak üzere 3 grupta sınıflandırmışlardır. Ayrıca, kültüre alınan ovüllerin karanlıkta tutulmasının gynogenesisi teşvik ettiğini, buna karşılık somatik kallus oluşumunu engellediğini belirtmişlerdir.

He ve Yang (1988), kültüre alınan çeltik ovaryumlarının karanlıkta tutulmasının, aydınlık ortamlara göre daha olumlu sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, embriyolojik gözlemler sonucu, 12 saatlik aydınlatmanın (800 lüks aydınlatma) gynogenik proembrioların ciddi dejenerasyonuna neden olduğunu, bir aylık süre içerisinde bu embriyoların tamamen abort hale geldiğini saptamışlardır.

Doctrinal ve ark. (1989), şeker pancarında *in vitro* gynogenesis üzerine mevsim, genotip, sıcaklık ve bitki büyüme düzenleyicilerin etkilerini araştırmışlardır. Denemede kültüre alınan ovüller kalite ve kantite açısından en iyi sonucu 2.85 ppm IAA, 0.88 ppm BAP veya 2.3 ppm kinetin içeren N6 ortamında vermişlerdir. Ovüllerden embriyoların gelişimi için 27 °C'nin 24 °C'ye göre daha uygun olduğunu bildiren araştırmacılar, yaz ayları içinde de haziranın en uygun dönem olduğunu bildirmişlerdir. Genotipin etkisinin belli ortamlar için önemli olduğu bulunan araştırmada, kültüre alınan ovüllerden genotipe bağlı olarak % 6-10 oranında bitki elde edilmiş ve bu bitkilerin % 81'inin haploid olduğu saptanmıştır.

Tien ve Yang'a göre (Yang ve Zhou, 1990), poliembriyonik türler içerisinde yer alan ve "antipodal apogami"nin görüldüğü tek örnek olan *Allium tuberosum*'da ovaryum kültürleriyle döllenmemiş yumurta hücresinden haploid bitkilerin elde edildiği gibi, antipodal hücrelerden de haploidler elde edilebilmektedir. Araştırmacılar, genellikle ortadaki antipod hücresinin bitkinin yumurta hücresine benzediğini ve yumurta hücresi benzeri antipodal hücreden de haploid bitki elde edildiğini bildirmişlerdir.

Keller (1990 a), *Allium* cinsine giren soğan (*Allium cepa* L. var. Stuttgarter Riesen, Carmen, Karatański, Copra ile bazı diğer hatlar), pırasa (*A. porrum* L.), şalot (*A. phoenoprasum*) ile *A. altaicum* ve *A. fistulosum* gibi bazı türlerde ovül, ovaryum ve çiçek tomurcuğu kültürleri ile başarılı haploidi çalışmaları yapmıştır. Soğan türünde *in vitro*'da kültüre alınan ovüllerden, genotiplere göre % 0.08-0.58 arasında değişen oranlarda doğrudan embriyo gelişimi ile bitkicikler oluşmuştur. Ovaryum kültürlerinde ise sadece kallus gelişimi olduğunu bildiren araştırmacı, öteki *Allium* türlerinde yalnızca kallus gelişimini sağlayabilmiş, bitki elde edememiştir. Aynı araştırmacı, soğanda elde edilen bu bitkilerin tümünün haploid kromozom taşıdığını ve morfolojik olarak da diploidlerden daha küçük olduğunu söylemiştir.

Keller (1990 b), soğanda tozlanmamış ovaryum kültürü yaparak haploid eldesinde başarılı olmuştur. Araştırmacı, geniş bir genotip spektrumunda yaptığı çalışmada elde ettiği 457 rejenerantın 164'ünde ploidi durumunu incelemiş ve % 62.2'sinin haploid, % 31.7'sinin diploid ve % 6.1'inin de miksploid olduğunu saptamıştır. Kültürdeki gelişimin erken döneminde "dev çekirdek" oluşumu, kallus oluşumu ve vitrifikasyon görüldüğü, düşük düzeydeki bu oluşumlarla birlikte dejenerasyonun olduğu belirlenmiştir.

Gussakovskaya ve Najar (1990), buğdayda 8 çeşitte döllenmemiş ovül ve ovaryum kültürü yaparak *in vitro* embriyo kesesi gelişimini incelemişlerdir. Morfolojik analizler sonucu, gelişmenin erken döneminde kültüre alınan ovüllerin *in vivo* embriyo kesesi oluşumu gibi normal embriyo kesesi oluşturdıkları saptanmıştır. Ayrıca araştırmacılar, sadece tozlanmadan önce tüm olarak alınan çiçeklerin, başlangıçta hormonsuz sıvı MS ortamı üzerinde ve karanlıkta kültüre alınması ve daha sonra 0.5

mg/l IAA, 0.25 mg/l NAA, 1.2 mg/l kinetin ve % 3 sakkaroz içeren katı MS ortamına şaşırtılmasıyla % 2-3 oranında haploid bitkicikler elde edildiğini bildirmişlerdir.

Katoh ve Iwai (1990), tütünde tozlanmamış ovüllerin doğrudan sakkaroz içeren besi ortamlarında kültüre alındığında kallus vermediğini gözlemişler ve kallus oluşumunu teşvik eden yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Anthesisten önce alınan çiçek tomurcuklarından çıkarılan ovüller, kallus gelişimini teşvik amacıyla plasental dokularla birlikte saf su içinde 35 °C'de 3 gün süre ile kültüre alınmıştır. Daha sonra 2 mg/l kinetin, 0.5 mg/l MCPA, % 5 sakkaroz ve % 0.2 gellangum içeren katı SK ortamlarına transfer edilen ovüllerin her biri yaklaşık 6 hafta sonra, 6-10 kallus oluşturmuştur. Bu kalluslar sürgün oluşum ortamına transfer edildikten sonra bitkicikler oluşturmuştur. Sitolojik incelemelerde 16 bitkiden 2'sinin haploid, diğerlerinin diploid olduğu saptanmıştır.

Seman ve Farago (1990), şeker pancarında haploid bitkiler elde etmek amacıyla ovül kültürü yapmışlardır. Anthesisten önce alınan çiçek tomurcuklarından izole ettikleri ovülleri kültüre alan araştırmacılar, 1-2 ay içerisinde ovüllerin ortalama % 2'sinden kalluslar, şekilsiz oluşumlar ve embriyolar meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bu yapıların rejenerasyonundan genotiplere bağlı olarak % 0-9.7 arasında değişen oranlarda (ortalama % 1.3 oranında) haploidler elde edilmiştir. Araştırmada, yöntemin başarısında donör bitkinin genotipi ve kültür ortamının yapısının çok etkili olduğu, donör bitkinin büyüme koşullarının, ovülün gelişme safhasının ve ovüller çıkarılmadan önce tomurcuklara uygulanan 4 °C'lik ön uygulamanın etkisinin ise çok az olduğu ya da hiç etkilemediği belirlenmiştir. Aynı kültürdeki somatik dokulardan meydana gelen kalluslarda hiçbir rejenerasyon olmazken, ovüllerden elde edilen kalluslardan bitkilerin geliştiği görülmüştür.

De Wit ve ark. (1990), Gerbera'da ovül kültürü yoluyla haploid klonlar eldesi üzerinde çalışmışlardır. 15 çeşide ait ovülleri 3 değişik protokole göre kültüre alan araştırmacılar, kullanılan protokole göre ortalama % 0-5 arasında değişen frekansta ve tüm çeşitlerde bitki rejenerasyonunu sağlamışlardır. Bu rejenerasyonda mevsimin ve genotipin etkili olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, klasik kendileme yoluyla kendilenmiş hatların eldesinin mümkün olmadığı gerberada saf hatların üretimi için tek

yolun haploidi tekniği olduğunu söylemişlerdir.

Honkanen ve ark. (1991)'nın Gerberada yaptıkları çalışmada 15 hattın, çiçeklenmenin iki farklı safhasında toplanan çiçeklerden ovaryumlar çıkarılmış, bunların içinden ovüller izole edilerek 3 farklı işleme göre *in vitro*'da kültüre alınmıştır. Araştırmacılar, kullanılan bütün hatlardan bitki elde edilmesine rağmen genotiplerin değişik kültürel işlemlere tepkilerinin farklı olduğunu söylemişlerdir. Çiçeklenme safhasının önemli olmadığı ve çiçek gelişimi için ışıklandırma şartlarının en uygun olduğu haziran-eylül döneminde en iyi sonucun elde edildiği vurgulanmıştır. Araştırmacılar, elde edilen bitkilerin % 90'ının haploid, % 10'unun diploid olduğunu; bir ana bitkiden farklı renk ve şekillere sahip ve daha küçük çiçekli, yaprak morfolojileri değişik haploidler oluştuğunu söylemişlerdir.

Özzambak (1992), pırasada ovaryum kültürü yapmış, 3 değişik besi ortamı (MS, Gamborg, Nitsch) ve iki farklı sakkaroz (% 6 ve % 12) ile sitokinin (4 ve 8 mg/l 2IP) düzeyinin Carino ve Farinto çeşitlerinde haploidi uyartımına etkilerini incelemiştir. Anthesisten 3-5 gün önce alınan çiçeklerden ovaryumların çıkarılarak birkaç yerinden yaralanıp kültüre alındığı araştırmada, Carino çeşidine ait ovaryumların en iyi gelişmeyi gösterdiği saptanmıştır. Araştırmacı, ovaryumların en iyi gelişmeyi % 6 sakkaroz ve 4-8 mg/l 2IP eklenen MS ortamında gösterdiğini bildirmiştir. Aynı araştırmacı, ovaryumlardan meydana gelen bitkiciklerin, ovüllerden değil de ovaryum duvarından veya plasenta dokusundan kaynaklandığını ve diploid olduğunu söylemiştir.

Metwally ve ark. (1998 b), anthesisten bir gün önce aldıkları Eskenderany F₁ hibrit çeşidine ait dişi çiçeklere 0, 2, 4 ve 8 gün süreyle +4 °C sıcaklıkta soğuk uygulaması yapmışlardır. Bu çiçeklerden çıkarılarak, 0.1, 1.0, 5.0 ve 10.0 mg/l 2,4-D ile modifiye edilmiş 30 g/l sakkaroz ve 8 g/l agar içeren MS ortamında kültüre alınan ovüller, 16 saat fotoperiyodu ve 25 °C sıcaklığı olan iklim odasında 4 hafta süreyle tutulmuşlardır. Ovüller bu sürenin sonunda hormon içermeyen MS ortamına alınmış ve burada 4 hafta daha tutulmuşlardır. En iyi sonuç soğuk uygulaması yapılmamış dişi çiçeklerden alınan ovüllerin, 1 veya 5 mg/l 2,4-D içeren MS ortamında kültüre alınmasıyla elde edilmiştir. Sitolojik inceleme sonuçlarına göre, elde edilen bitkilerin

1/3'ü haploid ($n=x=20$), diğerleri ise diploid ($2n=2x=40$) olarak bulunmuştur.

2.1.3. Eksik veya Yetersiz Polenlerle Tozlama

Ovül ve ovaryum kültürleri üzerindeki çalışmaların yoğunlaşması ve dişi gametlerin *in vitro*'da kültüre alınarak haploidlerin elde edilmesinin bazı türlerde düşük frekansta bulunması, polenlere yapılacak bazı uygulamalarla haploidlerin elde edilme frekansının artırılmasıyla ilgili çalışmaların da yoğunlaşmasına yol açmıştır. Eksik veya yetersiz polenler kullanılarak partenogenetik embriyo elde etme ve bunları bitkiye dönüştürme çalışmaları 1965'li yıllarda başlamıştır.

Rogers ve Ellis (1966), *Vinca rosea* L. türünde çiçek tozu çim borusu generatif çekirdeğinin bölünmesi üzerine kimyasalların etkilerini inceledikleri araştırmalarında, polenleri 1-30 dakika arasındaki sürelerde 0-500 ppm arasındaki konsantrasyonlarda toluidin mavisi çözeltisinde tutmuşlardır. Uzun süre (20-30 dakika) ve yüksek konsantrasyonlardaki (500 ppm) uygulamalarda çiçek tozu generatif çekirdeklerinde bölünme oranı oldukça düşmüş ve çim borusu uzunluğu oldukça azalmıştır.

Montelongo-Escobedo ve Rowe (1969), patates (*Solanum tuberosum* L.) polenlerine kolhisin uygulayarak bu polenlerle yapılan tozlamaların haploid oluşum frekansı üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, Merrimack çeşidini ana, tozlama yeteneği yüksek *Solanum phureja* ile tozlama yeteneği zayıf *S. tarijense* ve *S. multidissectum*'u baba ebeveyn olarak kullanmışlardır. Tüm uygulamalarda meyve tutumunun azaldığı, elde edilen tohumlar ekildiğinde ise çoğu melez olan bitkilerin yanında haploidlerin de mevcut olduğu saptanmıştır. 100 tohuma düşen haploid bitki sayısı 0.5-4.0 arasındaki değerlerle en fazla *S. phureja* polenlerinin % 0.01 kolhisin + 50 ppm borik asit + % 10-20 sakkaroz çözeltisine bandırılmasıyla elde edilmiştir. *S. tarijense*'den yine aynı uygulamalarda % 7.7-10.8 haploid bitki alınmıştır. *S. tuberosum* bitkilerinin *S. phureja*'nın çiçek tozlarıyla tozlanması sonucunda % 3.9 haploid bitki elde edilmiştir.

Dumas de Vault (1979), kavunu (*Cucumis melo* L.) ($2n=24$), *Cucumis ficifolius* ($2n=4x=48$) ile tozlayarak türler arası melezlemeler yapmıştır. Araştırmacı, polenlerin çim borusu gelişimini uyarmak amacıyla, stigmalarını yüzeysel olarak bistürü ile kestiği dişi çiçekleri kavun polenleri ile de tozlamış ve meyveler elde etmiştir. Meyvelerden çıkarılan tohumlar ekildiğinde melez bitki çıkmadığı, buna karşılık daha küçük boyutlu bitkilerin geliştiği görülmüştür. Araştırmacı, bu bitkilerde yaptığı kromozom sayımları sonucu, bunların haploid yapıda olduklarını; haploidi oranlarının ise ilkbahar aylarında % 0.284, sonbaharda ise % 0.070 olduğunu bildirmiştir.

Zagorcheva ve ark. (1987), *Cucumis ficifolius*'un ($2n=24$) izole edilen dişi çiçeklerini *C. sativus* ($2n=14$) veya *C. melo* var. *flexuosus*'un çiçek tozları ile tozlamışlar ve 8 bitki elde etmişlerdir. Bu bitkilerin birisinde yapılan kromozom sayımında, bitkinin $n=12$ kromozom taşıdığı (haploid olduğu) görülmüştür. Diploidlerine göre daha yavaş geliştiği görülen bu haploid bitkilerde yaprakların küçük ve daha parçalı, açan dişi ve erkek çiçeklerin küçük, çiçek saplarının daha kısa olduğu ve taç yapraklarının altta birleşmediği belirlenmiştir. Bu haploidlerde kendileme yapıldığında meyve elde edilemezken, *C. sativus* çiçek tozlarıyla tozlandığında çiçeklerin % 80'inin meyve bağladığı ve bu meyvelerdeki tohum sayısının ortalama 3.5 adet olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar, tohumların steril bir ortamda açılmasına ve tohum hacminin ancak yarısını kapladığı görülen embriyoların *in vitro*'da kültüre alınarak bitkiye dönüştürülmüş olmasına rağmen, enfeksiyonlar nedeniyle bu bitkilerin yaşatılamadığını bildirmişlerdir.

Custers ve Bergervoet (1988), hıyar (*Cucumis sativus* L.) x kavun (*Cucumis melo* L.) melezinden bir kaç adet kallus elde etmelerine rağmen, bunlardan bitki regenerasyonu sağlayamamışlardır. Bu tekniğin, polenlere gama ışını, kolhisin, kafein veya p-flor fenil alanin gibi maddeler uygulayarak yapılan tekniklere göre daha az umutlu olduğunu bildirmişlerdir.

Chen ve Hayes (1991), arpada "Klages" çeşidinin başakcıklarını *H. bulbosum* polenleri ile tozladıktan bir gün sonra *in vitro*'da kültüre almışlardır. Araştırmacılar, N6 temel besi ortamına katılan 2,4-D, GA₃ ve kinetin tek tek veya kombinasyonlarının *in vitro*'da tohum büyümesi, embriyo gelişimi ve "haploid üretim

tekniki" (tohum/100 başakcık; embriyo/100 tohum; bitki/100 embriyo) üzerine etkilerini incelemişlerdir. Kinetinin tek başına kullanıldığı ortam hariç, bütün uygulamalarda oksin ve sitokininlerin kullanılmadığı kontrole göre, daha çok tohum ve daha fazla embriyonun (100 tohumda) elde edildiğini bildirmişlerdir. Araştırmada, kültüre alınan başakcıklardan elde edilen bitki sayısının (bitki/100 başakcık) ölçü olarak kabul edildiği "Haploid Üretim Etkinliği" (HÜE) açısından 2,4-D yalnız olduğunda GA₃'e göre çok üstün olduğu, Kinetin + 2,4-D+GA₃ kombinasyonunda çok fazla tohum ve embriyo verdiği, ancak "HÜE" açısından 2,4-D'nin üzerine çıkamadığı gözlenmiştir. Araştırmacılar, bulbosum yöntemi kullanılarak arpada haploid bitki eldesi amacıyla yapılan *in vitro* başakcık kültüründe kullanılan N6 temel besi ortamına 1.2 mg/l 2,4-D ya da 0.5 mg/l kinetin + 1.2 mg/l 2,4-D'nin katılmasını önermişlerdir.

Doré ve ark. (1996), şikori (*Cichorium intybus* L.)'yi *Lactuca tatarica* ve *Cicerbita alpina* Walbr. polenleri ile tozlayarak ovüllerden bazı embriyolar elde etmişler ve bu embriyoları *in vitro*'da kültüre alarak bir kaçıncı bitkiye dönüştürmüşlerdir. Flow sitometrik ve sitolojik analizler neticesinde bitkilerin haploid (n=9) oldukları belirlenmiştir.

Metwally ve ark. (1996), *Cucurbita pepo*'yu yabani bir tür olan *Cucurbita martinezii* ile tozlamış, olgunlaşmamış dönemdeki embriyoları 0.01 mg/l IAA ve 0.1 mg/l Kinetin içeren MS ortamında kültüre alarak bitkiler elde etmişlerdir. Yapılan isozymes elektroforetik ve albumin parmak izi testleri sonucu bitkilerin melez oldukları, ana ve baba bitkilerin özelliklerini taşıdıkları belirlenmiştir. Kromozom sayımları da bitkilerin diploid (2n=40) yapıda olduklarını doğrulamıştır. Karyotipik analizler sonucunda bitkilerin biri anadan, diğeri babadan gelen 2 grup kromozoma sahip olduklarını göstermiş ve elde edilen bitkilerin tümü, *Cucurbita martinezii* gibi, hiyar mozaik virüsüne ve küllemeye karşı dayanıklı olmuşlardır.

1950'li yıllardan itibaren iyonize radyasyonların bitkilerde deneysel olarak uygulanması ile ilgili oldukça yoğun çalışmalar yapılmıştır (**Sparrow, 1961**). Bu çalışmaların bir çoğunun bitkilerde mutasyon yaratma amacına yönelik olduğu ve değişik kaynaklı ışınların farklı dozlarının, yüzlerce bitki türünün çeşitli organlarına (polenler, tomurcuklar, tohumlar ve generatif organlar, tüm bitki vb.) uygulandığı

görülmüştür (Mackey, 1961; Brunner, 1990; Yıldırım, 1981; Werry, 1981; Walther ve Preil, 1981; Shcherbakov, 1991; Filev, 1981; Donini, 1991).

1980'li yıllarda başlayan çiçek tozlarına ışın uygulanması çalışmalarıyla haploid oluşum sıklığının artırılması konusunda başlangıçta olumlu sonuçlar alınmadığını bildiren Brunner (1990), çiçek tozlarına iyonize radyasyonların etkilerini şu şekilde sıralamıştır.

- çiçek tozu çimlenmesinin zayıflaması
- gametlerin oluşumunun azalması
- çiçek tozu çim borusunun ovüle penetre olamaması
- normal endosperm gelişmesinin olmaması
- olgun tohum ve fidelerde canlılığın azalması

Custer ve Den Nijs (1983) ışınlanmış polenler kullanarak *Cucumis* türleri arasında tozlamalar yapmışlardır. Araştırmacılar, baba ebeveyn olarak *C. zeyheri* ile *C. metuliferus*'un polenlerini, ana ebeveyn olarak da *C. metuliferus* Nand'i kullanmışlardır. Işınlama dozu olarak 0, 1, 2, 3 kGy uygulanmış; tozlamalar 22 Haziran-7 Temmuz tarihleri arasında yapılmıştır. Araştırmacılar, tozlamada *C. zeyheri*'nin normal polenleri ile ışınlanmış ve ışınlanmamış polenlerini karıştırarak kullanmışlardır. Sonuçta *C. zeyheri*'nin normal polenleri ile yapılan tozlamalarda meyve tutumu olmazken, öteki uygulamalarda elde edilen meyvelerin ağırlığının ışın dozu yükseldikçe azaldığı; 0 kGy dozunda 200 ovül/meyve oranının, 3 kGy dozunda 40 ovül/meyve oranına düştüğü saptanmıştır. Araştırmacılar, ışınlanmış polenlerle tozlamadan elde edilen embriyoların gelişmemesine karşın, ışınlanmış + ışınlanmamış polenlerle çift tozlama yapıldığında elde edilen çok sayıda embriyonun bitkiye dönüştüğünü de bildirmişlerdir.

Custers ve Bergervoet (1984); 0, 10, 100 ve 1000 Gy dozlarında gama ışını uyguladıkları *Cucumis melo* var. Noy Yizrael polenleri ile *Cucumis sativus* var. *hardwickii*'yi tozlamışlardır. Tozlamadan 3 hafta sonra meyveleri hasat eden araştırmacılar, endospermli embriyo taşıyan ovül sayısı ile embriyo ve endosperm boyutlarını incelemişlerdir. 10 Gy dozundaki uygulama, kontrol polenleri ile yapılan uygulamalardan farklı sonuçlar vermezken, ışın dozu yükseldikçe ölçülen

parametrelerde düşüşler olmuştur.

Sanford ve ark. (1984), ışınlanmış polenlerle tozlama yoluyla mısırdaki haploid bitki elde etmeyi amaçladıkları çalışmalarında; 20, 30, 40, 80 ve 100 kRad dozlarında Co^{60} kaynaklı gama ışını kullanılarak ışınlanan polenlerle yapılan tozlamalardan hiç tohum elde edilemezken, ışınlanmış polenlerin ana ebeveynin ışınlanmamış polenleriyle karıştırılarak yapılan tozlamalardan ve ışınlanmamış ana ve baba ebeveyn polenleriyle yapılan tozlamalardan tohum alınabilmektedir.

Raquine (1986), *Petunia hybrida*'nın değişik genotiplerinde ışınlanmış polenlerle tozlama yaparak haploid bitki eldesine çalışmıştır. 60-1800 Gy arasında değişik ışın dozları uygulanmış polenlerle 4 genotipe ait bitkilerde tozlamalar yapan araştırmacı, meyveler içerisinden ovaryumları çıkararak *in vitro*'da kültüre almıştır. 300 Gy'e kadar olan dozlarda yalnızca diploid hibritler oluşmuş, haploid bitkiler ise 500-1800 Gy dozları arasında elde edilmiştir. Araştırmacı, polenlerin yüksek dozda ışınlanması ve ovaryumların *in vitro*'da kültüre alınmasının haploid petunyalarda üretilmesinde en etkili teknik olduğunu bildirmiştir.

Sauton (1987), kavunda ışınlanmış polenlerle tozlama yoluyla haploid parthenogenesis uyartımını gerçekleştirmiş ve kavunda normal döllenmenin olmaması için 30 kRad'dan daha yüksek dozların kullanılması gerektiğini bildirmiştir. Araştırmacı, tozlamadan 3-5 hafta sonra hasat edilen meyvelerde, 100 tohumdaki haploid embriyo sayısının ışın dozunun artışına bağlı olarak arttığını ve 3'e ulaştığını söylemiştir. Aynı araştırmacı, elde ettiği haploid embriyoların aynı yaştaki normal diploid embriyolardan farklı özellikte olduğunu; bu embriyolardan uygun kültür ortamı üzerinde bitkiler elde ettiğini ve bu bitkileri *in vitro* çelikleme ile çoğalttığını bildirmiştir. Araştırmacı ayrıca, *in vitro* kromozom katlamalarında çeliklerin 5 g/l kolhisin solüsyonuna 2 saat süreyle bandırılmasının en iyi sonucu verdiğini söylemiştir.

Rode ve Dumas de Vault (1987), ışınlanmış polenlerle *in situ* haploid embriyo uyartımı tekniğini havuç (*Daucus carota* L.) türünde uygulamışlardır. Araştırmacılar, ana ebeveyn olarak Cécile ve erkek kısır özelliği bulunan Tino çeşitlerini; ışınlanmış polen kaynağı olarak ise Touchon ve yine Tino çeşitlerini kullanmışlardır. Polenlere Co^{60} kaynaklı 300-500 Gy dozlarında gama ışını uygulanmıştır. Yalnızca

300 Gy dozda ışınlanan çiçek tozlarının çimlenip embriyo kesesine ulaştığı saptanan araştırmada, bu polenlerle yapılan tozlamadan 15 gün sonra yumurtalıklar kültüre alındığında, Cécile'de 30, Tino'da 34 gün sonra birer embriyo görülmüştür. Araştırmacılar, bu embriyoların doğrudan bitkiye dönüşemediğini, zayıf kallus ve çok sayıda somatik embriyolar geliştirdiğini ve bir alt kültüre transfer edildiklerinde her iki çeşitten toplam 173 bitki elde edilerek bunların kromozom sayımı ($n=9$) ve stoma uzunluğu ölçümleri (diploidde 19.7 μm iken, bunlarda 15.2 μm) sonucu haploid olduklarının doğrulandığını bildirmişlerdir.

Sauton ve Dumas de Vaulx (1987); 10, 30 ve 100 kRad dozlarında Co^{60} kaynaklı gama ışını uyguladıkları Védreantais kavun çeşidi polenleriyle Arizona ve Virka kavun çeşitlerini tozlamışlardır. Araştırmacılar, ışın dozlarının ve dişi çiçeklerin 2 veya 4 erkek çiçekle tozlanmasının meyve tutumu ile haploid embriyo verimine, meyve başına tohum sayısı ile globüler ve yürek şeklindeki embriyo sayı ve yüzdelerine etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada, ışınlanmış polenlerle tozlanan çiçeklerin % 35'i meyve bağlamış ve henüz olgunlaşmamış olan (3-4 haftalık) bu meyveler hasat edilmiştir. 10 kRad ışın dozunda % 0.3 diploid, % 0.8 haploid embriyo, 30 ve 100 kRad dozlarında ise sırasıyla % 1.8 ve % 1.6 oranında sadece haploid embriyolar (globüler ve yürek) oluştuğu gözlenmiştir. Araştırmacılar, bir dişi çiçeğin iki adet ışınlanmış erkek çiçek tomurcuğu ile tozlandığında ortalama %1.81 olan haploid embriyo oranının, tozlamada 4 çiçek tomurcuğu kullanıldığında önemli ölçüde artarak ortalama %2.54'e yükseldiğini bildirmişlerdir. Meyve başına tohum sayısı da yine 4 adet çiçek tomurcuğu kullanımıyla 2 adete göre önemli ölçüde yükselmiştir.

Sauton (1988), kavun türünde ışınlanmış polenlerle uyartım yoluyla gynogenetik haploid embriyo eldesi üzerinde genotip ve mevsimin etkisini incelemiştir. Araştırmacı, mevsimin etkisini incelediği çalışmada, mart-ekim ve şubat-haziran dönemlerinde cam serada yetiştirdiği bitkilerden *Cucumis melo* var. *cantalupensis*'e giren Arizona ve Virka çeşidinin bitkilerini, Védreantais çeşidinin 300 Gray dozunda ışınlanmış polenleriyle tozlamıştır. En iyi sonuçlar, 100 tohumdaki embriyo oranının yaklaşık 2.6-2.9 arasında olduğu 10 Haziran-15 Eylül döneminde alınmıştır. Genotipin etkisinin incelendiği çalışmada, 7 farklı genotip kullanılmış ve her genotipten 100

tohum açılmıştır. Bütün genotiplerden haploid embriyolar elde edilmiş ve bunlar *in vitro*'da kültüre alınarak bitkiye dönüştürülmüştür. Araştırmacı, en yüksek haploidi oranını % 0.17 ve % 0.16 ile sırasıyla Arizona ve Védreantais çeşitlerinde bulmuştur.

Sauton (1989)'nın ışınlanmış polenlerle tozlama yoluyla kornişon tipi hıyarlarda gynogenetik haploid eldesi üzerinde yaptığı bir başka çalışmada, polenlere Co^{60} kaynaklı 300-1000 Gray arasındaki dozlarda gama ışını uygulanmıştır. Tozlamadan 3 hafta sonra hasat edilen meyvelerde normal tohum kabuklarının oluştuğu, ancak içlerinin boş olduğu görülmüştür. Sadece bir meyvede çok az sayıdaki tohumların içerisinde haploid bir embriyo ya da yalancı endosperm veya dumura uğramış bir embriyoya benzer oluşumlar taşıdıkları belirlenmiştir. Embriyo ile endospermin aynı tohum içerisinde bir arada kesinlikle bulunmadığı ve bazı embriyolar henüz globüler, yürek veya torpedo safhasında iken, diğer bazı haploid embriyoların kotiledon safhasına ulaştığı saptanmıştır. Elde edilen haploid bitki oranı 1000 tohumda 3 adet olmuştur. Bu arada, normal polenlerle tozlama sonucu tohumların ancak % 30-60'ının dolu olduğu gözlenmiş ve bu oran dikkate alınarak, döllenmeye hazır ovüllerin sayısına göre hesaplandığında gynogenetik bitkilerin gerçek oranının % 1 olduğu bildirilmiştir. Haploid hıyar bitkilerini *in vitro* mikro çelikleme ile başarıyla çoğaltan araştırmacı, birkaç mikroçeliklemeden sonra kök meristemlerinde kendiliğinden diploidleşmelerin sıkça görüldüğünü, ancak bitkilerin haploid kalmaya devam ettiğini bildirmiştir. Haploid bitkiler toprağa şaşırtıldıklarında normal ve hızlı bir şekilde büyümelerine rağmen diploidlerden farklı olarak çiçeklerinin daha küçük ve taç yapraklarının alt kısımlarından bileşik olmadığı gözlenmiştir. Araştırmacı haploid çeliklere *in vitro* kolhisin uygulaması ile kromozom katlaması yapmış ve bu diploid bitkilerden normal fertil polenler ile normal tohumlar elde ettiğini söylemiştir.

Niemirowicz-Szczytt ve Dumas de Vaulx (1989), Polan F₁ hıyar çeşidini 300-900 Gray dozlarında Co^{60} kaynaklı gama ışını ile ışınlanmış polenlerle tozlamışlar ve normal polenlerle yaptıkları tozlamaları da kontrol olarak kullanmışlardır. Işınlanmış polenlerle yapılan tozlamalarda meyve tutum oranı % 50-60, meyve başına ortalama tohum sayısı 250 adet olmuş ve tohumlarının çoğunun içinin boş olduğu saptanmıştır. Kontrol polenleriyle yapılan tozlamalarda ise, meyve tutum oranı % 100,

meyve başına tohum sayısı ortalama 400 adet ve tohumların hemen hepsinin normal embriyolar içerdiği görülmüştür. Tozlamadan 20 gün sonra hasat edilen meyvelerden alınan tohumlardan, sadece 300 Gray dozunda, ışınlanmış polenlerle tozlananlarda 13 adet yürek ve kotiledon gibi değişik safhalarda embriyolar bulunmuştur. Kontrole göre daha küçük olan bu embriyoların renk, pozisyon ve boyut bakımından anormal kotiledonlara sahip oldukları ve ileri gelişme döneminde de anormallikler gösterdikleri saptanmıştır. *In vitro* 'da kültüre alınan bu 13 embriyodan 8'i bitkiye dönüşmüş, bu bitkilerden 4'ünün kök ve gövde meristemlerinde yapılan kromozom sayımlarında haploid oldukları, ancak daha sonraki mikroçoğaltım safhası sonrasında, yeni kök meristemlerindeki bazı hücrelerde spontan kromozom katlamaları olduğu gözlenmiştir.

Doré (1989), beyaz baş lahanada (*Brassica oleraceae* L.) haploid bitki elde etmek amacıyla, ana ebeveyn olarak kullandığı 4 çeşidi 200-1200 Gray arasında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerle, kontrol için de normal polenlerle tozlamıştır. Tozlamadan 15-22 gün sonra, olgunlaşmamış meyvelerden ovüller çıkarılıp *in vitro* 'da kültüre alınmış ve iki hafta sonra bu ovüller içerisindeki embriyolar çıkarılarak yeni ortama dikilmişlerdir. Normal polenlerle tozlananlarda (kontrollerde) embriyoların % 90'ı bitkiye dönüşürken, bu oran ışınlanmış polenlerle tozlananlarda % 10-49 arasında olmuştur. Toprağa aktarılan ve yaşayan, ancak bir çoğunda morfolojik gelişme bozuklukları görülen bitkilerin çoğunluğunun 600 Gray ve daha yüksek ışın dozlarındaki uygulamalardan geldiği saptanmıştır. Araştırma sonucunda, biri 800 Gray, öteki de 1200 Gray dozlarıyla ışınlanmış polenlerle uyartım yoluyla elde edilen embriyolardan 2 adet haploid ($n=9$) bitki elde edilmiştir.

Pandey ve ark. (1990), yüksek düzeyde poliploidi gösteren kivide (*Actinidia deliciosa* (A. chev) C.F. Liang ve A.R. Ferguson var. *deliciosa*) ($2n=6x=170$) ışınlanmış polenlerle tozlama yaparak haploid bitkiler elde etmeye çalışmışlardır. Ana ebeveyn olarak Hayvard, Bruno ve Monty; polen kaynağı olarak da Berryman, Burt, Matua, Mc Evan, Tomuri ile erselik çiçek yapısına sahip Fruitting male ve Cottle çeşitleri kullanılmıştır. Tozlamalar Co^{60} kaynaklı gama ışınının 0.5, 0.7 ve 0.9 kGray dozlarının uygulandığı polenlerle gerçekleştirilmiştir. Işın uygulanan polenlerin normal

olarak çimlendiği ve ovüle ulaştığı görülmüş, buna rağmen 0.5 ve 0.7 kGray dozda ışın uygulanmış polenlerle tozlananlarda meyve tutumu % 88 olurken, 0.9 kGray'de bu oran % 76 olmuştur. Bütün ışın dozlarında polenlerin normal olarak çimlendiği ve ovüle kadar ulaştığı belirlenmiştir. Araştırma sonucunda 0.7 kGray'in en uygun doz olduğu saptanmış, Hayward çeşidi % 14.7 ile en fazla haploid bitkiyi vermiştir. Araştırmacılara göre; genotipler, haploid eldesi üzerinde hem polen kaynağı, hem de ana ebeveyn olarak etkili olmuşlardır. Araştırma sonucu elde edilen toplam 416 bitkinin % 79.8'i (332 adet) somatik kromozom sayısında (heksaploid) ve % 20.2'si (84 adet) gametik kromozom sayısında (triploid=polihaploid) bulunmuştur. 84 adet haploid bitkiden 31 adeti tam bitki olarak yaşamını sürdürmüştür.

Brun (1990), ışınlanmış polenlerle haploid bitki eldesinde genotipin etkisini incelediği araştırmasında, biri Fransız (Védrantais), biri Kore (Virka), biri Hindistan (MR1), diğeri ise Japonya (Freeman's Cucumber) kökenli olmak üzere 4 çeşidi resiprokal olarak 300 Gray dozuyla ışınlanmış polenlerle tozlamıştır. Işınlanmış polen dışında, alternatif uygulama olarak, polenleri su (15 dakika), toluidin mavisi (10, 50 ve 100 ppm) ve kolhisin (% 0.02)'e bandırarak da tozlamalar yapmıştır. Araştırma sonucunda haploid embriyo uyartımı üzerine ana genotipin etkisi önemli, tozlayıcı çeşidin etkisi ise önemsiz bulunmuş, alternatif uygulamaların hiçbirinde meyve tutumu olmamıştır.

Badea ve ark. (1990), ayçiçeğinde gynogenesis üzerine genotipin ve ışınlanmış polenlerle yapılan tozlamaların etkisini incelemişlerdir. Tozlamada kullanılan 70, 80 ve 100 kRad dozunda ışınlanmış polenlerin haploidi oluşumunu uyarıcı bir etki göstermedikleri saptanmıştır. Buna karşın, 30 kRad dozunda ışınlanmış polenlerle yapılan tozlamalarda embriyo kesesinin gynogenetik gelişiminin uyarıldığı ve bunun Felix hibridi kullanıldığında % 18-71'e ulaştığı saptanmıştır.

Zhang ve ark. (1990), gynogenesis yoluyla elmada (*Malus x domestica*) haploidi üzerinde çalışmışlardır. Ana ebeveyn olarak aldıkları "Lodi" ve "Erovan" çeşitlerini, bir "RR" klonunun ışınlanmış polenleriyle tozlamışlardır. Polenlerin ışınlanmasında Co⁶⁰ kaynaklı gama ışınının 500, 1000, 1500 Gray dozları kullanılmış ve tutan meyveler değişik sürelerde hasat edilmişler ve sonuçta 9 adet haploid embriyo

elde edilmiştir. Araştırmacılar, ışınlanmış polenlerle *in situ* parthenogenesis yoluyla haploid eldesinin elmada en ümit verici yöntem olduğunu söylemişlerdir.

Gürsöz-Sarı (1990), ışınlanmış polenlerle tozlama yoluyla parthenogenetik haploid embriyo uyartımını gerçekleştirerek, bu embriyolardan karpuz türünün (*Citrullus lanatus* (Thunb) Mansf.) ilk haploid bitkilerini elde etmiştir. Araştırmacı, 200 ve 300 Gray dozda gama ışını (Co^{60} kaynaklı) uygulanmış polenlerle, değişik dönemlerde 4 farklı genotipi tozlamıştır. 30 Mayıs-13 Haziran döneminde ve 300 Gray dozda ışınlanmış polenlerle tozlanan Halep Karası çeşidinde % 14.7 ile en yüksek düzeyde haploid embriyo bulunmuş ve denemede yer alan tüm çeşitlerden toplam 17 adet bitki elde edildiği bildirilmiştir.

Zang ve Lespinasse (1991)'in, elmada ışınlanmış polenlerle *in situ* parthenogenesis yoluyla haploid eldesi üzerinde yaptıkları çalışmada, ışın dozu olarak 125 Gray ile 1000 Gray arasındaki değişik dozlar denenmiştir. Işınlamanın polenlerin çimlenme yeteneği ve meyve ağırlığı üzerine olumsuz etkilerinin görülmediği, buna karşın doz yükseldiğinde meyve tutumu ile embriyo veya endosperm içeren tohum yüzdesinin azaldığı, içi boş tohum yüzdesinin arttığı saptanmıştır. Denenen tüm çeşitlerde, 200 ve 500 Gray dozlarındaki uygulamalardan haploid bitkiler ($n=x=17$) elde edilmiştir. Araştırmacılar, elmada ışınlanmış polenlerle *in situ* uyartım yoluyla *in vitro* gynogenetik haploid bitkiler eldesi için, dişi çiçeklerin 200-500 Gray gama ışını uygulanmış polenlerle tozlanması, meyve hasadının tozlamadan 3 ay sonra yapılması ve *in vitro*'da kültüre alınan olgunlaşmamış embriyoların 2 ay süre ile soğukta (+3 °C'de) tutulması gerektiğini bildirmişlerdir.

Gürsöz-Sarı ve ark. (1991)'nın, karpuzda ışınlanmış polenlerle uyartım yoluyla haploid embriyo oluşumu üzerine yaptıkları çalışmada, değişik safhalarda toplam 761 adet embriyo elde edilmiştir. Araştırmacılar, embriyoların çoğunluğunun (% 72) globüler safhada olduğunu ve bitkiye dönüşüm oranlarının çok düşük bir düzeyde (761 embriyodan 17 adet bitki elde edilebilmiştir) kaldığını bildirmişlerdir. 31 Mayıs-13 Haziran tarihleri arasındaki tozlama dönemi en uygun dönem olarak bulunmuştur. Elde edilen bitkilerde yapılan sitometrik analizler (Flow Sitometri) sonucunda bitkilerin tamamının haploid oldukları saptanmıştır.

Caranta (1992), çilekte (*Fragaria ananassa* Duch.) ışınlanmış polen tekniği ile haploid bitki eldesi üzerine değişik genotipler ve polenlerle, uygulanan farklı ışın dozlarının (0.1-2.0 kGy arasında) etkilerini incelemiştir. Araştırmada ana ebeveyn olarak erkek kısır Tardive de Leopold, Pandora ve Director Paul Wallbaum ile polen kaynağı olarak Favette ve Frel genotipleri kullanılmıştır. Işınlanmış polenlerde yapılan çimlendirme denemeleri tüm ışın dozlarında polenlerin çimlendiğini göstermiştir. Araştırmada, ışın dozu yükseldikçe meyvelerde şekil bozuklukları ve ağırlık azalmaları olduğu ve akenlerde çimlenme oranının düştüğü belirlenmiştir. Araştırmacı, elde ettiği bitkilerde yaptığı sitolojik incelemeler sonucunda polihaploid ($4x=28$) bireylere rastlamış, $6x=42$, $8x=56$ ve hatta 56 adetten fazla kromozom taşıyan hücreler de bulmuştur. 0.65-2 kGray dozları uygulanmış polenlerin çilekte dölleme yapmadığını, yalnızca parthenogenesisi uyarttığını belirtmiştir.

Sarı ve ark. (1992 a), ülkemizde en çok yetiştirilen iri meyveli kavunlardan (*Cucumis melo* L. var. *inodorus* Naud ve *C. melo* L. var. *reticulatus* naud) Ananas, Hasanbey, Kırkağaç ve Yuva çeşitlerinin dişi çiçeklerini "Védrantais" çeşidinin 300 Gray dozunda gama ışını uygulanmış polenleriyle tozlamışlardır. Kontrol olarak *C. melo* var. *cantalupensis*'e giren Galia F₁ çeşidi kullanılmıştır. Araştırmacılar ışınlanmış polen tekniği ile haploid bitki eldesini mevsimin ve genotipin önemli ölçüde etkilediğini saptamışlardır. Araştırma sonucunda, 100 tohumdaki embriyo sayısı % 2.3 ile Ananas çeşidinde en yüksek değere ulaşmış ve her çeşitten embriyolar bitkiye dönüşmüş olup toplam 327 adet haploid bitki elde edilmiştir.

Cuny (1992)'nin kavunda genotipin ve ışın dozlarının haploid embriyo verimine etkisini incelediği çalışmada, 2 farklı genotip ile 0.15-4 kGray arasında değişen ışın dozları kullanılmıştır. Tozlamadan 3-4 hafta sonra hasat edilen meyvelerde, meyve başına embriyo verimi ve bu embriyolardan yürek şeklinde olanların oranı bakımından F₁G₁ genotipi daha iyi sonuç vermiştir. 3 kGray ve üzerindeki dozlar kavun için öldürücü olurken, en yüksek embriyo verimi haziran-temmuz aylarında ve 0.5-1.6 kGray dozlarında alınmıştır. Araştırmacı, embriyoların bitkiye dönüşümünün her iki genotipte de aynı olduğunu, yürek formundaki embriyoların bitkiye dönüşümünün globüler embriyolara göre 2-3 kat fazla

gerçekleştiğini bildirmiştir.

Maestro-Tejada (1992), Védrañtais x PI 161375 melez kavun genotipinde, 300 Gray dozunda gama ışını uygulanmış Védrañtais polenleriyle tozlamalar yapmıştır. Araştırmacı, % 35-40 arasında olan meyve tutum oranının, bir dişi çiçeğin 8 adet erkek çiçek tomurcuğunun polenleriyle tozlanması sonucunda % 87'ye çıktığını belirtmiştir. Aynı araştırmacı, haziran ayının meyve başına elde edilen embriyo sayısı bakımından (6 adet/meyve) en uygun dönem olduğunu söylemiştir. Bu oran eylül ayının ikinci yarısından itibaren 0.8 adet/meyve'ye kadar düşmüştür. Embriyoların % 57'si bitkiye dönüştürülerek, kolhisin uygulamalarıyla bunlardan dihaploid hatlar geliştirilmiştir.

Przyborowski ve Niemirowicz-Szczytt (1994), hıyarda, 300 Gray gama ışınıyla ışınladığı 2 saf hattın çiçek tozlarıyla tozladığı dört F₁ çeşitten elde ettiği 3 haftalık embriyoları *in vitro*'da E20A ortamında kültüre almışlardır. Polan F₁ çeşidinden en fazla embriyo (100 tohumda 1.34 embriyo) elde edilmiş ve bu embriyolardan % 51'i gelişme göstermiştir. Yaz aylarında yapılan tozlamalardan, bahar aylarına göre daha iyi sonuç alınmış, elde edilen bitkiler, birisi hariç, haploid veya aneuhaploid olmuştur. Haploid bitkiler yavaş gelişme göstermişler, steril olmakla birlikte tohumuz meyveler oluşturmuşlardır. Haploid bitkilerin gövde, yaprak ve hücre büyüklükleri diploidlerin tamamından daha küçük bulunmuştur.

Sarı (1994), karpuzda 100-400 Gray dozda gama ışınıyla ışınlanmış polenlerle uyartım yoluyla haploid embriyo eldesi üzerine genotip ve mevsimin etkisinin önemli olduğunu bildirmiştir. Karpuz için en uygun ışın dozlarının 200-300 Gray olduğu, 100 Gray ışın dozu ile ışınlanan polenlerin ise "melezleme etkisi" yaptığı saptanmıştır. Araştırmacı, normal yürek şeklindeki embriyoların ve bu embriyoların bitkiye dönüşümü sonucunda oluşan bitkilerin büyük çoğunluğunun (% 90) mayıs-temmuz aylarında yapılan tozlamalardan geldiğini ve toplam 54 bitki elde edildiğini bildirmiştir.

Sarı ve ark. (1994), karpuzda genotipin haploid embriyo uyartımı üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında Panonia F₁, Sugar Baby, Halep Karası ve Crimson Sweet çeşitlerini, bu 4 çeşide ait karışık ve 300 Gy gama ışınıyla ışınlanmış polenlerle tozlamışlardır. Tozlamadan elde edilen 26 adet meyveden çıkarılan toplam

13844 tohum açılmıştır. 100 tohumdaki embriyo sayısı bakımından Halep Karası çeşidi (% 14.2); Crimson Sweet (% 4.0), Panonia F₁ (% 4.0) ve Sugar Baby (% 3.6)'ye göre daha yüksek performans göstermiştir. Tohum ekstraksiyonu için meyvelerin tozlamadan 3-4 hafta sonra hasat edilmesinin uygun olduğu belirtilmiştir.

Çağlar (1995), hiyarda ışınlanmış polenlerle uyartım yoluyla haploid embriyo eldesi üzerine genotipin ve mevsimin etkili olduğunu bildirmiştir. Polen ışınlamasında kullanılan 3 ışın dozu ile (300, 450 ve 600 Gy), denemede kullanılan 4 genotipte de (Qamar F₁, Seraset F₁, Dere ve Çengelköy) yıl boyu haploid embriyo uyartımı sağlanmakla birlikte, en uygun ışınlama dozunun 300 Gray ve en iyi dönemin mayıs-eylül arasındaki dönem (özellikle haziran ayı) olduğu bulunmuştur. Işınlanmış polenlerle uyartım yoluyla Qamar F₁ çeşidinde 704, Seraset F₁ çeşidinde 603, Dere çeşidinde 255 ve Çengelköy çeşidinde 365 adet haploid embriyo elde edilmiştir. Bu haploid embriyolardan Qamar F₁ çeşidinde 84, Seraset F₁ çeşidinde 34, Dere çeşidinde 29 ve Çengelköy çeşidinde 43 adet haploid bitki elde edilmiştir. Bu bitkilerin dihaploid duruma getirilmesinde en uygun kolhisin dozu ve süresinin % 0.5 dozda 4 saat ya da % 1 dozda 2 saat olduğu saptanmıştır. Yapılan sitolojik ve morfolojik incelemeler sonucunda, elde edilen bitkilerin ploidi düzeyleri doğrulanmıştır.

Çağlar ve Abak (1995); Co⁶⁰ kaynaklı 300, 450 ve 600 Gy dozlarında gama ışını uygulanmış polenler ile Sahara F₁, Banza F₁, Fatih F₁ çeşitleri ile Güneydoğu Anadolu'dan alınan iki yerel popülasyonda (Birecik ve Hilvan) yaptıkları tozlamalar sonucu embriyo uyartımı sağlamışlar ve *in vitro*'da kültüre aldıkları embriyolardan 30 adet bitki elde etmişlerdir. Yaptıkları kromozom sayımları sonucunda bitkilerin haploid olduklarını bulmuşlar ve yöntemin genotip seçici olmadığını vurgulamışlardır.

Ficcadenti ve ark. (1995), kavunda, *Cucumis melo* var. *reticulatus*'a ait üç ve *Cucumis melo* var. *inodorus*'a ait iki çeşit üzerinde ışınlanmış polen tekniği ile haploidi uyartımı sağlamak amacıyla yaptıkları çalışmada ışın dozu olarak 0.6, 1.2 ve 2.4 kGy'i seçmişler ve resiprokal tozlamalar yapmışlardır. 0.6 ve 1.2 kGy dozlarıyla ışınlanmış polenlerle yapılan tozlamalardan haploid bitkiler elde edilmiş, haploidi frekansı üzerine genotip ve ışın dozu etkili olmuştur. En fazla embriyo kendilenmiş bir hat olan L. 7-82 ana ve Isabella çeşidi tozlayıcı olarak kullanıldığında elde edilmiştir.

Partenogenetiksel oluşum düzeyi üzerine en fazla etkiyi 0.6 kGy dozda ışınlanmış polenler göstermiştir. Tozlamalar sonucu elde edilen 4 haftalık meyvelerin ekstraksiyonu neticesinde 36 adet haploid ve 74 adet diploid embriyo *in vitro*'da kültüre alınmış, elde edilen tüm bitkiler normal görünümde olmuşlardır.

Yanmaz ve Taner (1996), kavun türünde 300 ve 350 Gy dozundaki gama ışını ile ışınladıkları polenlerle Yuva, Kırkağaç ve birkaç ümitvar kantaloop hattını tozlamışlar ve 300 Gy dozunun haploid embriyo uyartımında (% 48.18) etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Yılan kavunu olarak da bilinen acur (*Cucumis melo* var. *flexuosus*) türünde embriyo uyartımını sağlamak amacıyla 250, 300 ve 350 Gy ışın dozunu deneyen **Yanmaz ve ark. (1997)**, 300 ve 350 Gy dozlarında embriyo ve bitki elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Sandı (1998), kabuksuz tohumları çerez olarak kullanılan yazlık bir kabak (*Cucurbita pepo* L.) çeşit adayında haploid embriyo uyartımı sağlamak amacıyla Sezyum ¹³⁷ kaynağı ile gama ışını veren cihazda 300 ve 350 Gy dozlarıyla ışınlanmış polenlerle tozlamalar yapmış, elde ettiği 4 haftalık meyvelerden çıkardığı tohumların ise tamamen dolu (embriyo + endosperm) olduğunu ve ışın dozlarının melezleme etkisi yaptığını bildirmiştir. Androgenik haploid bitki eldesi amacıyla kültüre aldığı anterlerde ise bitki regenerasyonu sağlayamamıştır.

2.2. Işınlanmış Polenlerde Canlılık ve Çimlendirme Çalışmaları

Visser ve Oost (1981), elma ve armut polenlerini 50, 100, 250, 500 kRad gama ışını ile ışınladıktan sonra +4 °C sıcaklıkta ve % 100 oransal nemde muhafaza etmişlerdir. Araştırmacılar, ışınlanmış polenlerin çimlenme yüzdelerinin ve polen tüpü gelişiminin kontrollere göre daha düşük olduğunu ve ışınlanmış polenlerin çabuk patladığını saptamışlar, ayrıca ışınlamanın hücre membranlarının esnekliğini kaybettirdiğini belirtmişlerdir.

Van Den Boom ve Den Nijs (1983), *Cucumis* türüne ait turşuluk hıyar çeşitlerinden Levo, Wack, Mericos ve Femcap çeşitleri; "Divided leaf" ve "Glabrous"

ıslah hatları ile akraba türlerden *C. metuliferus* Naud. ve *C. zeyheri* SOND.2x polenlerine Co^{60} kaynaklı gama ışını uygulamışlardır. Araştırmacılar, değişik genotiplerin farklı ışın dozlarına olan tepkilerinin farklı olduğunu, ışın dozu yükseldikçe polen çimlenmesi ve polen tüpü gelişiminin gerilediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, *C. sativus* polenlerinin ışın uygulamalarına daha hassas olduğunu, buna karşılık yabancı türlerde 4 kGray dozda bile çimlenme yüzdesinin % 60'a ulaştığını saptamışlardır.

Denissen ve Den Nijs (1987), *Cucumis* cinsine ait 14 genotipin polenlerine 0, 1, 2, 3, 4 kGray dozlarında gama ışını akut olarak uygulamışlardır. Araştırmacılar, sadece *C. melo* var. *agrestis*'in ışınlamaya daha dayanıklı olduğunu, öteki bütün türlerde ise (özellikle *C. anguria* var. *longipes* ile *C. anguria* var. *anguria*) ışın dozunun yükselmesi ile polenlerin çimlenme yüzdelerinin ve çim borusu uzunluklarının azaldığını ve ışınlama sonrası generatif çekirdeklerin kaybolduğunu bildirmişlerdir.

Rode ve Dumas de Vault (1987), havuç polenlerine 300 ve 500 Gray dozlarında Co^{60} kaynaklı gama ışını uygulamışlardır. Araştırmacılar, 300 Gray dozda ışınlanan çiçek tozlarının çimlenip embriyo kesesine ulaştığını, 500 Gray doz uygulanan çiçek tozlarının ise çim borusu geliştiremediğini söylemişlerdir.

Doré (1989), beyaz baş lahanalarda (*Brassica oleracea* L. ssp. *capitata*) 4 çeşidin polenlerine 200, 400, 600, 800 ve 1200 Gray dozlarında gama ışını uygulamıştır. Araştırmacı, bütün genotiplerin polenlerinde 200-800 Gray dozları arasındaki ışınlamalarda, kontrol ile aynı düzeyde çimlenme elde edildiğini, 1200 Gray dozunda ışınlanan polenlerde ise hiç bir çim borusuna rastlanmadığını bildirmiştir.

Pandey ve ark. (1990), kivide 7 farklı genotipin polenlerine 0.5, 0.7 ve 0.9 kGray dozlarında Co^{60} kaynaklı gama ışını uygulamışlar ve bütün ışın dozlarında genotiplerin hepsinin polenlerinin normal olarak çimlendiğini ve yeterli uzunlukta çim borusu geliştirerek ovüle kadar ulaştığını saptamışlardır.

Cuny ve Roudot (1991), kavun polenlerine 0.5, 1.6, 2.5., 3.6 ve 4 kGray dozda Co^{60} kaynaklı gama ışını uygulamışlar ve ışınlanmış polenlerde çimlenme ve çim borusu gelişimini incelemişlerdir. Çimlendirme ortamı olarak 100 ml için 10 mg H_3BO_3 , 3 mg $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 2 mg $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 mg KNO_3 ve 10 g sakkaroz kullanan araştırmacılar, polen ekiminden sonra petri kutularını 28 °C'de tutmuşlardır.

Çiçek tozu çim boruları ölçümünde çimlendirmeyi durdurmak için çimlendirme bitiminde petrilere % 0.5'lik ozmik asit eklenmiş ve çimlenme okumaları ekimden 20, 40, 60, 80, 100 ve 120 dakika sonra yapılmıştır. Çimlendirme denemeleri sonucunda polenlerin 0.5 kGy dozda % 93, 1.6 kGy dozda % 91, 2.5 kGy dozda % 73, 3.6 kGy dozda % 20 ve 4 kGy dozda ise % 0 oranında çimlendiği belirlenmiştir. Kavun türünde çimlendirme okumalarının polen ekiminden 80-120 dakika sonra yapılabileceği belirlenmiştir. Aynı araştırmacılar, ışın dozu yükseldikçe oransal olarak polen tüpü uzunluğunun da azaldığını bildirmişlerdir.

Cuny (1992), yüksek ışın dozlarının kavun polenlerinde irileşmeyi ve vakuolleşmeyi azalttığını gözlemiş, her doz yükselişinde polenlerde çimlenme yüzdesi ile çim borusu uzunluğunun azaldığını ve çim borusunun embriyo kesesine ulaşmasının yavaşladığını bildirmişlerdir.

Sarı ve ark. (1992 a), kavunda ışınlanmış polenlerin çimlenme yeteneklerini inceledikleri araştırmalarında, çimlendirme ortamı olarak % 15 sakkaroz, 5 mg/l borik asit içeren % 1'lik agar ortamını kullanmışlardır. Araştırma sonucunda ışınlanmış polenlerde çimlenmenin 1. gün % 72 olduğunu, daha sonraki günlerde azalarak 15 günde % 0'a düştüğünü; buna karşılık, ışınlanmamış polenlerin 15. günde bile (başlangıçta çimlenme % 82) % 30'un üzerinde çimlendiklerini bildirmişlerdir.

Sarı ve ark. (1992 b), karpuzda ışınlanmış polenlerle tozladıkları dişi çiçekleri, tozlamadan 2 gün sonra alarak bazı işlemlerden geçirmiş ve floresan mikroskopta incelemişlerdir. Sonuçta, polenlerin *in situ*'de çimlenebildiklerini ve çim borularının ovüle kadar ulaştığını saptamışlar, ayrıca bu polenlerin çimlenme oranlarının 6 günden itibaren hızla azaldığını, karpuz türünde *in vitro* çimlendirme denemeleri için % 15 sakkaroz, 5 mg/l borik asit içeren % 1'lik agar ortamının uygun olduğunu ve 26 °C sıcaklıkta 6 saat sonra sayım yapılmasının en iyi sonucu verdiğini bildirmişlerdir.

Falque ve ark. (1992), kakao (*Theobroma cacao* L.) polenlerine uygulanan 0, 50, 100, 200, 500 ve 1000 Gray gama ışını dozlarının polenlerin canlılığı, çimlenmesi ve çim borusu oluşturması bakımından herhangi bir azalmaya neden olmadığını, bütün dozlarda polen tüpünün stile kadar penetre olduğunu ve tozlamadan

20 saat sonra ovüle ulaştığını, ancak 100 Gray üzerindeki dozların polenin generatif çekirdeğini inhibe ettiğini ve bu sebeple hiç meyve tutumu oluşturmadığını söylemişlerdir.

Sarı (1994), karpuzda 300 Gray ışın dozunun polenlerin çimlenme gücünü ve bu gücü koruma süresini azalttığını bildirmiştir. Araştırmacı, genotipe ve mevsime bağlı olarak anthesis günündeki (0. gün) ışınlanmış polenlerde çimlenmenin % 30-70 oranında olduğunu, 3 günden daha yaşlı polenlerde ise çimlenmenin hızla % 0-20 düzeyine düştüğünü bildirmiştir. Aynı araştırmacı, 6 günden daha yaşlı polenlerde ise çimlenmenin pratik olarak hiç gerçekleşmediğini bildirmiştir.

Çağlar (1995), hıyarda 300, 450 ve 650 Gy dozlarındaki ışınlamaların polenlerin çimlenmelerinde herhangi önemli bir etki yapmadığını bildirmiştir.

Yanmaz ve Taner (1996), kavun çiçek tozlarına 300 ve 350 Gy'lik dozlardaki gama ışını uygulamaları sonucu, çiçek tozu canlılığı ve çim borusu uzama hızının ışın dozu ve çiçek tozu yaşına bağlı olarak azalma gösterdiğini bildirmişlerdir. Çiçek tozu çim borularının tozlanmadan 72 saat sonra 300 Gy'lik dozda % 52.17'sinin, 350 Gy'lik dozda ise % 37.93'ünün ovüle ulaşarak haploidiyi uyardığı belirlenmiştir.

Abak ve ark. (1997), *Cucumis sativus* (hıyar), *Cucumis melo* (kavun), *Citrullus lanatus* (karpuz), *Cucurbita pepo* (kabak), *Cucurbita maxima* (kestane kabağı), *Luffa acutangula* (lif kabağı) türlerine ait polenleri +4 °C'de veya sıvı azot kullanarak muhafaza etmişler ve bunlarda polen çimlenme oranlarını belirlemeye çalışmışlardır. Sonuç olarak *C. pepo* ve *C. maxima* dışında kalan türlerde polen çimlenmesinin gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Yapılan bir başka çalışmada; acur, kudret narı, hıyar, kavun ve sakız kabağı polenlerinin çimlenme oranlarının muhafaza süresine bağlı olarak değişimi inceleyen **Aydın (1998)**, türlerden kabak dışındakilerde *in vitro* çimlenmenin sağlandığını bildirmiştir.

Sandı (1998), kabakta Sezyum¹³⁷ kaynağı kullanarak 300 ve 350 Gy dozlarıyla ışınladığı polenlerin canlılık yüzdelerinin kontrol polenlerine yakın olduğunu bildirmiştir.

2.3. Ploidi Düzeyini Belirleme

Bitkilerde ploidi düzeyinin belirlenmesinde kullanılan en eski yöntem klasik kromozom sayımlarıdır. Ancak kromozom sayımlarının yoğun ve kalifiye iş gücü gerektirmesi, bu yönetime alternatif olabilecek başka yöntem ve kriterlerin geliştirilmesini sağlamıştır.

Briggs ve Knowles, bitkilerde poliploidinin en güvenilir belirtilerinden birisinin stoma hücrelerinin büyüklüğü olduğunu, Virnich ve Gardner ise stoma hücrelerinin daha iri olmaları ve birim alandaki sayılarının azalmasını bitkide ploidi seviyesinin yükselmesinin en iyi belirtisi olduğunu bildirmişlerdir (Şalk, 1979).

Şalk (1979), kerevizlerde yaptığı karyotip araştırmaları sonucunda, tetraploid çeşitlerde yaprakların alt epidermisindeki stoma hücrelerinin diploidlere göre daha iri olduğunu, birim alandaki stoma adedinin ise azaldığını saptamıştır.

Frandsen (Emiroğlu, 1982), *Petunia hybrida*'nın haploid bitkilerinde stoma uzunluğunun yaklaşık 23.58 µm, diploidlerde 31.59 µm, triploidlerde 38.97 µm ve tetraploidlerde 43.65 µm olduğunu saptamıştır. Stoma hücrelerindeki kloroplast sayılarının da haploid bitkilerde ortalama 9.85 adet, diploidlerde 17.80, triploidlerde 20.10 ve tetraploidlerde 25.30 adet olduğunu belirtmiştir.

Dunwell (1985), *in vitro*'da elde edilen bitkilerde, farklı ploidilerin erken tanımlanmasıyla, haploidlerin kromozom katlanması ya da elimine edilmesi amacıyla erkenden seçilebileceğini söylemiştir. Klasik kromozom sayımlarına bir alternatif olarak tam gelişmiş ilk yapraklardan epidermisin soyularak stomaların incelenmesini öneren araştırmacı; stoma bekçi hücrelerindeki kloroplastların iyot veya potasyum iyot solüsyonuyla boyandıktan sonra sayılabileceğini ve bu sayının ploidi ile doğrudan orantılı olduğunu bildirmiştir.

Jagannathan ve Marcotrigiano (1986), *Paulownia tomentosa*'da elde ettikleri *in vitro* bitkilerde klasik kromozom sayımları yanında olgun yaprakların orta bölgelerinde, her bitkiden 1 ve her yaprakta da 10 gözlem olmak üzere stoma bekçi hücrelerinin uzunluklarını ölçmüşler, ayrıca her bitki için 5 gözlem olmak üzere birim alandaki stoma sıklığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, bekçi hücrelerinin

büyükluğündeki önemli değışikliklerin genellikle ploidi düzeyindeki değışikliklerle ilişkili olduğunu ve bu ölçümlerin *in vitro*'da rejenere edilen bitkilerdeki ploidi değışikliklerinin bir indikatörü olarak kullanılabileceğini kabul etmişlerdir.

Doré (1986), brüksel lahanasında (*Brassica oleracea* L. ssp. *gemnifera*) stoma uzunluklarının haploid bitkilerde yaklaşık 14 µm, diploidlerde 20 µm ve triploidlerde ise 24 µm'den daha fazla olduğunu saptamıştır. Araştırmacı, stoma uzunluğu ölçümlerinin brüksel lahanasında klasik kromozom sayımına alternatif olabileceğini belirtmiş, bu ölçümler için çok genç ve çok yaşlı yaprakların uygun bulunmadığını, orta yaşlı yaprakların ideal olduğunu vurgulamıştır.

Rode ve Dumas de Vaulx (1987), haploid havuç bitkilerinin stoma uzunluklarının 15.2 µm, diploidlerin 19.7 µm olduğunu bildirmişlerdir.

Doctrinal ve ark. (1989), şeker pancarında ploidi düzeyinin belirlenmesi için stoma bekçi hücrelerindeki kloroplastları saymışlardır. Taze yaprakların alt epidermisini soyarak Lugol ile boyayan ve en az 25 stomada sayım yapan araştırmacılar, kloroplast sayılarının diploidlerde 13-17 adet, haploidlerde ise genellikle 6-10 adet olduğunu bildirmişlerdir.

Letchamo (1991), *Chamomilla recutita* (L.) RAUSCH. bitkisinde ploidi düzeyinin saptanması için alternatif yöntemler araştırmıştır. Araştırmacı, mm²'deki stoma sayısı ve stoma bekçi hücrelerindeki kloroplast sayılarının, bitkinin değışik gelişme dönemlerinde diploid ve tetraploid olarak hızlı ve güvenli bir şekilde ayrılmasında iyi birer kriter olduğu, buna karşılık stoma bekçi hücrelerinin uzunluklarının ve çaplarının ploidi düzeyini kesin olarak ayırt etmeye yardımcı olmadığı sonucuna varmıştır.

Brown ve ark. (1991), *in vitro* gynogenesis yoluyla elde edilen haploid (n=x=9) şeker pancarı bitkilerinin stoma bekçi hücrelerindeki kloroplast sayılarının ortalama 9 adet, kontrol olarak kullanılan diploid (2n=2x=18) bitkilerde ise 16 adet olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar, bu türde erken aşamada ploidi düzeyini belirlemek için kloroplast sayısının iyi bir kriter olduğunu belirtmişlerdir. Ploidi analizinde kullanılan kromozom sayımı, fenotipik ayırım, kloroplast sayısı, stoma uzunluğu ve flow sitometri gibi farklı teknikleri de karşılaştıran araştırmacılar "flow sitometri"nin en etkili yöntem olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Honkanen ve ark. (1991), stoma bekçi hücrelerindeki kloroplastların sayılarak ploidi belirlenmesi yönteminin, serada yetiştirilen *Gerbera* bitkilerinde yapılabileceğini, ancak *in vitro* bitkilerde stomaların tam olarak gelişmemesi nedeniyle uygun olmadığını belirtmişlerdir.

Quarto ve ark. (1991), çilekte yapraktaki stoma bekçi hücrelerindeki kloroplastların, hücrelerin uç kısımlarında yoğunlaşması nedeniyle sayılarının belirlenmesinin çok zor olduğunu ve bu nedenle haploidlerde aneuploidlerin belirlenmesinde kloroplast sayılarının güvenilir bir kriter olamayacağını söylemişlerdir.

Rousselle (1992), pancar ve bakla ile *Cruciferae* familyasına giren türlerde kloroplast sayılarının yapılabilmesi için, yaprağın alt yüzeyinden bir pens yardımıyla soyulan epidermisin bir lam üzerine yayılarak üzerine 1 damla % 1'lik AgNO_3 damlatılmasının yeterli olduğunu bildirmiştir.

Kamo ve Griesbah (1993), doku kültüründe çelikleme ile çoğaltılan "Mitchell" petunya bitkilerinin % 80'inin saf haploid yada saf diploid olmayıp, kimeralı bir yapı gösterdiklerini bildirerek, yalnızca kloroplast sayılarını kullanarak haploid ile haploid/diploid kimeraların ayırt edilmesinin mümkün olmadığını bildirmişlerdir.

Sarı (1994), karpuz türünde yaprak epidermis hücrelerindeki stoma boyutları ile kloroplast sayısının ploidi belirleme için çok iyi bir alternatif yöntem olarak dikkati çektiğini söylemiştir. Araştırmacı, karpuz bitkilerinde stoma uzunluğunun haploidlerde 18.6 μm , diploidlerde 23.2 μm , triploidlerde 26.2 μm ve tetraploidlerde 29.9 μm ; stoma çaplarının da sırasıyla 12.8 μm , 13.4 μm , 18.9 μm ve 23.8 μm olduğunu; kloroplast sayılarının ise sırasıyla 7, 11.5, 19 ve 18.3 adet olduğunu belirterek, ploidi düzeyi arttıkça değerlerinin de yükseldiğini saptamıştır.

Çağlar (1995), hıyarda yaptığı bir çalışmada haploid bitkilerde 1 mm^2 yaprak epidermisinde 300-600 adet, diploid bitkilerde ise 100-180 adet stoma bulunduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada, stoma boyu ve çapı haploid bitkilerde sırasıyla, ortalama 19.2 μm ve 13.6 μm ; diploid bitkilerde 28.4 μm ve 18.0 μm olmuştur. Haploid bitkilerin iki bekçi hücresinde toplam 4-6 adet, diploid bitkilerde 8-12 adet kloroplast sayılmıştır.

İnsan onkolojisinde, öteden beri geniş bir kullanım alanı bulan otomatik floresan yöntemi, son 10 yılda bitkilere adapte edilerek "flow sitometri" (Flow cytophotometric, microfluorometry) adıyla bitki hücrelerindeki çekirdeksel DNA ölçümlerinde kullanılmaya başlanmıştır (Sarı, 1994). Klasik kök ve sürgün ucu kromozom sayımları uzun zaman almaktadır. Stoma boyutlarının ölçümleri ile birim alandaki stoma sayısı ya da bekçi hücrelerindeki kloroplastların sayımı gibi yöntemler ise her türde aynı güvenilirlikte sonuç vermediği gibi bu yöntemlerle kimerik yapıların tanınması da mümkün olmamaktadır. Bu nedenlerle bir çok araştırmacı, az materyalle hızlı ve kolay bir şekilde, doğru sonuçlara ulaştıran flow sitometri yönteminin değişik bitki türlerine adapte edilmesine çalışmaktadır.

Borgel ve ark. (1990), kavunda elde edilen gamet hücresi kökenli bitkilerin yarıdan fazlasının kolhisin uygulaması sonrası fenotipik anormallikler gösterdiklerini söylemişlerdir. Araştırmacılar bu *in vitro* bitkilerde oldukça genç ve vegetatif dönemde hücre çekirdekleri H33258 ile boyanan süspansiyonlar hazırlayarak "flow sitometri"de çekirdeksel DNA analizi yapmışlardır. Araştırmacılar, bu yöntemle her bir örneğin ploidi düzeyini güvenilir bir şekilde belirlediklerini ve sonuçta miksoploid örnekler saptadıklarını bildirmişlerdir.

Löschenberg ve ark. (1990), buğdayda anter kültürü yoluyla elde ettikleri bitkilerin ploidi düzeylerini belirlemek amacıyla flow sitometrik bir prosedür geliştirmişlerdir. Enzimatik olarak parçalanan yaprak örneklerinden, hücre çekirdeklerinin serbest kaldığını ve bunların analiz için DAPI ile boyandığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar, bu yöntemle bir kişinin bir günde 100'den fazla bitkide analiz yapabildiğini ve bu nedenle flow sitometrinin çok sayıda bitkinin kolayca incelenebildiği etkili bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

Lucretti ve ark. (1990), flow sitometrinin (FCM) hücrelerin tek tek floresans dedektörden geçerken emdikleri ışığın analizine dayanan bir yöntem olduğunu belirterek, bu yöntemi patates (*Solanum tuberosum*) ve portakal (*Citrus cinensis*) protoplast kültürlerine adapte etmişlerdir. Araştırmacılar, protoplast kültürlerinde bu türlerin eksplantlarının ploidi düzeylerinin belirlenmesinde "flow sitometri"nin kesin, hızlı ve etkili bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

Kamo ve Griesbach (1993), "Mitchell" petunya'da haploidlerle, haploid/diploid kimeraların tanımlanabilmesi için ya klasik kromozom sayımlarının ya da mikroflorometri tekniğinin kullanılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Ollitrault-Sammarelli ve ark. (1994), *Actinidia* cinsinde ploid düzeyinin ölçülmesinde "flow sitometri" yöntemini kullanarak daha önce hiç rastlanmayan düzeyde ploid seviyesinde (9x) bitkilerin de var olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar bu yöntemin meyve ağaçlarında da *in vitro* kültürle birlikte özellikle haploidizasyon, somatik füzyonlar veya kolhisinle poliploidizasyon gibi ploid çalışmalarında erken ve kolay bir tanı anahtarı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, miksoploid bitkilerin saptanması ile klasik türler arası melezlemelerden elde edilen türlerin ploid düzeylerinin kontrolünde de yardımcı olacağını belirten araştırmacılar, bu yöntemin bazı yönlerinin *Actinidia* için geliştirilmesi gerektiğini söylemişlerdir. *Cucurbitaceae* türlerinden kavun (**Cuny ve ark., 1992**) ile karpuzda da (**Gürsöz ve ark., 1991; Sarı ve ark., 1994**) bu yöntemin başarıyla kullanıldığı bildirilmiştir.

Sarı (1994), karpuzda ploid düzeyini belirlemek için bir doğrudan (kromozom sayımı), ötekileri dolaylı (morfolojik ayırım, flow sitometri, stoma uzunluk ve çapları, kloroplast sayıları, polen özellikleri gibi) olmak üzere değişik yöntemleri karşılaştırmıştır. Araştırmacı, flow sitometri tekniğinin çok basit ve hızlı yapılmasına karşın, alet ve kullanılan kimyasalların pahalılığı gibi sakıncalar da taşıdığını vurgulamıştır. **Sarı ve ark. (1998)**, karpuz (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. and Nakai)'da Sugar Baby ve Halep Karası çeşitlerine ait haploid ve diploid bitkilerin ploid düzeyini belirlemek amacıyla direkt (kromozom sayımı) ve indirekt (flow sitometri, stoma boyutları, bekçi hücrelerindeki kloroplast sayısı ve morfolojik gözlemler) metotlar üzerinde çalışmışlar ve tüm yöntemlerin bu türde başarıyla kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Ancak, kromozom sayımları ve morfolojik gözlemlerin uzun zaman alması, flow sitometrinin ise pahalı olması ve özen istemesi sebebiyle stoma ölçümlerinin ve kloroplast sayımlarının daha pratik olduğunu vurgulamışlardır. Yapılan incelemelerde, diploid bitkilerde stoma uzunluğu 23-24 µ, stoma çapı 18 µ ve kloroplast sayısı 11-12 adet olurken, haploid bitkilerde bunlar sırasıyla 17-18 µ, 10-12 µ ve 6-7 adet olmuştur.

Abak ve ark (1998), Maraş ve Urfa bölgelerinin yöresel çeşitlerinden anter kültürü neticesinde elde ettikleri haploid ($n=12$) ve dihaploid ($2n=24$) biber bitkilerinde ploidi düzeyini tespit amacıyla stomatal özellikleri incelemiştir. Diploidlerde $36-38$ adet/ mm^2 olan stoma sayısı, haploidlerde $24-26$ adet/ mm^2 olarak bulunmuştur. Bekçi hücrelerindeki kloroplast sayısı ise sırasıyla $16.8-18.1$ ve $8.4-9.2$ olmuştur.

2.4. Kromozom Sayısının Katlanması

Kimyasal maddeler ile bitkilerde kromozom sayılarının katlanabileceğini ilk kez 1937 yılında **Blakeslee** kolhisin ile yaptığı denemelerle saptamış, daha sonra Chloral hydrate, Acenaphtene, Sülfanilamide, Ethyl-mercury-chloride, Hexachloro-cyclohexan gibi kimyasalların da kullanılabileceği anlaşılmıştır (**Düzgüneş ve Ekingen, 1974**).

Liliaceae familyasına bağlı *Colchicum autumnale* (güz çiğdemi) bitkisinden elde edilen kuvvetli bir alkaloid olan kolhisin, kullanılacak bitki türüne, organa ve yöntemle bağlı olarak genellikle % 0.05-1 arasındaki dozlarda ve çok değişik sürelerde uygulanır. Hücrede mitoz bölünme sırasında iğ iplikçiklerinin oluşumunu önleyerek aynı hücrede kromozom sayısının katlanmasına yol açar (**Düzgüneş ve Ekingen, 1974; Poincelot, 1980; Turcotte ve Feaster, 1982; Bajaj, 1983; Bhojwani ve Razdan, 1983; Sanford, 1983; Şehirali ve Özgen, 1988; Pierik, 1989; Demir, 1990; Metwally ve ark., 1998 a ve b**) Tohumlar, sürgün uçları ve çelikler kolhisin solüsyonuna batırılabilir veya lanolin tabletleri halinde apikal meristemlere uygulanabilir. Ancak, pratikte bu yöntem *in vivo*'da uygulandığında çoğunlukla sitokimeralar verir (**Hermesen ve Ramanna, 1981**). *In vitro* yöntemlerinin kullanılması kimeraların oluşum sıklığını azaltabilir (**Pierik, 1989**). Kolhisin önce suda çözündürülür ve ısıya çok duyarlı olduğundan *in vitro*'da kullanım için filtreden geçirilerek sterilize edilir.

Doré (1976), kuşkonmaz (*Asparagus officinalis* L.) türünün *in vitro* haploid bitkilerinin meristemlerini farklı dozlarda kolhisin katılmış besin ortamlarında

büyütmüş ve bu bitkilerde kromozomların katlandığını saptamıştır.

Luckett (1989), pamukta mutant birey elde etmek için Sicot 1 çeşidinin fidelerine % 1, % 2 ve % 5 dozlarında lanolin içindeki kolhisini çıkıştan 4 gün sonra apikal meristeme uygulamıştır. Araştırma sonucunda kolhisin dozu arttıkça ölümlerin de arttığı saptanmış, % 1 dozda uygulanan bitkiciklerin % 19'u; % 2 dozunda uygulananların % 51'i; % 5 dozunda uygulanan bitkiciklerin ise % 81'i ölmüştür.

Honkanen ve ark. (1991), haploid gerbera klonlarına *in vitro*'da % 0.25 dozda ve 72 saat süreli, % 0.1 dozda 2 ve 2.5 saat süreli kolhisin uygulamışlardır. Kolhisin sıvı MS ortamı içerisine katılarak uygulanmıştır. Tüm uygulamalarda bitkiciklerin ortalama % 75'i yaşamaya devam etmiş ve ortalama % 60 (çeşitlere göre % 30-90) diploid elde edilirken, haploid/diploid kimeralar ile tetraploidlere de rastlanmıştır.

Maestro ve Tejada (1992), *in vitro* haploid kavun bitkiciklerinden 1 yaprak ve 1 koltuk gözü içeren mikroçelikler ile 7-8 boğum taşıyan tüm bitkilere 2 saat süreyle % 0.5 kolhisin uygulamıştır. Mikroçeliklerin % 31'i hayatta kalırken tüm bitki uygulamalarında bu oran % 65'e ulaşmıştır. Araştırmacı, bu türde % 0.5 dozunda ve 2 saat süreli kolhisin uygulamasında bitkiciklerin % 45'inin yaşamını sürdürdüğünü, % 10'unun da katlanarak diploid hale geldiğini bildirmiştir.

Abak (1993), haploid biber bitkilerinin dihaploid hale getirilmesi için, bitkilerin toprağa şaşırtılmasından 20-30 gün sonra, büyüme ucu ve yan dallarının kesilerek kuvvetlice budanmasını, daha sonra da yaprak koltuklarındaki aksiller tomurcuklara birer damla % 0.5'lik kolhisin damlatılmasını önermiştir. Araştırmacı, uygulamanın 24 saat arayla 2 kez yapılması durumunda dihaploid bireylerin elde edilebileceğini bildirmiştir.

Sarı ve Abak (1996), karpuz türünde elde ettiği haploid bitkilere *in vitro* koşullarda 1, 2, 4 ve 6 saat süreyle % 0.5 ve % 1'lik kolhisin uygulamıştır. Uygulamalar Sugar Baby, Halep Karası ve Crimson Sweet çeşitlerinin 3-4 haftalık mikroçeliklerine yapılmıştır. % 0.5 yoğunlukta kolhisin uygulanan bitkilerin % 64'ü yaşamış ve % 56'sı gelişerek yeni bir bitkiye dönüşmüştür. % 1 dozunda ise yaşama ve gelişme oranları % 40 olarak belirlenmiştir. Denenen süreler arasında 6 saat

uygulaması en fazla bitki ölümlerine neden olmuştur. Haploid bitkilerden dihaploidlerin elde edilmesi için *in vitro* mikroçeliklerin % 0.5'lik kolhisin çözeltisinde 4 saat veya % 1'lik kolhisin çözeltisinde 2 saat tutulmasının en uygun yöntem olduğu saptanmıştır. Daha yüksek doz ve süreler bitkilerin kuruyarak ölmesine neden olmuş; düşük doz ve kısa sürelerde bitkiler haploid kalmışlardır. Bu sonuçlar **Çağlar (1995)**'ın hıyarda uygun bulduğu doz ve sürelerle de özdeştir.



3. MATERYAL ve METOT

Araştırma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bafra Meslek Yüksekokulu bünyesinde 1997-1999 yılları arasında yürütülmüştür.

Çalışmada esas olarak, ışınlanmış polen kullanımıyla haploid embriyo uyartımı ve bitki eldesi üzerine mevsimin, genotiplerin ve ışın dozlarının etkisi ele alınmıştır. Ayrıca, ışınlanmış polen tekniği yerine geçebileceği düşünülen, türler arası tozlamalar, polenlere toluidin mavisi, kolhisin ve su uygulamaları ile anter ve ovul kültürü de denenmiştir.

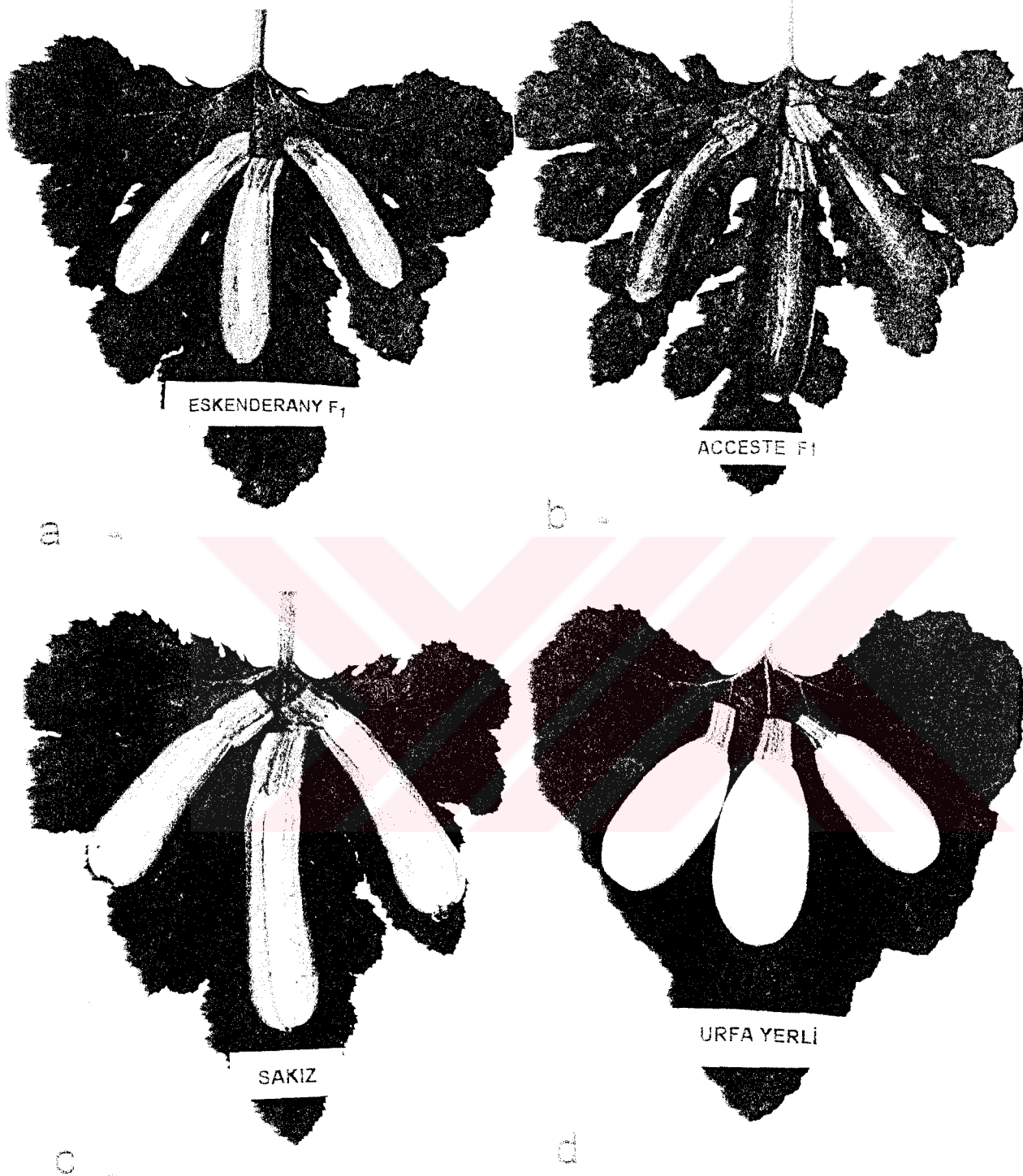
Çalışmanın ikinci kısmı olarak, elde edilen bitkilerin ploidi düzeylerini belirlemeye yönelik uygulamalar karşılaştırılmış ve güvenilirlik dereceleri incelenmiştir. Elde edilen haploid bitkilerin kromozom sayılarının katlanması için uygun kolhisin süreleri üzerinde durulmuştur.

3.1. MATERYAL

Işınlanmış polen tekniği yardımıyla partenogenetik haploid embriyo uyartımına genotipin ve mevsimin etkisini incelemek amacıyla yapılan araştırmalarda Eskenderany F₁ (Şekil 3.1 a) ve Aceste F₁ (Şekil 3.1 b) olmak üzere ikisi F₁ hibrit, Sakız (Şekil 3.1 c) ve Urfa Yerli (Şekil 3.1 d) olmak üzere de iki açık tozlanan genotip; polen kaynağı olarak ise bu dört genotipe ait polenlerin karışımı kullanılmıştır. Genotiplere ait kataloglarda yer alan bazı özellikler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Işınlamaya alternatif uygulamaların araştırıldığı farklı türlerin polenlerinden yararlanma çalışmalarında *Cucurbita moschata* (kışlık balkabağı), *Cucurbita maxima* (kışlık kestane kabağı), *Cucumis melo* var. *cantalupensis* cv. *Galia* F₁ (kavun), *Citrullus lanatus* cv. *Crimson Sweet* (karpuz), *Cucumis sativus* (hıyar), *Cucumis melo* var. *flexuosus* (acur), *Lagenaria siceraria* (su kabağı), *Luffa acutangula* (lif kabağı) ve *Cucumis ficifolius*'un polenleri ile tozlamalar yapılmıştır.

Anter ve ovül kültürleri ile polenlere kolhisin, toluidin mavisi ve su uygulamalarında da seçilen 4 kabak genotipinden yararlanılmıştır.



Şekil 3.1. Araştırmada kullanılan genotipler a) ESKENDERANY F₁, b) ACCESTE F₁, c) SAKIZ, d) Urfa Yerli

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan çeşitlerin bazı özellikleri (**Anonymous, 1995**)

Çeşit	Sağlandığı Kuruluş	Ekim-ilk Hasat Süresi (gün)	Meyve Uzunluğu (cm)	Meyve Rengi	Meyve Şekli	Bitki Yapısı	Ortalama Verim (kg/m ²)
ESK	Petoseed	52	12-15	Açık yeşil	Silindirik, düzgün	Toplu, kolsuz	5-6
ACS	Altın Toh.	53	14-17	Koyu yeşil	Silindirik, düzgün değil	Toplu, kolsuz	5-6
SKZ	Bursa Toh.	58	14-18	Yeşil-beyaz	Silindirik, düzgün, ince belli	Hafif toplu, nadiren kollu	4-5
UY *	Ç.Ü.Z.F. Bahçe Bit. Böl.	65	11-13	Yeşil-beyaz	Ampul şekilli, düzgün	Yayvan, çok kollu	2-3

* : Urfa Yerli genotipine ait gözlemler tarafımızca yapılmıştır

3.2. METOD

3.2.1. *In situ* Çalışmalar

Araştırmada kullanılan genotiplere ait tohumlar 1997 ve 1998 yıllarında mart-eylül dönemlerinde birer ay arayla ekilerek bu dönemler arasında tozlama yapılacak durumda bitki bulundurulmaya çalışılmıştır.

3.2.1.1. Işınlanmış Polenlerle *In situ* Partenogenesis Uyartımı

3.2.1.1.(1). Bitkilerin Yetiştirilmesi

Ekim öncesi tohumlar petri kaplarında ıslak kaba filtre kağıtları arasında 30 °C’lik iklim dolabı sıcaklığında 2 gün ön çimlendirmeye tabi tutulmuştur. Kökçük ucu görülen tohumlar, önceden Basamid ile fümige edilmiş “2 kısım yanmış çiftlik gübresi + 1 kısım bahçe toprağı + bir kısım kum” doldurulmuş viyollere ekilmiştir. İkinci gerçek yapraklarını oluşturan ve kökleri viyollerin altından görülmeye başlayan fideler önceden hazırlanmış dikim çukurlarına dikilmiş ve can suyu verilerek tutmaları

sağlanmıştır. İlk yetiştirme döneminde (mart dönemi tohum ekimi ve nisan dönemi dikimde) fideler plastik sera içerisinde 1997 yılında alçak tünel, 1998 yılında ise saydam PE malç+alçak tünel kullanılarak dikilmiş ve yetiştirilmiştir. **Çizelge 3.2**'de 1997 ve 1998 yıllarına ait tohum ekim ve fide dikim tarihleri ile her dönem ve her çeşide ait bitki sayıları ve yetiştirme yerleri verilmiştir.

Dikim tek sıralı yetiştirme sistemine göre yapılmış, sıra arası ve sıra üzeri mesafeler genotiplerin habitüs gelişimleri göz önüne alınarak ayarlanmıştır. Eskenderany F₁ ve Acceste F₁ genotipleri yan dal oluşturmada geliştiğinden sıra arası 100 cm, sıra üzeri 60 cm; Sakız genotipi nadiren de olsa kol verebildiğinden ve yayvan geliştiğinden sıra arası 120 cm, sıra üzeri 70 cm; Urfa Yerli genotipi ise çok sayıda yan dal oluşturup geniş bir alanda gelişim gösterdiğinden sıra arası 150 cm, sıra üzeri 100 cm olarak ayarlanmıştır. Yetiştiricilik süresince, gerekli olan bitki besin maddeleri topraktan ve buna ek olarak yapraktan uygulanarak verilmiş, bitki sağlığını korumak amacıyla da hastalık ve zararlılara karşı değişik insektisit ve fungusitlerle ilaçlama yapılmıştır.

Çizelge 3.2. 1997 ve 1998 yıllarında tohum ekim, fide dikim tarihleri ile her dönem ve genotipe ait bitki sayıları ve yetiştirme yerleri

1997 yılı

Dönemler	Ekim Tarihi	Dikim Tarihi	Bitki Sayısı (adet/genotip)	Yetiştirme Yerleri
1. Dönem	17.03.1997	11.04.1997	40	Plastik sera + Alçak Tünel
2. Dönem	05.05.1997	29.05.1997	40	Açık arazi
3. Dönem	04.07.1997	22.07.1997	40	Plastik sera
4. Dönem	25.08.1997	11.09.1997	40	Plastik sera

1998 yılı

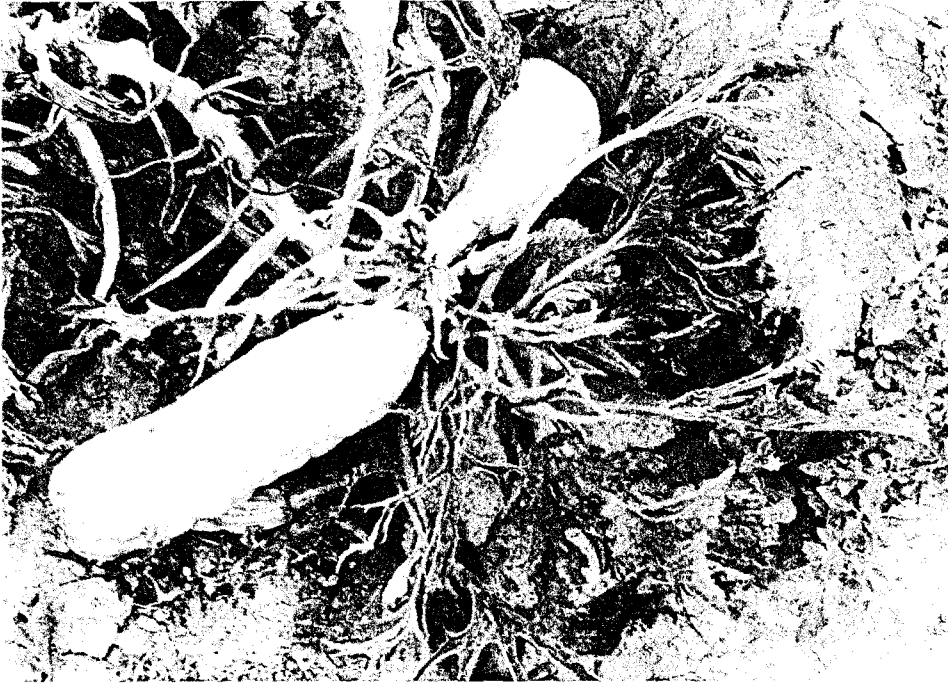
Dönemler	Ekim Tarihi	Dikim Tarihi	Bitki Sayısı (adet/genotip)	Yetiştirme Yerleri
1. Dönem	13.03.1998	03.04.1998	40	Pls. sera+Say. Malç+Alç. Tünel
2. Dönem	22.05.1998	08.06.1998	40	Açık arazi
3. Dönem	10.07.1998	28.07.1998	40	Plastik sera
4. Dönem	10.08.1998	25.08.1998	40	Plastik sera

Işınlamaya alternatif uygulamaların araştırıldığı çalışmanın farklı türlerin polenlerinden yararlanma kısmına ait bitkilerden *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima*, *Lagenaria siceraria*, *Luffa acutangula* ve *Cucumis ficifolius*'un tohumları 1997 yılında 10 Mart, 1998 yılında ise 14 Mart tarihlerinde ekilmiş, dikim ise sırasıyla 2 ve 4 Nisan tarihlerinde yapılmıştır. Bu bitkiler yıl boyu canlı tutulmuş ve tozlamalar bu bitkilerin polenleriyle yapılmıştır. *Cucumis melo*, *Citrullus lanatus*, *Cucumis sativus* ile 1998 yılında denemeye alınan *Cucumis melo* var. *flexuosus* türlerine ait tohumlar ise her dönemde ekilen kabak tohumları ile birlikte ekilmiş ve bunlarla birlikte dikilmişlerdir. Her farklı türden 5'er bitki kullanılmıştır.

1997 yılında temmuz, 1998 yılında ise ağustos ayında yaprak biti ve kırmızı örümcek popülasyonunun artmasıyla birlikte, bitkiler fide döneminde tül örtü ile (Şekil 3.2) korunmasına rağmen, dikim sonrası bulaşmalar neticesinde Sakız ve Urfa Yerli genotiplerinin tamamına yakını; Eskenderany F₁ ve Acceste F₁ genotiplerinin büyük bir kısmı ZYMV (Şekil 3.3) belirtileri göstermiş, bu sebeple bu dönemlerden oldukça az meyve elde edilmiştir.



Şekil 3.2. Fidelerin tül perde yardımıyla hastalık enfeksiyonundan korunması

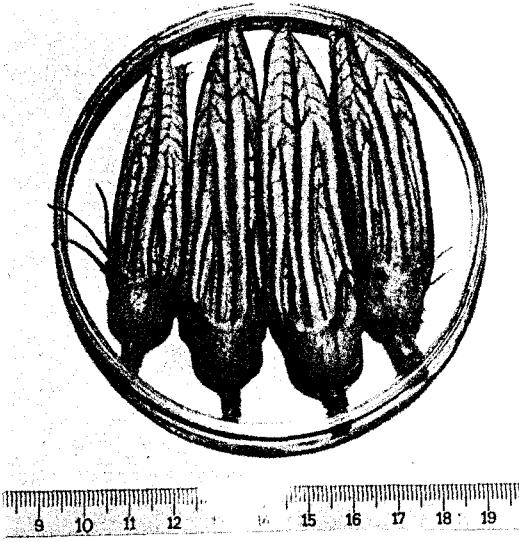


Şekil 3.3. Kabak bitkisinde ve meyvelerinde ZYMV belirtileri

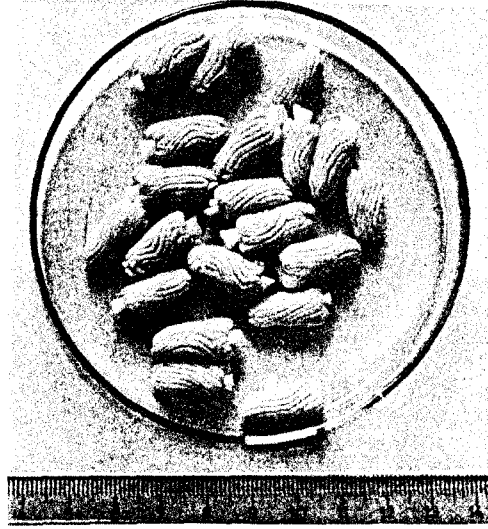
3.2.1.1.(2). Erkek Çiçeklerin Toplanması, Işınlanması ve Muhafazası

Çiçek tozlarının elde edilmesi amacıyla anthesisten bir önceki güne rastlayan olgunluktaki henüz açılmamış erkek çiçekler toplanmıştır (Şekil 3.4). Bu çiçekler taç ve çanak yaprakları ile filamentlerinden tamamen arındırılarak, sadece çiçek tozlarını taşıyan anterler kalacak şekilde hazırlanmış ve ışınlanmıştır (Şekil 3.5).

Her ışın dozu için, kullanılan her genotipten eşit sayıda olacak şekilde, özel olarak hazırlanmış 5x5 cm boyutlarında ve derinliği 1.5 cm olan karton kutulara konulan anterler, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Radyasyon Onkolojisi Ana Bilim Dalı'na ait Co⁶⁰ kaynağı ile gama ışını veren Theratron 780-C marka teloterapi cihazında akut olarak ışınlanmışlardır (Şekil 3.6).



Şekil 3.4. Anthesisten bir gün önce toplanmış erkek çiçekler



Şekil 3.5. Işınlanmak üzere hazırlanmış anterler



Şekil 3.6. Anterlerin ışınlandığı Co⁶⁰ kaynaklı gama ışını veren Theratron 780-C marka teloterapi cihazı

Işın dozu olarak 1997 yılında 50, 100, 200, 300 ve 400 Gy dozları seçilmiş; bu dozlara aynı yılın haziran ayından başlamak üzere 25 ve ağustos ayından başlamak üzere de 75 Gy dozları eklenmiştir. Yüksek dozların olumsuz etkilerinin gözlenmesi (partenokarpik meyve vermesi ve tohum oluşturmaması) üzerine, ikinci yıl denemesinde yalnızca 25, 50, 75, 100 ve 200 Gy dozlarıyla çalışılmıştır. Bu dozları sağlamak için materyal, kaynağın gücündeki azalmalar da dikkate alınarak, farklı sürelerde ışınlamaya tabi tutulmuş, ışınlamalar bitkilerin erkek ve dişi çiçek verme durumuna bağlı olarak değişik zaman aralıklarında yapılmıştır (**Çizelge 3.3**). Anterlerin bir kısmı ise kontrol olarak kullanılmak üzere ayrılmıştır.

Çizelge 3.3. 1997 ve 1998 yıllarına ait ışınlama dozları, tarihleri ve süreleri (dakika)

1997 yılı

Dozlar (Gy)	Işınlama tarihleri ve süreleri (dakika)								
	21/05	02/06	19/06	02/07	16/07	01/08	22/08	02/09	15/09
25	*	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.57	0.57	0.57
50	1.10	1.11	1.11	1.12	1.12	1.12	1.13	1.14	1.14
75	*	*	*	*	*	*	1.71	1.73	1.73
100	2.20	2.22	2.22	2.25	2.25	2.25	2.28	2.30	2.30
200	4.40	4.44	4.44	4.49	4.49	4.49	4.55	4.61	4.61
300	6.59	6.67	6.67	6.74	6.74	6.74	6.82	6.88	6.88
400	8.79	8.89	8.89	8.99	8.99	8.99	9.10	9.22	9.22

* : Denemeye alınmadığından ışınlama yapılamamıştır

1998 yılı

Dozlar (Gy)	Işınlama tarihleri ve süreleri (dakika)												
	26/5	1/6	9/6	16/6	23/6	2/7	6/7	28/7	12/8	18/8	16/9	22/9	29/9
25	0.62	0.62	0.63	0.63	0.63	0.64	0.64	0.64	0.65	0.65	0.66	0.66	0.66
50	1.25	1.25	1.27	1.27	1.27	1.29	1.29	1.29	1.30	1.30	1.31	1.31	1.31
75	1.87	1.87	1.89	1.89	1.89	1.92	1.92	1.92	1.94	1.94	*	*	*
100	2.51	2.51	2.54	2.54	2.54	2.58	2.58	2.58	2.61	2.61	*	*	*
200	5.01	5.01	5.08	5.08	5.08	5.16	5.16	5.16	*	*	*	*	*

* : Yeterli sayıda erkek veya dişi çiçek olmadığından ışınlama yapılamamıştır

Öğleden sonra 14⁰⁰ ile 15⁰⁰ arasında toplanarak hazırlanan ve saat 16³⁰ ile 17⁰⁰ arasında reaktörde ışın uygulanan anterler o gece oda sıcaklığında bekletilerek patlamaları sağlanmıştır. Olgunlaşmış polenlerin anterlerin üzerinden alınması amacıyla n-pentan [CH₃ (CH₂)₃ CH₃] içerisine bandırılması; kavun (**Risser ve Rode, 1984**;

Gürsöz, 1990), karpuz (Sarı, 1994) ve hiyarda (Çağlar, 1995) başarı ile uygulanmışsa da, kabak polenlerinin yapışkan bir yapıya sahip olmaları ve uygulamadan sonra kompakt bir yapı oluşturarak kullanılmaz hale gelmeleri sebebiyle bu türde uygulanamaz bulunmuştur. Bu sebeple, ışınlamanın ertesi günü sabah erken saatte (6^{00} - 6^{30} arasında) anterlerin patlamasıyla olgun hale gelmiş olan polenler yumuşak samur bir fırça yardımıyla anterlerin üzerinden alınmış, tozlama için petri kaplarında tutulmuş, bu gün araştırmada “0. gün” olarak kabul edilmiştir. Polenler petri kapları içerisinde $+4^{\circ}\text{C}$ 'de buzdolabında saklanarak canlılıkları korunmaya çalışılmıştır.

3.2.1.1.(3). Dişi Çiçeklerin İzolasyonu

Ana bitki olarak kullanılan tüm genotipler monoik çiçek yapısında olduğu için dişi çiçekler anthesisten bir gün önce alüminyum pensler kullanılarak kapatılmış ve kontrol dışı polen girişi önlenmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Anthesisten bir gün önce pens ile izole edilmiş bir dişi çiçek

3.2.1.1.(4). Tozlama

Işınlamanın ertesi günü, pensle izole edilmiş olan dişi çiçeklerdeki pensler açılarak, samur bir fırça yardımıyla, stigma yüzeyi iyice örtülünceye kadar çiçek tozları dişicik tepesi üzerine aktarılmıştır (**Şekil 3.8**). Tozlamalarda bütün çeşitlere ait çiçek tozları karıştırılarak kullanılmış ve her ışın dozundan her bir çeşitte eşit sayıda dişi çiçek tozlanmaya çalışılmıştır. Tozlama işlemleri sabah saat 7³⁰-9³⁰ arasında yapılmıştır.

Tozlamadan sonra dişi çiçeğin taç yaprakları tekrar bir araya getirilerek penslenmiş, böcek girişini engellemeyi garantilemek için de (zira bazı arı türleri taç yaprakları keserek bal özüne dolayısıyla da stigma üzerine ulaşabilmektedir) bunlara selofan kese geçirilmiştir (**Şekil 3.9**). Tozlamadan 2 ya da 3 gün sonra stigmanın kuruduğu dönemde selofan keseler ve klipsler dişi çiçeklerin üzerinden alınmıştır. Yine tozlamadan 5-6 gün sonra herhangi bir gelişme göstermeyen ve tutmadığı anlaşılan dişi çiçeklerin etiketleri alınarak kaydedilmiştir. Tozlamalar, ışınlamanın ertesi günü (0. gün) veya 2 gün sonra (1. gün) yapılmıştır (**Çizelge 3.4**).



Şekil 3.8. Anthesis günündeki bir dişi çiçeğin ışınlanmış polenlerle tozlanması



Şekil 3.9. Tozlama sonrası dişi çiçeğin penslenmesi ve selofan kese ile kapatılarak etiketlenmesi

Çizelge 3.4. Polen ışınlama ve tozlama tarihleri

Işınlama Tarihleri	1997 Dönemi		Işınlama Tarihleri	1998 Dönemi	
	0.gün	1.gün		0.gün	1. gün
21/05	22/05	23/05	26/05	27/05	-
02/06	03/06	-	01/06	02/06	03/06
19/06	20/06	-	09/06	10/06	-
02/07	03/07	04/07	16/06	17/06	18/06
16/07	17/07	18/07	23/06	24/06	-
01/08	02/08	-	02/07	03/07	04/07
22/08	23/08	-	06/07	07/07	08/07
02/09	03/09	04/09	28/07	29/07	-
15/09	16/09	17/09	12/08	13/08	-
			18/08	19/08	-
			16/09	17/09	18/09
			22/09	23/09	24/09
			29/09	30/09	01/10

- : Yeterli sayıda dişi çiçek ya da polen olmadığından tozlama yapılamamıştır.

Tozlama çalışmalarında aşağıdaki sayım ve hesaplamalar yapılmıştır:

Tozlanan çiçek sayısı (TÇS) (adet): Denemeye alınan tüm genotiplerde, kullanılan ışın dozları için her dönemde tozlanan dişi çiçek sayısı sayılmıştır.

Tutan meyve sayısı (TMS) (adet): Tüm genotiplerde, kullanılan ışın dozları için her dönemde tozlanan dişi çiçeklerdeki meyve bağlayan çiçek miktarları sayılmıştır.

Meyve bağlama oranı (MBO) (%): Tüm genotiplerde, kullanılan ışın dozları için her dönemde meyve bağlayan çiçek sayılarının, tozlanan dişi çiçek sayısına oranının 100 ile çarpımıyla bulunmuştur.

Farklı yaştaki polenlerle tozlanan çiçek sayısı (adet): Işınlanmış polenlerle 0. ve 1. günlerde tozlanan çiçek sayıları ayrı ayrı kaydedilmiştir.

Farklı yaştaki polenlerle tozlanan çiçeklerdeki meyve bağlama oranı (%): Işınlanmış polenlerle 0. ve 1. günlerde tozlanan çiçeklerden elde edilen meyve sayılarının, tozlanan çiçek sayısına oranının 100 ile çarpımıyla bulunmuştur.

3.2.1.2. Işınlamaya Alternatif Uygulamalar

3.2.1.2.(1). Farklı Türlerin Polenlerinden Yararlanma

Farklı türlerin polenlerinden yararlanma çalışmalarında *Cucurbita moschata* (kışlık balkabağı), *Cucurbita maxima* (kışlık kestane kabağı), *Cucumis melo* var. *cantalupensis* cv. Galia F₁ (kavun), *Citrullus lanatus* cv. Crimson Sweet (karpuz), *Cucumis sativus* (hıyar), *Cucumis flexuosus* (acur), *Lagenaria siceraria* (su kabağı), *Luffa acutangula* (lif kabağı), *Cucumis ficifolius*'un polenleri ile tozlamalar yapılmıştır.

Bu amaçla; anthesisten bir gün önce erkek çiçekler toplanmış, *C. moschata*, *C. maxima*, *L. vulgaris* ve *L. acutangula* türlerinde sadece anter kalacak şekilde; *C. melo*, *C. sativus*, *C. flexuosus*, *C. ficifolius* ve *C. lanatus* türlerinde ise taç ve kısmen çanak yaprakları alınarak petri kapları içerisinde o gece boyunca oda sıcaklığında patlamaları sağlanmıştır. *Lagenaria vulgaris* (su kabağı) türünün çiçekleri akşama

doğru saat 16⁰⁰-17⁰⁰ arasında açtığından, bu türün erkek çiçekleri öğleye doğru toplanarak muhafazaya alınmıştır.

Ertesi sabah, bir gün önceden penslerle izole edilmiş olan dişi çiçekler, *C. moschata*, *C. maxima*, *L. vulgaris* ve *L. acutangula* türlerinin anterlerinden alınmış polenlerinin dişicik tepesi üzerine samur bir fırça yardımıyla sürülmesiyle; *C. melo* var. *flexosus*, *C. melo* ve *C. sativus*'da 5-6, *C. lanatus*'da 2, *C. ficifolius*'da ise 7-8 adet erkek çiçek kullanılarak tozlanmıştır.

3.2.1.2.(2). Polenlere Toluidin Mavisi, Kolhisin ve Su Uygulama

Anthesisten bir gün önce erkek çiçekler toplanmış, sadece anter kısmı kalacak şekilde çanak ve taç yapraklarından arındırılarak patlamaları için o gece oda sıcaklığında bekletilmişlerdir. O günün sabahında patlamış durumdaki anterlerden çiçek tozları samur bir fırça yardımıyla alınmış ve **Rogers ve Ellis (1966)**, **Brun (1990)** ile **Sarı ve Abak (1995)**'a uyularak 10 dakika süre ile 50, 100, 150 ve 200 ppm dozlarında hazırlanmış toluidin mavisi çözeltisinde bekletilmiştir. Daha sonra polenler ile toluidin mavisinin kolayca ayrılmasını sağlamak amacıyla materyal SARTORIUS marka bir santrifüjde oda sıcaklığında 5 dakika süreyle 3000 devir/dakika hızında santrifüjlenmiştir. İşlem sonrası altta toplanan polenlerin üzerindeki toluidin mavisi çözeltisi sarsılmadan boşaltılmış ve polenler iklim dolabında 25 °C sıcaklıkta kurutulduktan sonra, bir gün önceden izole edilmiş çiçekler bu polenlerle tozlanmıştır.

Polenlere kolhisin uygulamasında aynı şekilde elde edilen polenler % 0.02 'lik kolhisin çözeltisinde 10 (**Montelongo-Escobedo ve Rowe, 1969**) ve 20 (**Brun, 1990**) dakika sürelerle bekletilmiştir.

Su uygulamasında ise polenler 15 dakika süre ile saf suda bekletilmiş (**Brun, 1990**), santrifüjlendikten ve kurutulduktan sonra araziye götürülerek tozlamalar yapılmıştır.

Uygulamaların tümünde polen kaynağı olarak, her uygulama ve her doz için eşit sayıda anter kullanmak şartıyla, denemeye alınan dört genotipin polenleri kullanılmıştır. Her uygulama ve her genotipten en az üçer çiçek tozlanmıştır.

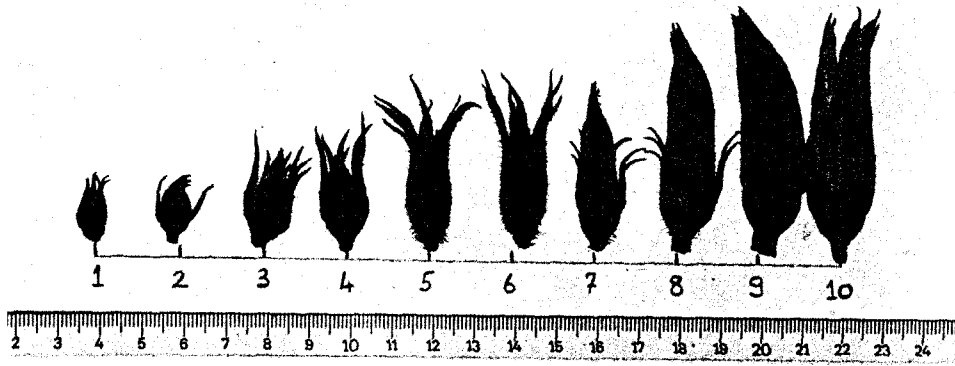
3.2.1.2.(3). Anter ve Ovül Kültürü Çalışmaları

3.2.1.2.(3).(a). Anter Kültürü

Tek çekirdekli mikrospor dönemini (**Şekil 3.10**) belirlemek amacıyla 4 kabak genotipine ait değişik olgunluk dönemindeki tomurcuklar laboratuvara getirilmiş ve 24 saat süreyle 3:1 (3 kısım % 96'lık etil alkol : 1 kısım glacial asetik asit) çözeltisinde tutulmuştur. Bu sürenin sonunda anterler % 1'lik asetokarmin ile ezme preparat yöntemine göre incelenmiş ve uygun anter dönemi belirlenmiştir (**Elçi, 1994**). Buna göre, **Şekil 3.11**'de de görüldüğü gibi 1 ve 2 numaralı erkek çiçek tomurcukları kültüre alınmıştır.



Şekil 3.10. Tek çekirdekli mikrospor dönemi (720x)



Şekil 3.11. Kabakta erkek çiçek oluşumunun değişik aşamaları

Uygun aşamadaki tomurcuklar toplanmış ve buzdolabında 4 gün süreyle +4 °C’de ön uygulamaya tabi tutulmuştur (Shail ve Robinson, 1987; Metwally ve ark., 1998 a). 4. günün sonunda tomurcukların çanak yaprak uzantıları alınmış ve steril kabin altında ilk önce % 70’lik etil alkolde 2 dakika, daha sonra % 20’lik sodyum hipokloritte 20 dakika tutularak yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Sterilizasyon sonrası tomurcuklar steril saf su ile 3 defa yıkanmış ve steril kurutma kağıtları ile fazla suları alınmıştır. Bu şekildeki tomurcuklar taç ve çanak yaprakları ile filamentlerinden temizlenerek daha önceden hazırlanmış ve 9 cm çaplı petri kutularına doldurulmuş 8 farklı ortamda kültüre alınmıştır. Bu amaçla sakkarozun 2 (120 ve 150 g/l), 2,4-D’nin 4 (5.0, 7.5, 10.0 ve 12.5 mg/l) değişik dozu kullanılarak hazırlanmış katı MS (Murashige and Skoog, 1962) besi ortamı kullanılmıştır.

pH’sı 5.7’ye ayarlanan ortama 8 g/l agar eklenmiş ve iyice çözdürüldükten sonra her petriye yaklaşık 25 ml olacak şekilde doldurularak 1.2 atmosfer basınçta, 125 °C sıcaklıkta 15 dakika süreyle otoklavlanmıştır.

Her petriye 5 anter ekilmiş ve petriler şeffaf folyo ile sıkıca kapatılarak 35 °C sıcaklıkta ve karanlık koşullarda 1 hafta bekletilmiştir (Qin ve Rotino, 1993; Metwally ve ark., 1998 a). Daha sonra anterler kallus oluşumu gerçekleşinceye kadar 4-7 hafta 25 °C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda oluşan kalluslar, Chee (1991) tarafından önerildiği şekilde 0.23 mg/l kinetin ve 0.27 mg/l NAA ile modifiye edilmiş MS ortamına aktarılmıştır. Bu şekildeki kalluslar iklim odasında 25 °C sıcaklık ve 16 saatlik fotoperiyotta (yaklaşık 1000 lüx) 4 hafta tutulmuşlardır. Daha

sonra kalluslar aynı şartlar altında 4 hafta hormon içermeyen MS ortamında bırakılmışlardır. Bu işlemler sırasında kallus oluşturan anter oranı (%), oluşan kallusların ortalama alanları hesaplanmıştır. Kallus yığınlarının kitlesine göre 1-6 skalası yapılmış ve değerlendirmelerde 1: 0-99 mm², 2: 100-199 mm², 3: 200-299 mm², 4: 300-399 mm², 5: 400-499 mm², 6: 500-599 mm² olarak kabul edilmiştir.

4 yinelemeli olarak kurulan deneme bölünen bölünmüş parseller deneme desenine göre değerlendirilmiş ve farklılıklar Tukey testine göre karşılaştırılmıştır.

Elde edilen bitkicikler yeterli gelişme gösterinceye kadar hormonsuz MS besin ortamı içeren kültür tüplerinde bekletilmişlerdir. Yeterli büyüklüğe ulaşan bitkicikler, daha kültür odası koşullarında iken, dış ortama alıştırılmaya başlanmıştır (**Çetiner, 1992**). Bu amaçla ilk önce tüp kapaklarının şeffaf folyoları açılarak 1 hafta beklenmiş, daha sonra tüp kapakları kademeli olarak yavaş yavaş açılarak 3. haftanın sonunda tamamen kaldırılmıştır. Ortam üzerinde ilk fungus belirtileri görülmeye başladığında bitkicikler tüplerden dikkatlice çıkarılmış, kökleri agardan temizlendikten sonra fungusitli (% 0.2'lik Captan) suya batırılmış ve içerisinde sterilize edilmiş torf bulunan plastik kaplara, 7-8 yapraklı aşamaya geldiklerinde de içerisinde 2:1 oranında sterilize edilmiş torf ve kum bulunan 20 cm çaplı saksılara dikilmişlerdir.

Elde edilen bitkilerin ploidi düzeylerini belirlemek amacıyla sitolojik çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla stoma boyutları ve bekçi hücrelerindeki kloroplast sayıları ile kök ucu kromozom sayımları yapılmıştır. Bu konulara “**3.2.4. Ploidi Düzeyinin Belirlenmesi**” konusunda değinileceği için burada ayrıntılı açıklanmamıştır.

3.2.1.2.(3).(b). Ovül Kültürü

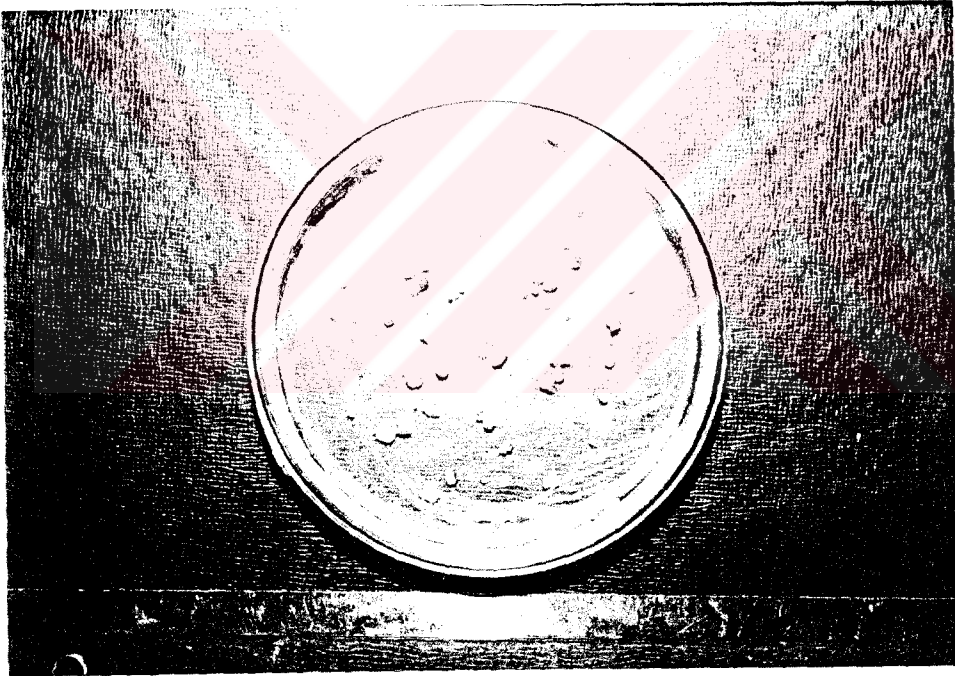
Bu amaçla anthesisten bir gün önce toplanan dişi çiçekler aynı gün hiçbir ön uygulamaya tabi tutulmaksızın (**Metwally ve ark., 1998 b**) taç yapraklarından ve dişicik organlarından (stigma ve stil) temizlenmiştir. Sadece ovaryum kısmı kalan çiçekler steril kabin altında % 70'lik etil alkolde 3 dakika süreyle tutularak yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Sterilizasyon sonrası ovaryumlar steril saf su ile 3 defa yıkanmış ve steril kurutma kağıtları ile fazla suları alınmıştır. Bu şekildeki ovaryumlar

steril kabin altında binoküler kullanılarak açılmış ve çıkarılan ovüller daha önceden hazırlanmış ve 9 cm çaplı petri kutularına doldurulmuş 5 mg/l 2,4-D içeren MS ortamında kültüre alınmıştır (Metwally ve ark., 1998 b).

pH'sı 5.7'ye ayarlanan ortama 8 g/l agar eklenmiş ve iyice çözündürüldükten sonra her petriye yaklaşık 25 ml olacak şekilde doldurularak 1.1 atmosfer basınçta, 125 °C sıcaklıkta 15 dakika süreyle otoklavlanmıştır.

Her petriye yaklaşık olarak 50 adet ovül ekilmiş (Şekil 3.12) ve petriler streç film ile sıkıca kapatılarak iklim odasında 25 °C sıcaklık ve 16 saatlik fotoperiyotta 4 hafta, daha sonra aynı şartlar altında 4 hafta hormon içermeyen MS ortamında bırakılmışlardır.

4 yinelemeli olarak kurulan deneme tesadüf blokları deneme desenine göre değerlendirilmiş ve farklar Tukey testine göre karşılaştırılmıştır.



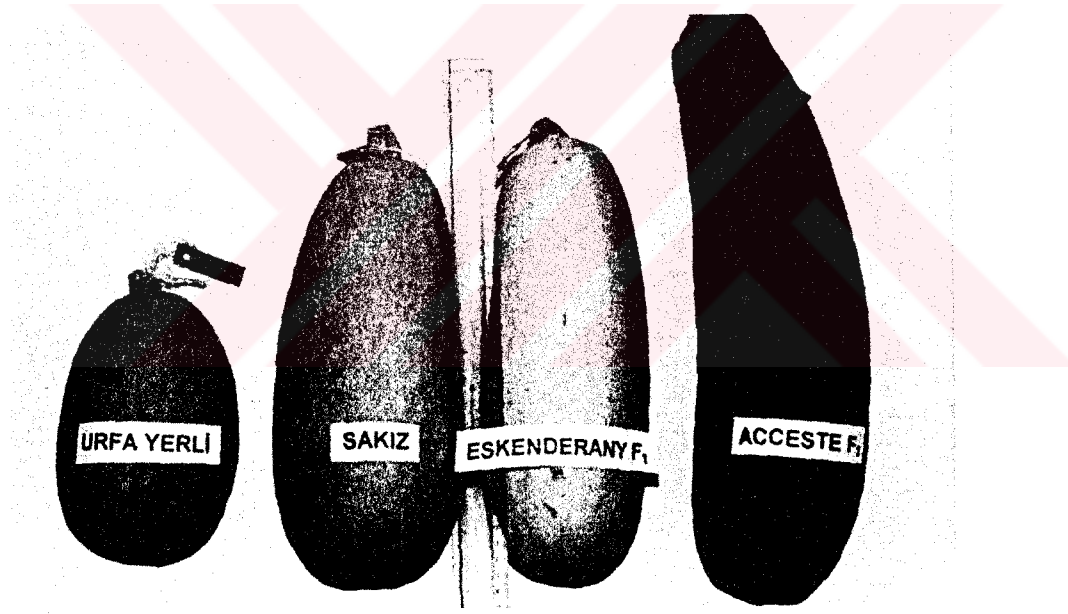
Şekil 3.12. MS besi ortamı üzerinde kültüre alınmış ovüller

3.2.2. *In vitro* Kültürler

Işınlanmış polenlerle ve farklı türlerin polenleriyle tozlama sonucu elde edilen yaklaşık 5 haftalık meyveler, hasat olgunluğu geçtikten ancak tohumlar henüz tam

olarak olgunlaşmadan hasat edilmiştir. Meyve hasat süresinin embriyo uyartımı ve gelişimi üzerine etkisini belirlemek amacıyla tozlamayı takiben meyveler 15, 20, 25, 30 ve 35 gün olmak üzere 5'er gün aralıklarla hasat edilmişlerdir. 15-25 günlük meyvelerden çıkarılan tohumların henüz tam olarak gelişmediği ve bulunan embriyoların bir çoğunun da yumuşak ve bitkiye dönüşme yeteneklerinin zayıf olduğu belirlendiğinden, daha sonraki tozlamalarda meyveler 5-6 haftalık iken hasat edilerek ekstraksiyon yapılmıştır.

Hasat süresinin uzatılması sert embriyo oranını iri meyveli Eskenderany F₁, Acceste F₁ ve Sakız genotiplerinde artırırken, meyveleri nispeten küçük olan Urfa Yerli genotipinde azaltmış ve nekrozeli embriyo oranını artırmıştır. Bu sebeple Urfa Yerli genotipinin meyveleri 4 haftalık kadarken hasat edilmiştir (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. Işınlanmış polenlerle tozlanan çiçeklerden elde edilen meyveler

Hasat edilen meyveler steril kabin altında kesilerek tohumları çıkartılmıştır. Bu tohumlar sayılmış, teker teker incelenerek embriyoları kültüre alınmış ve bunların *in vitro* koşullarda bitkiye dönüştürülmesine çalışılmıştır.

3.2.2.1. Dezenfeksiyon

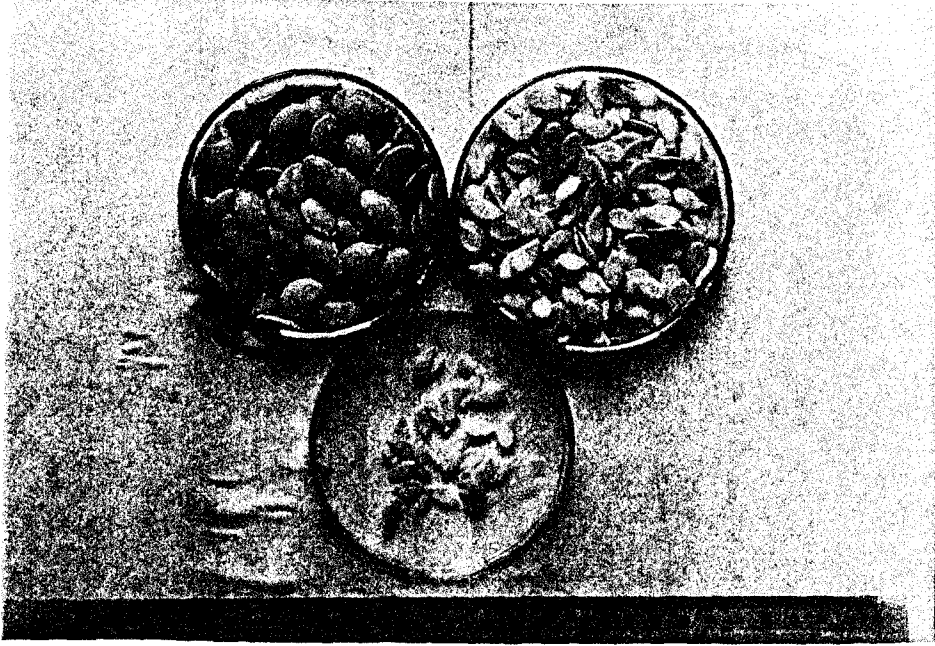
Hasat edilerek laboratuvara getirilen meyveler, çeşme suyu altında yıkanarak kaba kirleri alınmıştır. Kurulanan meyveler 5 g taksimatlı digital terazide tartılmış, ekstraksiyon öncesi steril kabin altında % 96'lık etil alkolle iyice ıslatıldıktan sonra yakılarak yüzey sterilizasyonu yapılmıştır (**Şekil 3.14**).



Şekil 3.14. Ekstraksiyon öncesi bir meyvenin steril kabin altında % 96'lık etil alkol ile yakılarak dezenfekte edilmesi

3.2.2.2. Ekstraksiyon

Steril kabin içerisinde dezenfekte edilen meyveler steril bir bıçak yardımıyla içlerindeki tohumlara zarar verilmeyecek şekilde dikkatlice kesilmiş ve içerdikleri bütün tohumlar (çok küçük, zar veya iz şeklinde olanlar hariç) çıkarılarak teker teker açılmış ve incelenmiştir. **Şekil 3.15**'de endosperm içeren dolu (diploid) tohumlar ile aynı meyveden çıkartılan ve bir kısmı sadece embriyo içeren boş görünümlü tohumlar sunulmuştur.



Şekil 3.15. Steril kabin içerisinde meyvelerden çıkarılan değişik aşamadaki (dolu, üst solda; boş, üst sağ ve altta) tohumlar

Endospermi bulunmayan tohumlardan elde edilen embriyolar, embriyogenesis aşamalarına göre gruplandırıldıktan sonra kültüre alınmıştır. Elde edilen embriyolar gelişim aşamalarına ve özelliklerine göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır.

- Nokta** : Tohumun uç kısmında yer alan; sert, beyaz renkli nokta kadar küçük embriyo (**Şekil 3.16 a**)
- Globüler** : Tohumun uç kısmında yer alan; sert, beyaz renkli, gelişimi globüler aşamada durmuş embriyo (**Şekil 3.16 b**)
- Ok ucu** : Tohumun ucuna doğru büyümüş, torpedo aşamasına henüz gelmemiş, sert, beyaz renkli embriyo (**Şekil 3.16 c**)
- Çubuk** : Sert, beyaz renkli, bir çubuğu andıran, değişik konum ve büyüklüklerde olan embriyo (**Şekil 3.16 d**)
- Torpedo** : Henüz kotiledon aşamasına ulaşmamış, sert, beyaz renkli, oldukça gelişmiş, değişik büyüklüklerde embriyo (**Şekil 3.16 e**)
- Yürek** : Sert, beyaz renkli, yürek şeklini andıran, değişik büyüklüklerde olan embriyo (**Şekil 3.16 f**)

- Kotiledon** : Kotiledon yaprakları belirgin hale gelmiş, sert, beyaz renkli, değişik büyüklüklerde olan embriyo (**Şekil 3.16 g**)
- Şekilsiz** : Kotiledon ve yürek arasındaki çeşitli gelişme dönemlerinde kalmış, sert, beyaz renkli embriyo (**Şekil 3.16 h, i, j, k, l**)
- Nekrotik** : Bitkiye dönüşemeyecek yapıda olan, kahverengimsi nekrotik embriyolardır (**Şekil 3.16 m, n**).

In vitro çalışmaları esnasında tüm genotiplerde, kullanılan ışın dozları ve her tozlama dönemi için aşağıdaki değerlendirmeler yapılmıştır:

Tohum sayısı (TS) (adet): Steril kabin içerisinde açılan her meyveden çıkarılan tohumlar sayılarak kaydedilmiştir.

Meyve başına ortalama tohum sayısı (OTS) (adet/meyve): Elde edilen tohumların meyve sayısına bölünmesiyle bulunmuştur.

Toplam embriyo sayısı (TES) (adet): Her uygulamada elde edilen toplam embriyo sayıları hesaplanmıştır.

Sert embriyo oranı (SEO) (%): Bitkiye dönüşebilecek durumdaki sert, beyaz renkli embriyoların elde edilen toplam embriyoya oranı “%” olarak ifade edilmiştir.

Nekrotik embriyo oranı (NEO) (%): Sarı, sarı-kahverengi veya açık kahverengindeki, bitkiye dönüşemeyecek durumdaki embriyoların toplam embriyoya oranı “%” olarak verilmiştir.

Farklı gelişme safhalarındaki embriyo sayıları (adet): Her çeşit ve her ışın dozu için elde edilen nokta, globüler, ok ucu, çubuk, torpedo, yürek ve kotiledon şeklindeki embriyolar ile şekilsiz yapılar sayılmıştır.

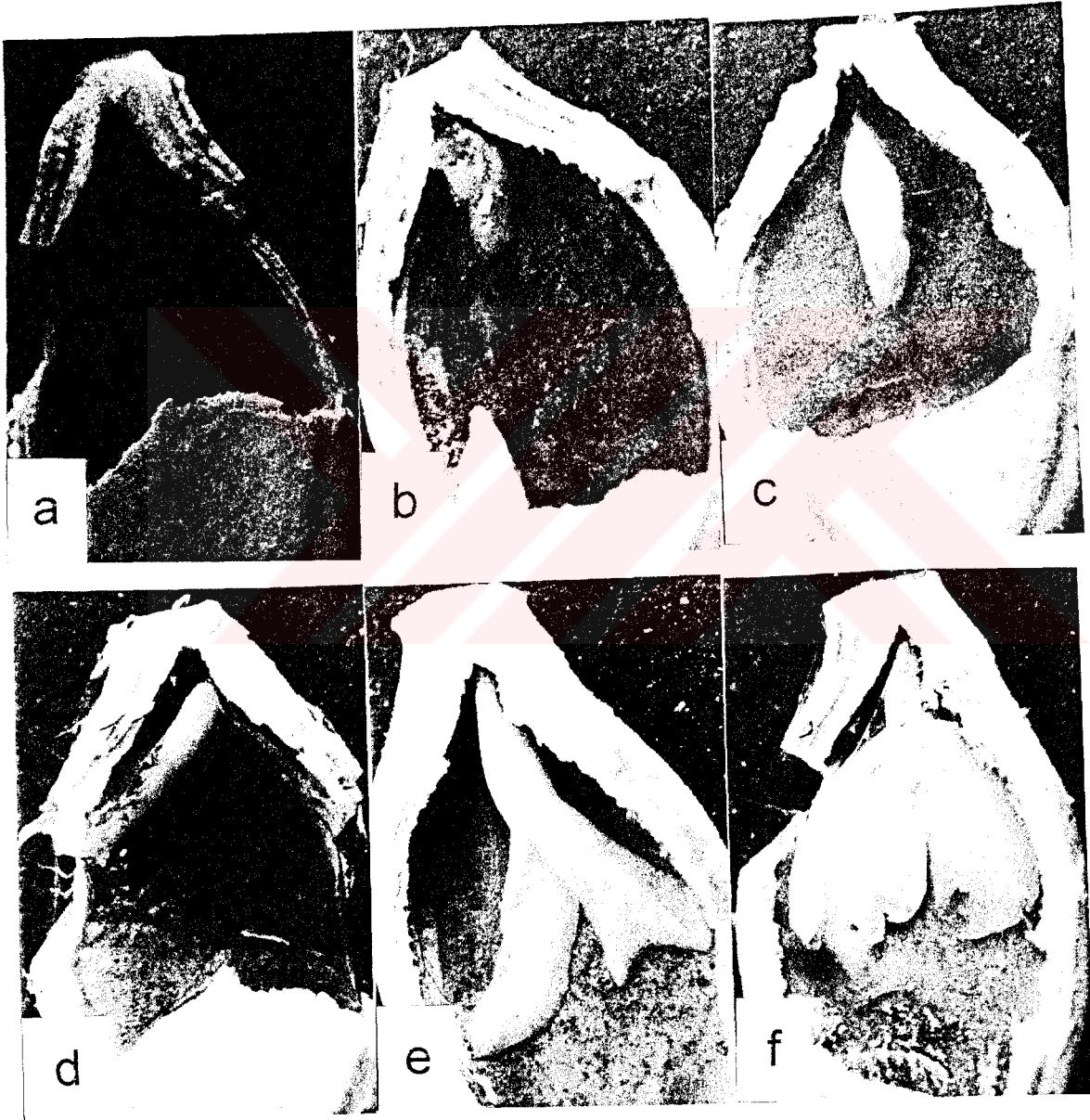
Meyve başına ortalama embriyo sayısı (MBE) (adet/meyve): Toplam embriyo sayısının meyve sayısına bölünmesiyle elde edilmiştir.

Farklı gelişme safhalarındaki embriyoların bitkiye dönüşüm oranları (%): Değişik gelişme safhalarındaki embriyolardan elde edilen bitkilerin, o safhadaki toplam sert, beyaz renkli embriyo sayısına oranı “%” olarak hesaplanmıştır.

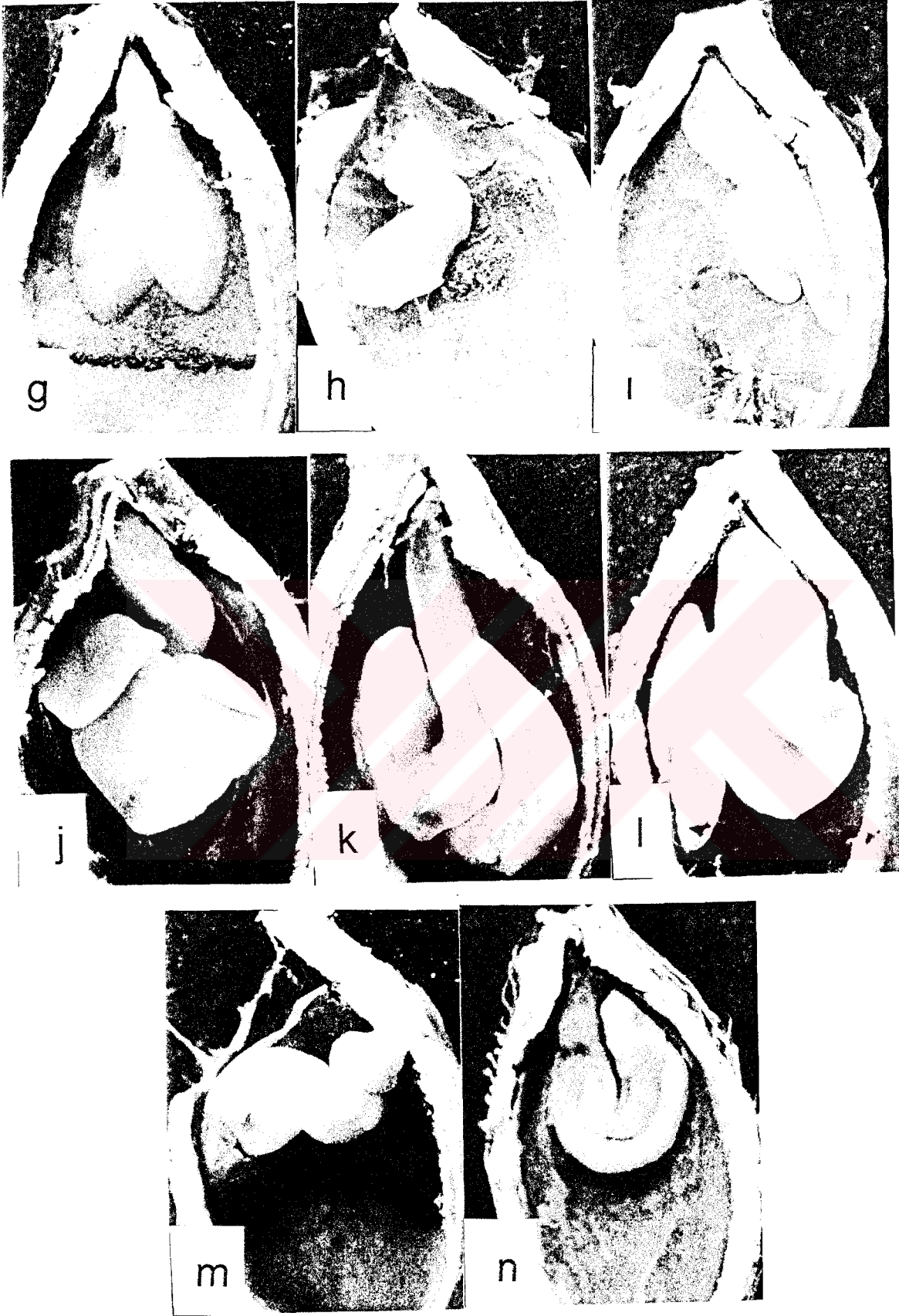
Değişik safhalardaki embriyolardan elde edilen bitkilerin gelişme durumları: Değişik safhalardaki embriyolardan elde edilen bitkilerin, bitkiye dönüşüm

süreleri (gün), ilk mikroçeliklemeye gelme zamanları (gün), ilk mikroçeliklemeye geldikleri aşamadaki ortalama boyları (cm), ilk mikroçeliklemeye geldikleri aşamadaki ortalama boğum sayıları (adet), ilk mikroçeliklemeye geldikleri aşamadaki ortalama boğum arası uzunlukları (cm) bulunmuştur.

Haploid üretim etkinliği: “100 tohum/haploid bitki”, “100 embriyo/haploid bitki” ve “meyve başına haploid bitki” kriterleri göz önüne alınarak belirlenmiştir.



Şekil 3.16. Kabakta değişik embriyo şekilleri. a) Nokta; b) Globüler; c) Ok ucu; d) Çubuk; e) Torpedo; f) Yürek



Şekil 3.16'nın devamı. g) Kotiledon; h, i, j, k, l) Şekilsiz; m, n) Nekrotik

3.2.2.3. Besin Ortamı

Işınlanmış ve türler arası tozlamalardan gelmiş embriyoların kültüre alınmasında daha önce yapılan embriyo kültürü çalışmalarında kavun (Sauton, 1987; Gürsöz ve ark., 1990), karpuz (Sarı ve ark., 1994) ve hiyarda (Çağlar ve Abak, 1995) başarılı sonuçlar veren E20A besin ortamı kullanılmıştır. E20A besin ortamının bileşimi Çizelge 3.5’de verilmiştir.

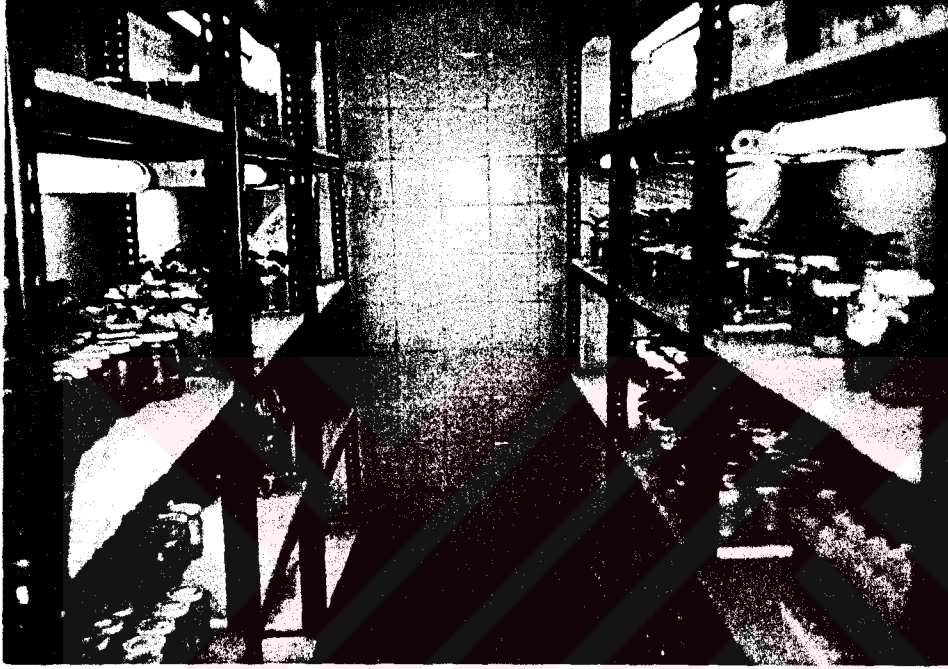
Çizelge 3.5. E20A besin ortamının bileşimi

Makroelementler (mg/l)		Mikroelementler (mg/l)	
KNO ₃	1075.0	MnSO ₄ .7H ₂ O	11.065
NH ₄ NO ₃	619.0	ZnSO ₄ .7H ₂ O	1.812
MgSO ₄ .7H ₂ O	206.0	H ₃ BO ₃	1.575
CaCl ₂ .2H ₂ O	156.5	KI	0.345
KH ₂ PO ₄	71.0	Na ₂ MgO ₄ .2H ₂ O	0.094
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	25.0	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.008
NaH ₂ PO ₄ .4H ₂ O	19.0	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.008
(NH ₄) ₂ SO ₄	17.0		
KCl	3.5		
Na ₂ EDTA : 37.3 mg/l , FeSO ₄ .7H ₂ O : 27.8 mg/l			
Vitaminler ve aminoasitler (mg/l)		Diğerleri	
Myo-inositol	50.300	IAA	0.01 mg/l
Pyridoxine-HCl	5.500	Sakkaroz	20.00 g/l
Nicotinik asit	0.700	Agar	7.00 g/l
Thiamine-HCl	0.600	pH	5.90
Calcium Pantothenate	0.500	Otoklavlama: 1.1 atmosferde 121 °C’de	
Biotine	0.005	15 dakika	
Glycine	0.100		

3.2.2.4. Kültür Koşulları

İçinde yaklaşık olarak 20 ml E20A besin ortamı bulunan 9 cm çaplı petri kutularında, her petriye en fazla 3 embriyo koymak şartıyla, kültüre alınan embriyolar

iyi bir kök sistemi oluşturuncaya kadar (yaklaşık 4-17 gün sürede) petri kutularında, daha sonra aynı ortamı taşıyan 15 x 2.5 cm boyutlarındaki kültür tüplerine veya 150 ml hacimli kavanozlara veya magentalara aktarılmışlardır. Bu süre içerisinde embriyolar sıcaklığı 28 ± 1 °C, fotoperiyodu 16 saat, ışıklandırması TCD 36W/54 Preheat Daylight tipi lambalarla yaklaşık 3000 lüx'e ayarlanmış olan iklim odasında tutulmuşlardır (Şekil 3.17).



Şekil 3.17. Embriyo ve bitkilerin geliştirildiği iklim odası

3.2.2.5. *In vitro* Bitki Gelişimleri ve Bitkilerin Dış Ortama Alıştırılmaları

In vitro bitki geliştirme işlemleri sırasında, aşağıdaki ölçüm ve gözlemler yapılmıştır:

Embriyoların bitkiye dönüşüm süreleri (gün): Değişik safhalarda kültüre alınan embriyoların iyi bir kök sistemi ve kotiledon yaprakları oluşturmaya kadar geçen süre ortalama “gün” olarak belirtilmiştir.

Bitkilerin ilk mikroçelikleme gelme süreleri (gün): Kültür tüplerine veya kavanozlara alınmış embriyolardan gelişen bitkilerin, embriyo gelişim safhasına göre

değişmekle birlikte, yaklaşık 5-9 cm olmasına kadar geçen süre ortalama “gün” olarak hesaplanmıştır.

Bitki boyu (cm): İlk mikroçelikleme aşamasına gelen bitkilerde köklerin başlangıç noktasından sürgün ucuna kadar olan kısmı bir cetvel yardımıyla ölçülmüş ve “cm” olarak ifade edilmiştir.

Boğum sayısı (adet): İlk mikroçelikleme aşamasına gelen bitkilerin kaç adet boğuma sahip olduğu belirlenmiş ve ortalamaları alınarak “adet” olarak gösterilmiştir.

Ortalama boğum arası uzunluk (cm): Bitki boyunun boğum sayısına bölünmesiyle hesaplanmış ve “cm” cinsinden ifade edilmiştir.

Bitkiler daha *in vitro*'da iken dış koşullara alıştırılmaya çalışılmıştır (**Çetiner, 1992; Sarı, 1994**). Bu amaçla bitkilerin sürgün uçları kavanozların kapaklarına değdiği aşamada kapaklar 2-3 gün aralıklarla azar azar açılmış, yaklaşık 2 hafta sonra kapaklar tamamen kaldırılmıştır. Bitkiler kavanozlarından dikkatlice çıkarılmış ve çeşme suyu altında agarından temizlendikten sonra, % 0.2'lik Captan ile muamele edilerek içerisinde 2:1 oranında sterilize edilmiş torf ve kum bulunan plastik kaplara dikilmiştir. Kapların üzeri, bitkilerin tutmasını kolaylaştırmak amacıyla şeffaf plastik bir torba ile kapatılmıştır. Ancak 1997 yılında bu şekilde aktarılan bitkilerin büyük bir çoğunluğu solmaya başlamış ve bir süre sonra kuruyarak ölmüştür.

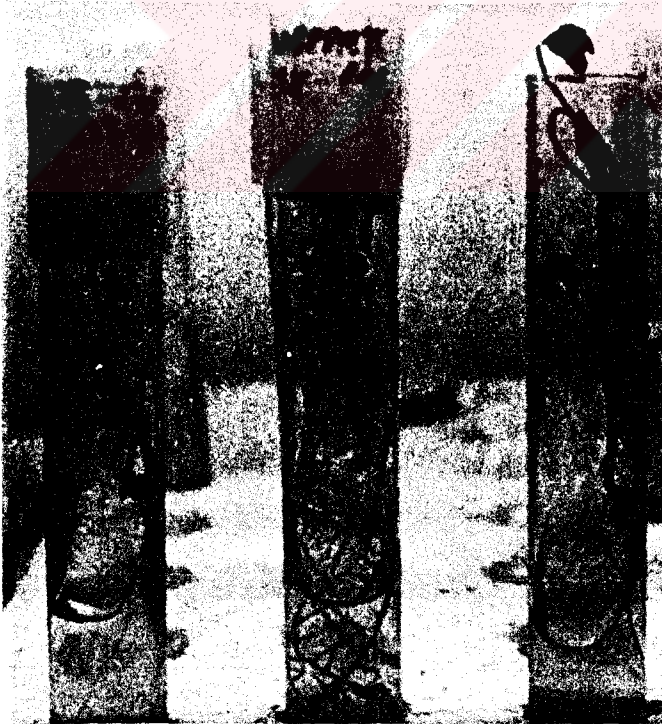
Bitkilerin dış koşullara alıştırılmalarındaki güçlük sebebiyle, 1998 yılında bitkiler *in vitro*'da daha uzun süre tutularak dış koşullara alıştırılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla, kavanozların kapakları 4-5 gün aralıklarla azar azar açılmış, 3. haftanın sonunda tamamen açılan kapaklar kavanozların üzerinden alınmış ve kavanozların üzeri alüminyum folye ile kapatılmıştır (**Şekil 3.18**). Kapatılan alüminyum folyenin üzerinde her gün kurşun kalemin ucu ile 3'er delik açılmış ve besin ortamlarının üzerinde ilk fungus belirtileri görülene kadar (5-9 gün) kavanozlar iklim odasında tutulmuştur.

Kültür tüpü kullanılarak yetiştirilen bitkilerde ise **Sarı (1994)**'ya uyularak ilk önce tüple kapak bağlantısını sağlayan şeffaf folye çıkarılmış, tüpler iklim odasında 1 hafta süreyle tutulmuş, daha sonra kapaklar yarıya kadar açılarak 1 hafta daha beklenmiş ve bu sürenin sonunda kapaklar tamamen açılmıştır (**Şekil 3.19**). Besin

ortamlarının üzerinde ilk fungus simptomları görölene kadar tüpler iklim odasında bekletilmiştir.



Şekil 3.18. Kavanozlarda yetiştirilen bitkilerin dış koşullara alıştırılması



Şekil 3.19. Tüplerde yetiştirilen bitkilerin dış koşullara alıştırılması

Yaklaşık olarak 3 hafta süreyle iklim odasında dış koşullara alıştıran bitkiler spatül kullanılarak dikkatlice çıkarılmış ve çeşme suyu altında kökleri agardan iyice temizlenmiştir. Bu şekildeki bitkilerin fazla uzun kökleri alınarak (ki bu kökler bitkilerin ploidi düzeyini belirlemek amacıyla kromozom sayımlarında kullanılmıştır) % 0.2'lik Captan ile muamele edilmiştir. Daha sonra bitkiler plastik kaplara dikilmiştir. Saksılarda yetiştirme ortamı olarak a) 1 kısım torf b) 2 kısım torf + 1 kısım kum içeren karışımlar kullanılmış, kullanım öncesi ortamlar otoklavda sterilize edilmiştir. Daha sonra her bir bitkinin üzeri şeffaf plastik torbayla kapatılmıştır. İlerleyen zamanlarda plastikler aşama aşama açılarak yaklaşık 7-10 gün sonra bitkilerden tamamıyla uzaklaştırılmıştır.

Bitkiler üzerleri açık vaziyette 1 hafta kadar iklim odasında tutulduktan sonra, dikim için uygun aşamaya geldikleri 8-10 yapraklı dönemde, daha iyi gelişmeleri ve toprağa şaşırtmada uyum zorluğu çekmemeleri için içlerinde, bitki gelişiminde daha olumlu sonuçlar veren, 2:1 oranında sterilize edilmiş torf : kum karışımı bulunan 15-20 cm çaplı plastik saksılara dikilmiştir (**Şekil 3.20**).



Şekil 3.20. Saksılara dikilmiş bitkiler

3.2.3. Sitolojik İncelemeler

3.2.3.1. *In vitro* Çiçek Tozu Canlılık Testleri

Farklı dozlarda ışınlanmış polenler ile kontrol polenlerinde, ışınlamanın ertesi günü olan 0. gün ile 1., 3., 5., 7., 9., 11., 13., 15., 17. ve 19. günlerde TTC'nin % 1'lik (Norton, 1966; Sarı, 1994; Çağlar, 1995) çözeltisi kullanılarak canlılık testleri yapılmıştır. İlk önce lam üzerine 3 farklı bölgeye samur bir fırçanın ucu ile polenler konulmuş ve daha sonra üzerlerine 1'er damla TTC damlatılmış ve lamel kapatılarak 26 °C'lik iklim dolabında karanlık koşullarda tutulmuşlardır. Bu işleminden 4 saat sonra mikroskopta okumalar yapılmış, her bölgede üçer alandaki polenler sayılmıştır. Çiçek tozlarından koyu kırmızı-kırmızı olanlar canlı, açık kırmızı-pembe olanlar yarı canlı ve boyanmayarak renksiz kalanlar ise cansız olarak kabul edilmiş, polen canlılığı saptanırken kırmızıya boyanmış canlı polenler değerlendirilmiştir.

3.2.3.2. *In vitro* Çiçek Tozu Çimlendirme Testleri

Çimlendirme denemelerinde değişik sıcaklık dereceleri (28 ve 30 °C), değişik besin ortamları (E20A, MS-62), sakkaroz (% 10, % 15, % 20 ve % 25'lik dozları), borik asit (5, 10 ve 15 mg/l), kalsiyum nitrat (3 ve 6 mg/l) ve agar (% 0.5, % 1'lik dozları)'ın değişik konsantrasyonları ve değişik çimlendirme metotları (petride agar, selofan metodu) denenmesine rağmen, kontrol da dahil olmak üzere polenlerin *in vitro* koşullarda çimlendirilmesi mümkün olmamış, yapılan geniş literatür taramaları sonucunda başarılı hiç bir kaynağa rastlanmamıştır. Eti (1998*) de farklı sakkaroz (% 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, 80 ve doygun) konsantrasyonları, bunlara ek olarak borik asit ve kalsiyum nitrat (200, 300 ve 500 ppm) ile M-20A ortamını deneyerek asılı damla, petride agar ve tüp yöntemi kullanarak yaptığı çimlendirme çalışmalarının hiç birisinde başarılı bir sonuç alamadığını bildirmiştir. Abak ve ark. (1997)'nın yaptık-

*S. ETİ, yazılı görüşme, 1998, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Adana.

ları araştırma da benzer sonuçlar vermiştir.

3.2.3.3. *In situ* Çiçek Tozu Çimlendirme Testleri

Işınlanmış polenlerin stigma üzerindeki çimlenme ve stil içindeki gelişimlerini incelemek amacıyla ezme preparat yöntemi ile (**Preil ve Reimann-Philipp, 1969; Kho ve Baer, 1970; Eti ve Stösser, 1988**) floresan mikroskop altında çalışılmıştır.

Bu amaçla, ışınlanmış polenlerle tozlanan dişi çiçekler tozlamadan 10 saat sonra FPA (50 ml formaldehit + 50 ml propiyonik asit + 900 ml % 70'lik alkol) tespit çözeltilisine alınmış, inceleme yapılıncaya kadar burada tutulmuş ve **Eti ve Stösser (1988)**'in önerdikleri biçimde incelenmiştir.

3.2.4. Ploidi Düzeyinin Belirlenmesi

In vitro 'da kültüre alınan embriyolardan elde edilen bitkilerin ploidi düzeyinin belirlenmesi amacıyla kök uçlarında kromozom sayımları yapılmıştır. Buna ek olarak birim alandaki stoma sayısı, stoma boyutları ve bekçi hücrelerindeki kloroplast sayısı gibi stoma özellikleri de incelenmiştir.

3.2.4.1. Kök Ucu Kromozom Sayımları

Kök ucu kromozom sayımlarında Feulgen yöntemi aşağıdaki şekilde kullanılmıştır (**Darlington ve La Cour, 1963; Elçi, 1994; Metwally ve ark., 1998a**).

- Sabah saat 9⁰⁰-10⁰⁰'da *in vitro* veya *in situ*'deki bitkilerin aktif büyümekte olan köklerinin 1-2 cm'lik kısımlarının kesilerek alınması,
- Köklerin agar veya toprak kalıntılarından temizlendikten sonra 3 saat süreyle % 0.05'lik kolhisin çözeltilisinde tutulması,
- Kolhisin çözeltilisinin boşaltılması, köklerin 3 kez saf su ile yıkanması ve 3:1 (3 kısım % 96'lık etil alkol + 1 kısım glasiyel asetik asit) çözeltilisinde 24 saat fikse edilmesi,

- Fiksasyon sıvısının boşaltılması, köklerin 3 kez saf su ile yıkanması,
- Schiff (Feulgen) çözeltisi içinde 3-4 saat karanlıkta boyama,
- Feulgen'in boşaltılarak köklerin 10 dakika çeşme suyunda bekletilmesi,
- Ezme preparat yöntemine göre köklerin 1-2 mm'lik uç kısımlarının % 1'lik asetokarmin ile ezilerek incelenmesi,

Bu şekilde hazırlanan materyal ilk önce 40x10 büyütme ile incelenerek kromozomların yerleri belirlenmiş, daha sonra 100x10 büyütme ile immersiyon yağı kullanılarak sayılmış ve fotoğraflanmıştır.

3.2.4.2. Stomaların İncelenmesi

Bu amaçla saksılara veya seraya aktarılan bitkilerin büyüme ucundan itibaren 7. veya 8. yaprakları alınmıştır. (Sarı, 1994). Laboratuvarında yaprakların alt epidermisi soyularak bir lam üzerine yayılmış ve üzerine 1 damla % 1'lik AgNO₃ çözeltisinden damlatılmıştır (Şehirli ve Özgen, 1988; Rousselle, 1992; Sarı, 1994; Çağlar 1995). Bu şekilde hazırlanan materyal lamel ile kapatılarak aşağıdaki incelemeler yapılmıştır. İncelemelerde 40x10, fotoğraflamada ise 100x10 büyütmede immersiyon yağı kullanılmıştır.

Birim alandaki stoma sayısı (adet/mm²) : Elde edilen bitkilerin sürgün ucundan itibaren alınan 7. veya 8. yapraklarında 16 okuma (4 okuma/bölge, 4 bölge/yaprak) yapılarak birim alandaki stoma sayısı hesaplanmış ve “adet/mm²” olarak belirtilmiştir.

Stoma boyutları (µm) : Her yapraktan 16 adet stomanın (4 stoma/bölge, 4 bölge/yaprak) uzunluğu ve çapı oküler mikrometre yardımıyla ölçülmüş ve “µm” olarak ifade edilmiştir.

Kloroplast sayıları (adet) : Uzunluğu ve çapı ölçülen her stomanın bekçi hücrelerindeki toplam kloroplastları da sayılarak “ortalama adet” olarak verilmiştir.

3.2.4.3. Bitkilerde Bazı Morfolojik Özelliklerin İncelenmesi

In vitro'da elde edilerek saksılara veya seraya şaşırtılan bitkilerin aşağıda belirtilen bazı morfolojik özellikleri de incelenmiştir.

Yaprak özellikleri : Yaprak boyutları kontrol diploidler ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

Çiçeklerin gelişme durumları : Şaşırtılan bitkilerin çiçeklenme döneminde çiçek irilikleri, anthesis durumları ve erkek çiçeklerin polen içerip içermedikleri gözlenmiştir.

Meyve verme : Haploid bitkilerin dişi çiçeklerinde diploid bitkilerin polenleri kullanılarak kontrollü tozlamalar yapılmış ve meyve verme durumları incelenmiştir.

3.2.5. Haploid Bitkilerde Kromozom Sayılarının Katlanması

Fertil olmayan haploid bitkilerden % 100 homozigot bireyler elde edilebilmesi için kromozom sayılarının katlanması gerekmektedir. Bu amaçla haploid kabak bitkilerinde % 0.5'lik kolhisinin değişik süreleri (2, 3, 4, 5 ve 6 saat) denenmiş, her süre için 6'şar çelik kullanılmıştır.

Uygulamalar, 1998 yılı sonbaharında seraya dikilmiş Urfa Yerli çeşidine ait haploid bitkilerden alınan ve köklendirilen 2-3 yapraklı çeliklerde yapılmıştır. Çelikler hazırlanan kolhisin çözeltisine, tamamı çözeltide kalacak şekilde, yatırılmıştır. Uygulama süreleri sonunda çözeltiden çıkarılan çelikler çeşme suyu altında iyice yıkanmış ve içerisinde 1:1 oranında torf ve kum bulunan kaplara dikilmiştir.

Dikimden 3-4 hafta sonra bitkilerde ilk gözlemler yapılarak, kolhisinin toksik etkisinden dolayı nekroze olarak ölen ve gelişimine devam eden bitki sayıları alınmıştır.

3.2.6. Değerlendirme

Araştırmanın doku kültürü ile ilgili olan kısmında, kullanılan materyalin eşit sayıda olamamasından dolayı istatistiksel analizler yapılamamış, sadece değerlerin ortalamaları veya %'leri verilmiştir.

Eşit sayıda materyalle tekrarlama yapılabilen anter ve ovul kültürü ile stoma özelliklerinin incelendiği gözlemlerde istatistiksel analizler yapılabilmektedir. Bu amaçla Costat paket programı kullanılmıştır. Anter kültürü çalışması bölünen bölünmüş parseller deneme desenine göre, ovül kültürü ve stomatal çalışmalar ise tesadüf blokları deneme desenine göre testlenmiştir. Ortalamaların karşılaştırılmasında Tukey testinden yararlanılmıştır.

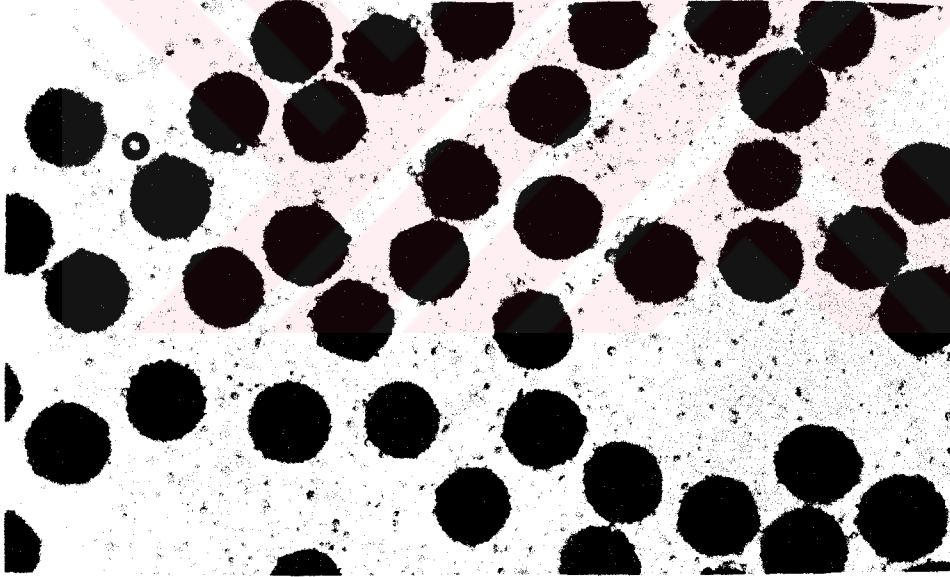


4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Işınlanmış Polenlerle Uyartım Yoluyla Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Işın Dozu, Genotip ve Mevsimin Etkilerine İlişkin Bulgular

4.1.1. Polenlerin Canlılık Yeteneklerine İlişkin Bulgular

Değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık yetenekleri, aynı koşullarda elde edilen ışınlanmamış kontrol polenleri ile birlikte incelenmiştir. TTC ile yapılan canlılık testlerinde kırmızıya boyanan polenlerin canlı, pembeye boyananların yarı canlı ve boyanmaların ise cansız olduğu varsayılmıştır (**Şekil 4.1**). Canlılık yüzdesi verilirken yalnızca kırmızıya boyanan canlı polenler değerlendirilmiştir.



Şekil 4.1. 25 Gy dozunda ışınlanmış polenlerin TTC ile boyanmış 0. gün polenleri (180x)

4.1.1.1. 1997 Yılı Bulguları

Şekil 4.2'de Mayıs, **Şekil 4.3'**de Haziran, **Şekil 4.4'**de Temmuz, **Şekil 4.5'**de Ağustos ve **Şekil 4.6'**da da Eylül aylarında değişik dozlarda ışınlanması yapılan polenler ile kontrol polenlerinin 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 ve 17 günlük canlılık oranları (%) aylık ortalama olarak verilmiştir.

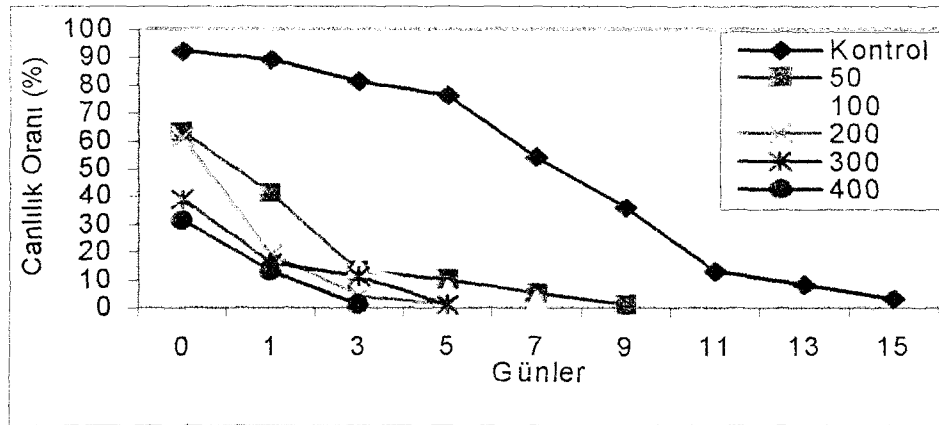
Mayıs ayında ışınlanmış polenlerde ışınlamanın ertesi günü olan 0. günde ışın dozlarına bağlı olarak canlılık yüzdesi % 31-63 arasında, kontrol polenlerinde ise % 92 olmuştur. Burada da görüldüğü gibi ışınlama olayı polen canlılığını ışın dozlarına bağlı olarak daha başlangıçta ortalama olarak % 45 kadar düşürmüştür. Işınlanmış 1. gün polenlerinde canlılık yüzdesi kontrol polenlerine göre daha hızlı azalma göstermiş, ilerleyen günlerde bu fark daha da büyüyerek, 3. günde ışınlanmış polenlerde canlılık ortalama olarak % 20 seviyesinin altına düşmüştür. Aynı gün kontrol polenlerinin canlılık yüzdesi ise % 80'den fazla olmuştur. Işınlanmış polenlerde ışınlama dozlarına bağlı olarak 5. - 11. günde, kontrol polenlerinde ise 17. günde boyanma gerçekleşmemiştir.

Haziran ayında ışınlanmış polenlerde ışın dozlarına bağlı olarak, 0. günde % 43-84 arasında olan canlılık yüzdesi, kontrol polenlerinde % 96 bulunmuştur. Mayıs ayında olduğu gibi bütün ışın dozlarında ışınlanmış polenler kontrole göre daha az canlılık göstermişler, daha kısa sürede ve hızlı bir şekilde canlılıklarını kaybetmişlerdir.

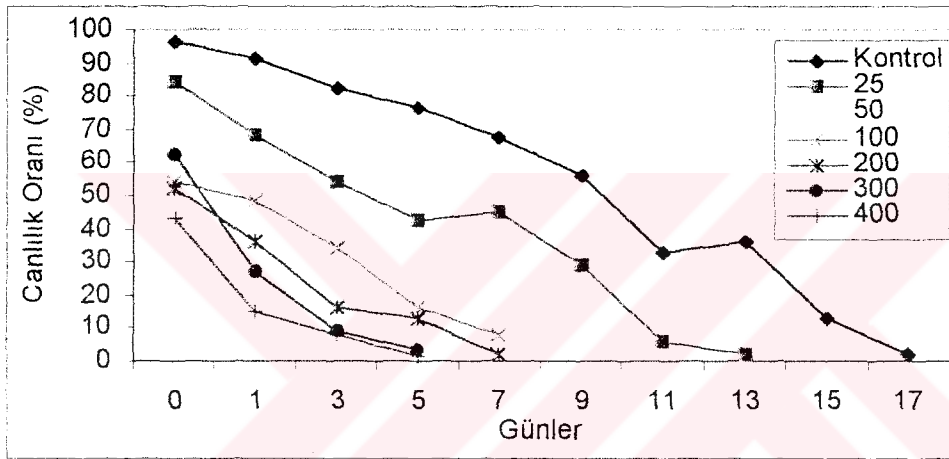
Temmuz ayında ortaya çıkan yoğun ZYMV sebebiyle genotiplere ait bitkilerin bir çoğu normal şekilde gelişememiş, bu sebeple de ışınlanmış ve ışınlanmamış polenlerin canlılıklarında ve canlılıklarını koruma sürelerinde büyük azalmalar meydana gelmiştir. Işınlanmış polenlerde 3. günde, kontrol polenlerinde ise 9. günde boyanmış hiç bir polene rastlanmamıştır.

Ağustos ayında, yaprak biti ve kırmızı örümcek populasyonunun azalmasıyla ZYMV'nin taşınması fazla olmamış ve bitkiler, bir kaç hariç, sıhhatli bir şekilde büyütülmüştür. Bu dönemde ışınlanmış ve kontrol polenlerinde yüksek canlılık oranları tespit edilmiştir. Işınlanmış polenlerde canlılık yüzdesi ışınlama yüzdelerine bağlı olarak 0. günde % 36-82, kontrolde ise % 76-96 arasında gerçekleşmiştir.

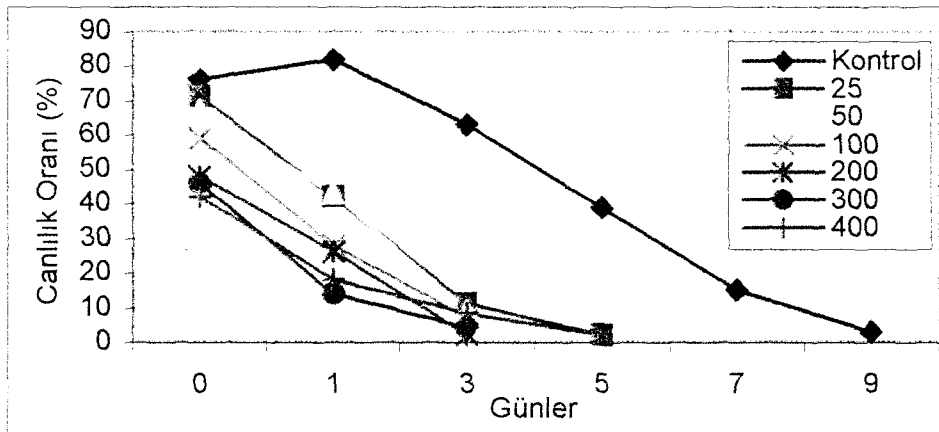
Eylül döneminde bitkilerin tümü sağlıklı büyütülmüş, ışınlanmış polenlerde ışın dozlarına bağlı olarak, 0. günde % 48-77 arasında olan canlılık yüzdesi, kontrol polenlerinde % 80-98 civarında bulunmuştur. Bu dönemde ışınlanmış polenlerde ışınlama dozlarına bağlı olarak 5. - 7. günde, kontrolde ise 15. günde canlılık tespit edilememiştir.



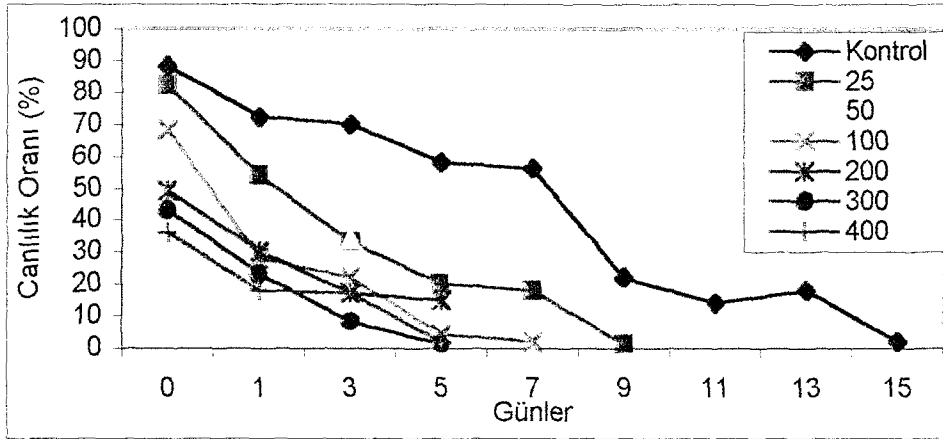
Şekil 4.2. 1997 yılı mayıs ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri



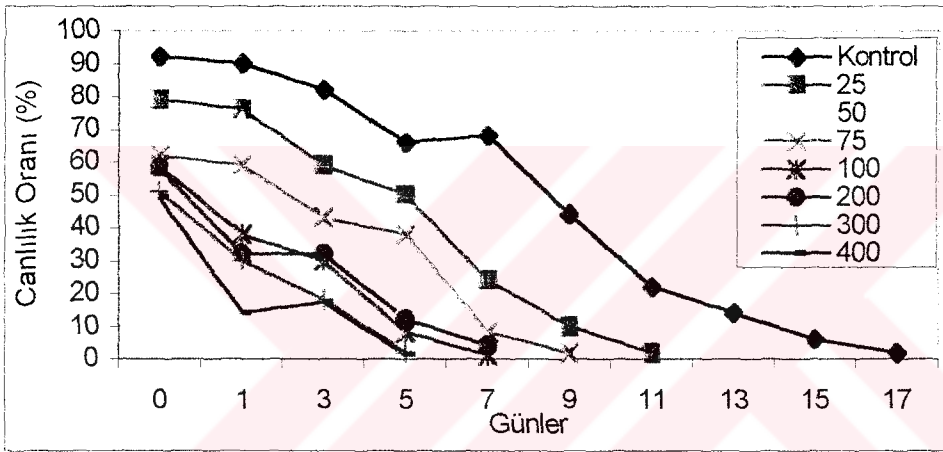
Şekil 4.3. 1997 yılı haziran ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri



Şekil 4.4. 1997 yılı temmuz ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri



Şekil 4.5. 1997 yılı ağustos ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri



Şekil 4.6. 1997 yılı eylül ayında değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri

4.1.1.2. 1998 Yılı Bulguları

Şekil 4.7'de mayıs, Şekil 4.8'de haziran, Şekil 4.9'da temmuz, Şekil 4.10'da ağustos ve Şekil 4.11'de de eylül aylarında değişik dozlarda ışınlaması yapılan polenler ile kontrol polenlerinin 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17 ve 19 günlük canlılık oranları (%) aylık ortalama olarak verilmiştir.

Mayıs ayında ışınlanmış polenlerde 0. günde ışın dozlarına bağlı olarak canlılık yüzdesi % 64-88 arasında, kontrol polenlerinde ise % 91 olmuş, ışınlama olayı polen canlılığını başlangıçta ortalama olarak % 15 kadar düşürmüştür. Işınlanmış polenlerde canlılık yüzdesi kontrol polenlerine göre daha hızlı azalma

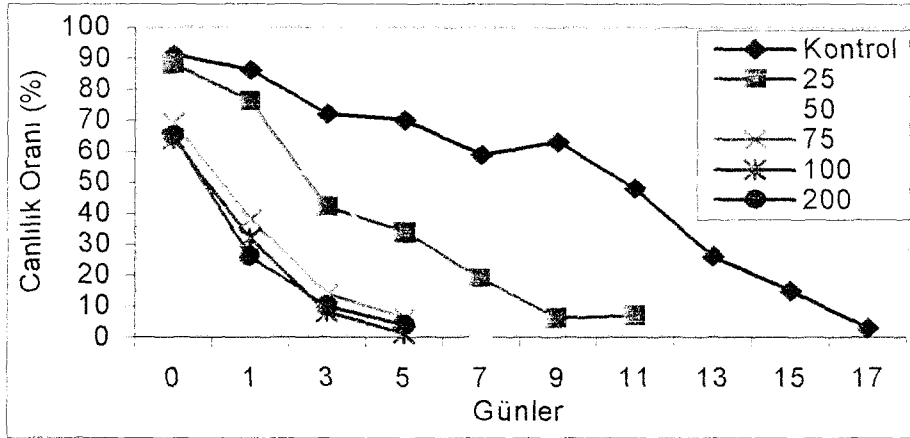
göstermiş, 5. günde ışınlanmış polenlerde canlılık ortalama olarak % 12 seviyesine kadar düşmüştür. Aynı gün kontrol polenlerinin % 70 kadarı canlı olarak tespit edilmiştir. Işınlanmış polenlerde ışınlama dozlarına bağlı olarak 7. – 13. günde, kontrol polenlerinde ise 19. günde boyanma gerçekleşmemiştir.

Haziran ayında ışınlanmış polenlerde ışın dozlarına bağlı olarak, 0. günde % 48-81 arasında olan canlılık yüzdesi kontrol polenlerinde % 94 olarak bulunmuştur. Mayıs ayında olduğu gibi bütün ışın dozlarında ışınlanmış polenler kontrole göre daha az canlılık göstermişler, bu oran ışın dozu arttıkça azalmış, daha kısa sürede ve hızlı bir şekilde canlılıklarını kaybetmişlerdir.

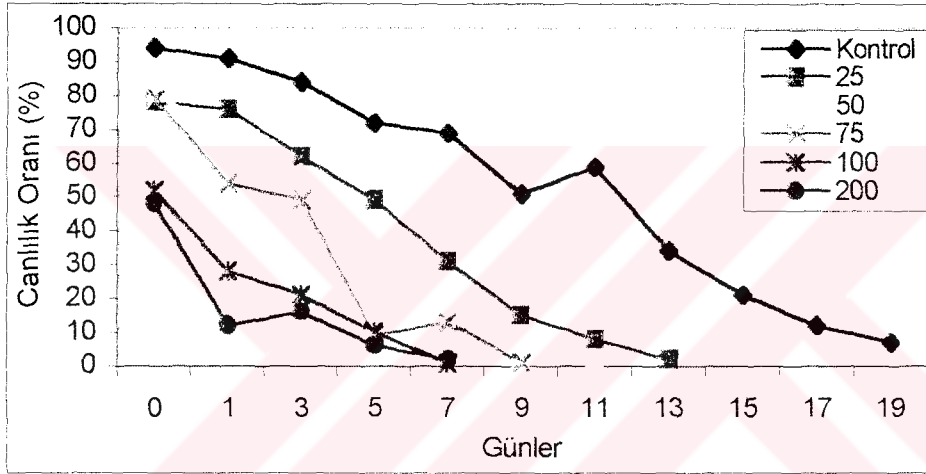
Temmuz ayında, bir önceki yılın aynı dönemine göre yaprak biti popülasyonunun yoğun olmaması sebebiyle, bitkiler sağlıklı bir şekilde büyütülebilmiş, ışınlanmış ve kontrol polenlerinde yüksek canlılık oranları tespit edilmiştir. Işınlanmış polenlerde canlılık yüzdesi ışınlama yüzdelerine bağlı olarak 0. günde % 42-88, kontrolde ise % 92-96 arasında gerçekleşmiştir.

Ağustos ayında artan yaprak biti ve kırmızı örümcek popülasyonu ile, yoğun ZYMV sebebiyle genotiplere ait bitkilerin bir çoğu normal şekilde gelişememiş, bu sebeple de ışınlanmış ve ışınlanmamış polenlerin canlılıklarında ve canlılıklarını koruma sürelerinde azalmalar meydana gelmiştir. Işınlanmış polenlerde, 25 Gy dozuyla ışınlanan hariç, 7. günde; kontrol polenlerinde ise 15. günde boyanmış hiç bir polene rastlanmamıştır. 25 Gy dozunda ışınlanmış polenler ise 9. güne kadar canlılıklarını korumuşlardır.

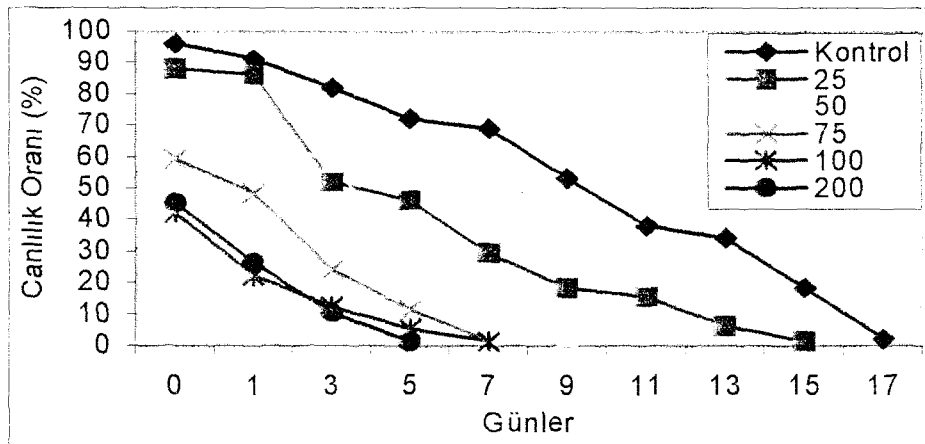
Eylül döneminde zararlı popülasyonunun azalması sayesinde bitkiler, bir kaç hariç, sağlıklı bir şekilde büyütülmüş, ışınlanmış polenlerde ışın dozlarına bağlı olarak, 0. günde % 42-74 arasında olan canlılık yüzdesi, kontrol polenlerinde % 76-82 arasında bulunmuştur. Bu dönemde ışınlanmış polenlerde ışınlama dozlarına bağlı olarak (25 Gy hariç) 7-13. gün, kontrolde ise 19. günde canlılık tespit edilememiştir. 25 Gy dozunda ışınlanmış polenlerde ise 17. günde canlılık tespit edilememiştir.



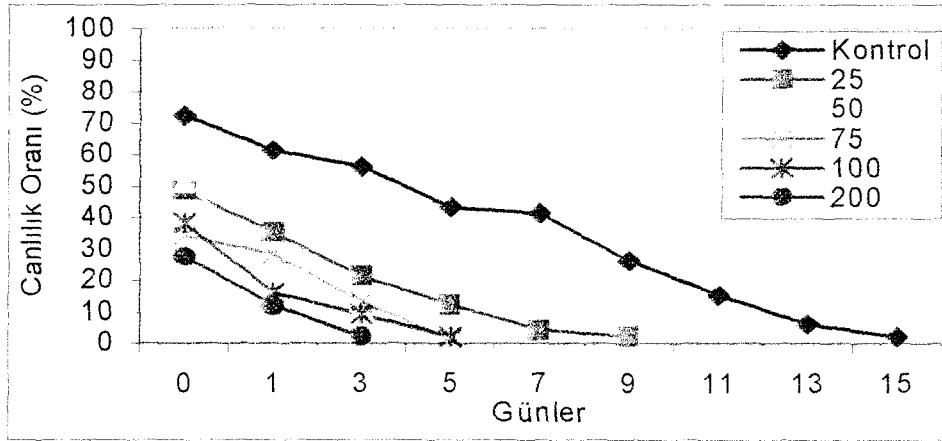
Şekil 4.7. 1998 yılı mayıs ayında değişik dozlarda ısıtılmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri



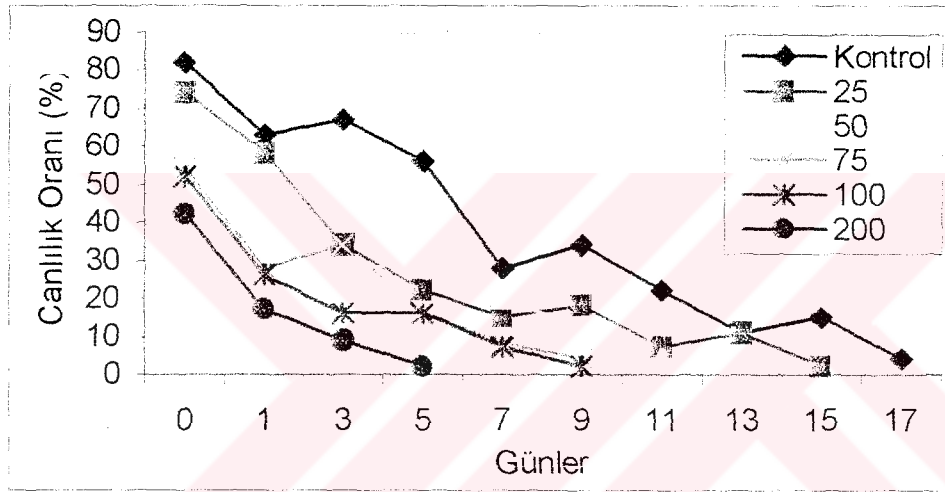
Şekil 4.8. 1998 yılı haziran ayında değişik dozlarda ısıtılmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri



Şekil 4.9. 1998 yılı temmuz ayında değişik dozlarda ısıtılmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri



Şekil 4.10. 1998 yılı ağustos ayında değişik dozlarda ısıtılmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri



Şekil 4.11. 1998 yılı eylül ayında değişik dozlarda ısıtılmış polenlerin canlılık oranlarının zaman içerisindeki değişimleri

4.1.2. Polenlerin Çimlenme Yeteneklerine İlişkin Bulgular

4.1.2.1. *In vitro* Polen Çimlendirmeleri

“3.2.3.2.” *In vitro* Çiçek Tozu Çimlendirme Testleri” bölümünde de belirtildiği şekilde değişik sıcaklık dereceleri, farklı besi ortamları, çeşitli çimlendirme yöntemleri denenmesine rağmen kabak polenlerinin *in vitro*'da çimlendirilmesi mümkün olmamıştır. Ancak, çok düşük bir oranla da olsa, polenlerin stigma yüzeyinden alınan ekstrakta çimlenebildiği belirlenmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Stigma yüzeyinden alınan ekstraktta çimlenmekte olan bir polen (720x)

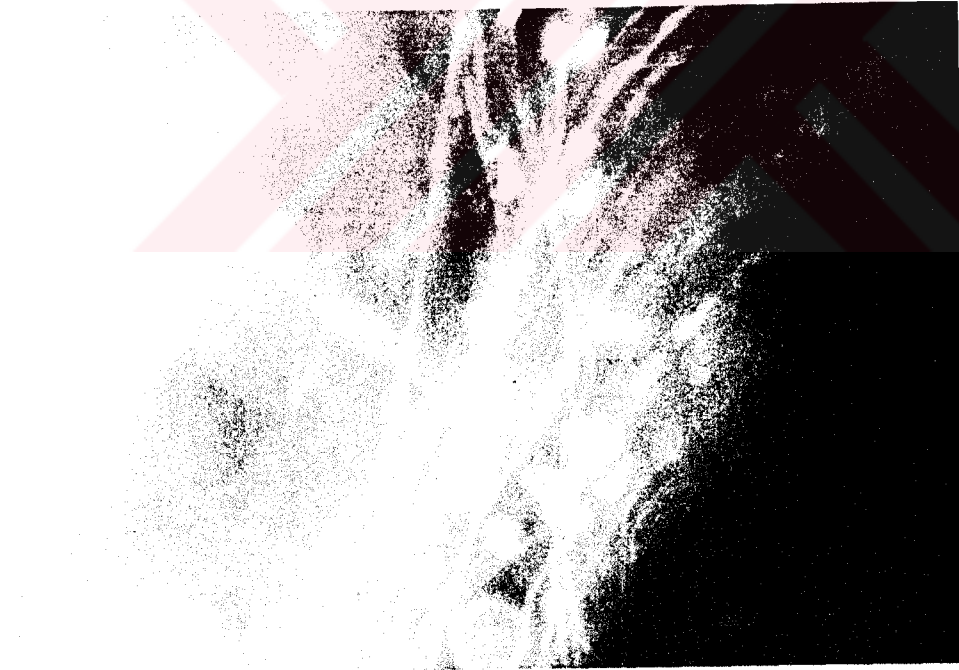
4.1.2.2. *In situ* Polen Çimlendirmeleri ve Polen Tüpü Gelişimi

Değişik dozlarda ışınlanmış polenlerin *in situ* çimlenme ve gelişimlerini incelemek amacıyla tozlamadan 10 saat sonra alınan dişi çiçeklerde ezme preparat yöntemiyle çalışılarak polenlerin stigmada çimlenmesi ve stilden geçişi belirlenmeye çalışılmıştır. Ezme preparat yöntemiyle stigma ve stili lam ve lamel arasında ezilen örneklerin floresan mikroskopta incelenmesi sonucunda polen çimlenmesi ve gelişiminin ışın dozlarına göre farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir.

25 Gy dozuyla ışınlanmış polenlerin bir kısmının stigma yüzeyinde çimlenme gösterdiği (**Şekil 4.13**) ve stil içerisinde gelişebildiği (**Şekil 4.14**), 50 Gy dozuyla ışınlanmış polenlerde çimlenme (**Şekil 4.15**) ve gelişmenin (**Şekil 4.16**) azaldığı, 75 Gy dozuyla ışınlanmış polenlerden birkaç tanesinin gelişme gösterdiği (**Şekil 4.17**), 100 ve 200 Gy dozlarıyla ışınlamış polenlerde ise çimlenme ve gelişmenin olmadığı belirlenmiştir (**Şekil 4.18**).



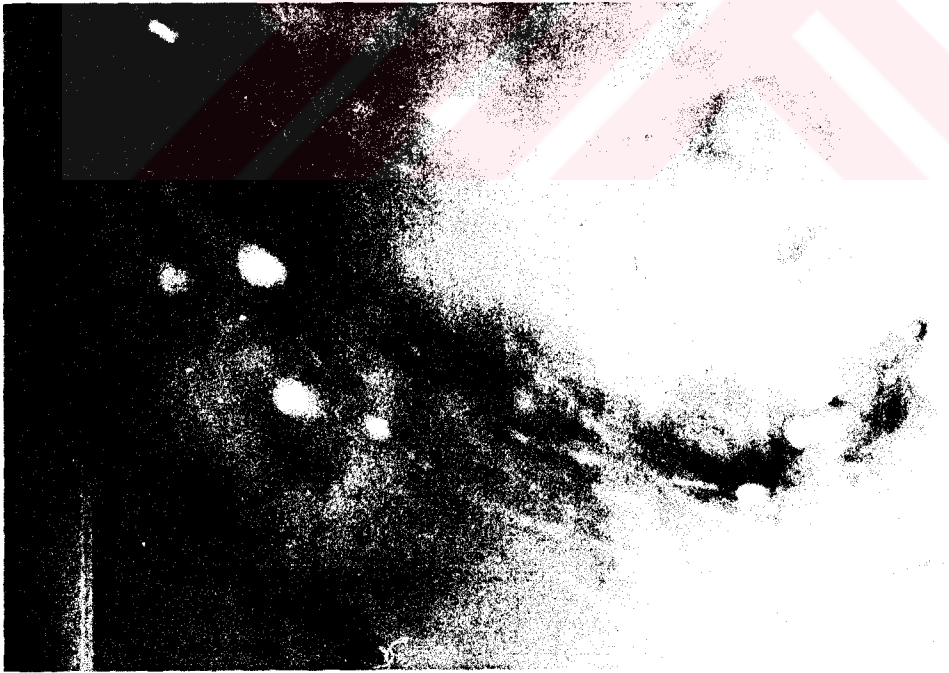
Şekil 4.13. 25 Gy dozunda ışınlanmış polenlerde stigma üzerinde çimlenme



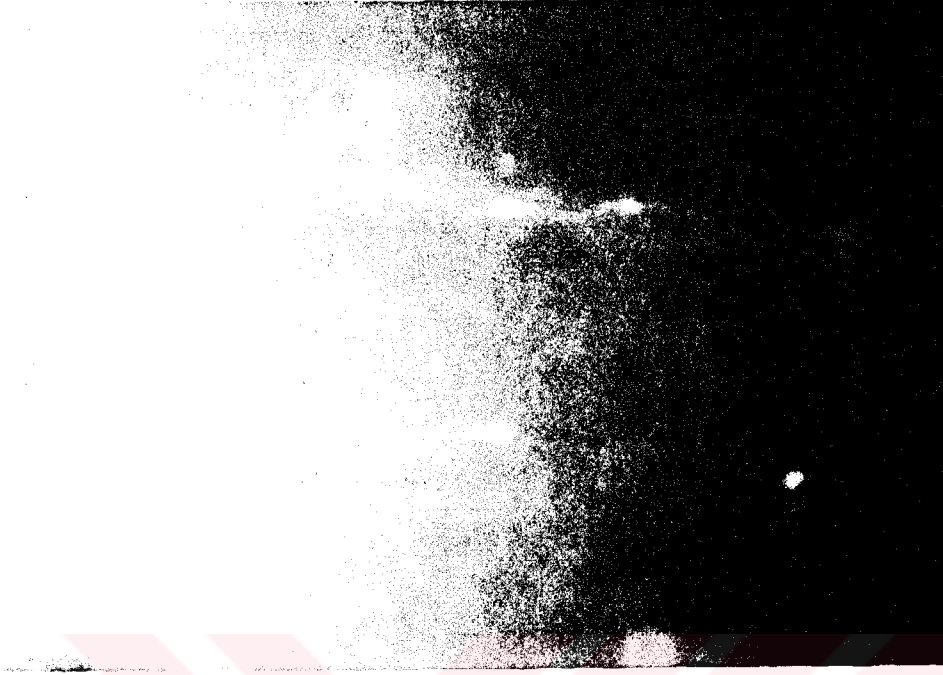
Şekil 4.14. 25 Gy dozunda ışınlanmış polenlere ait çim borularının stil içindeki gelişimleri



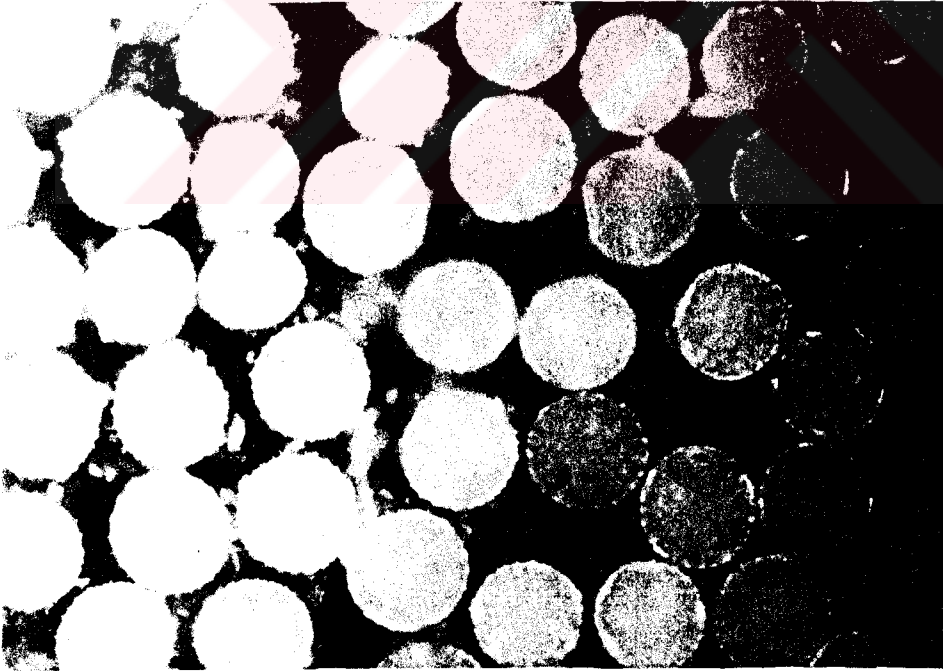
Şekil 4.15. 50 Gy dozunda ışınlanmış polenlerde stigma üzerinde çimlenme



Şekil 4.16. 50 Gy dozunda ışınlanmış polenlere ait çim borularının stil içindeki gelişimleri



Şekil 4.17. 75 Gy dozunda ışınlanmış polenlere ait çim borularının stil içindeki gelişimleri



Şekil 4.18. 100 ve 200 Gy dozunda ışınlanmış polenlerin stigma üzerindeki durumları

4.1.3. Işınlanmış Polenlerle Tozlanan Çiçeklerde Meyve Tutumu

4.1.3.1. 1997 Yılı Bulguları

Işınlanmış polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları genotiplere, aylara ve ışın dozlarına göre **Çizelge 4.1**'de verilmiştir.

Çizelge'de de görüldüğü gibi, Eskenderany F₁ genotipinde tozlanan 161 çiçekten 59 adet meyve elde edilmiş ve meyve bağlama oranı % 36.6 olarak gerçekleşmiştir. Acceste F₁ genotipinde tozlanan toplam 117 çiçekten 39 adedi meyveye dönüşebilmiş ve meyve bağlama oranı % 33.3 olmuştur. Açık tozlanan çeşitlerde meyve tutum oranı daha düşük seviyede gerçekleşmiştir. Sakız genotipinde tozlanan 86 çiçekten 15 adet meyve elde edilirken, Urfa Yerli genotipinde tozlanan 67 çiçekten ise ancak 12 tanesi meyveye dönüşebilmiş, meyve bağlama oranları ise sırasıyla % 17.4 ve % 17.9 olarak gerçekleşmiştir.

En yüksek meyve bağlama oranının elde edildiği ay, bitkilerin sağlıklı bir şekilde büyütülebildiği eylül ayı olmuş (% 75.8), en düşük meyve bağlama oranı ise yoğun ZYMV zararının yaşandığı temmuz ayında elde edilmiştir (% 4.8). Bu değer haziran ayında % 32.6, ağustos ayında % 25.4 ve mayıs ayında ise % 14.6 olarak bulunmuştur.

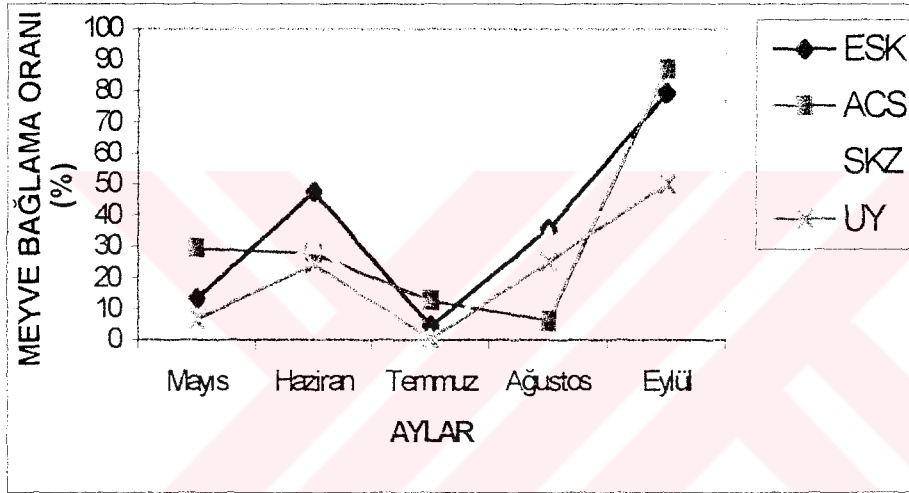
Genotiplerin aylara göre meyve bağlama oranları **Şekil 4.19**'da verilmiştir. Genel olarak tüm genotiplerde en yüksek meyve bağlama oranı eylül ayında gerçekleşmiş, bu ayda Acceste F₁ genotipinden % 87.0'lik bir oran ile en yüksek meyve bağlama oranı elde edilmiştir. Yıl içerisindeki en düşük meyve bağlama oranı ise % 4.3 ile Eskenderany F₁ genotipinde ve temmuz ayında gerçekleşmiştir. Aynı ayda Sakız ve Urfa Yerli genotiplerinden hiç meyve alınamamıştır. Eskenderany F₁ genotipinde % 4.3 - 79.3, Acceste F₁ genotipinde % 5.9 - 87.0, Sakız ve Urfa Yerli genotiplerinde ise % 0.0 - 50.0 meyve bağlama oranı gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.1. 1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte değişik dozlarda ışınlanmış polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları

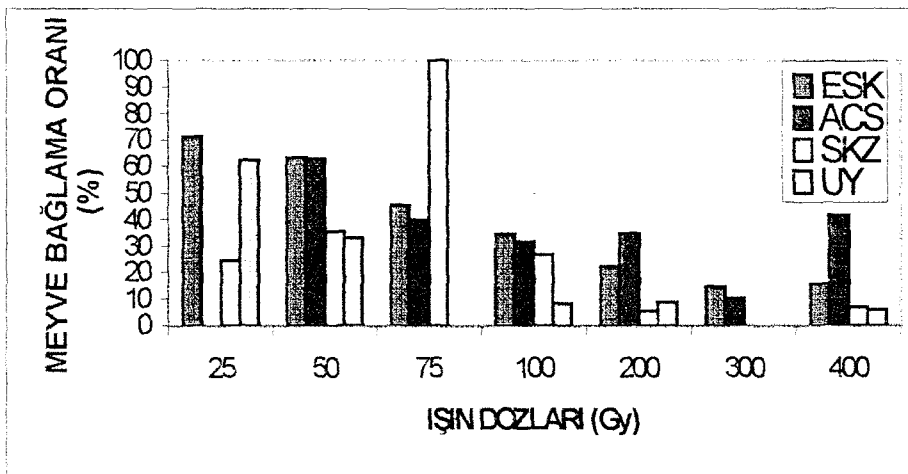
		G E N O T İ P L E R											
AYLAR	DOZ	ESKENDERANY F ₁			ACCESTE F ₁			SAKIZ			URFA YERLİ		
	(Gy)	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
MYS	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	50	5	1	20.0	3	2	66.7	5	1	20.0	1	0	0.0
	100	8	2	25.0	6	1	16.7	5	0	0.0	4	1	25.0
	200	8	0	0.0	5	0	0.0	5	0	0.0	3	0	0.0
	300	9	1	11.1	5	1	20.0	3	0	0.0	4	0	0.0
	400	8	1	12.5	5	3	60.0	1	0	0.0	3	0	0.0
Top./Ort.		38	5	13.2	24	7	29.2	19	1	5.3	15	1	6.7
HZR	25	3	2	66.7	1	0	0.0	2	1	50.0	5	3	60.0
	50	8	5	62.5	5	2	40.0	5	3	60.0	7	2	28.6
	100	10	5	50.0	6	2	33.3	5	3	60.0	5	1	20.0
	200	6	3	50.0	6	2	33.3	4	1	25.0	6	1	16.7
	300	8	3	37.5	7	1	14.3	4	0	0.0	3	0	0.0
	400	5	1	20.0	4	1	25.0	6	0	0.0	7	0	0.0
Top./Ort.		40	19	47.5	29	8	27.6	26	8	30.8	33	7	21.2
TMZ	25	1	0	0.0	4	0	0.0	1	0	0.0	-	-	-
	50	1	0	0.0	2	1	50.0	4	0	0.0	-	-	-
	100	5	0	0.0	6	1	16.7	4	0	0.0	1	0	0.0
	200	7	1	14.3	3	0	0.0	7	0	0.0	2	0	0.0
	300	4	0	0.0	6	0	0.0	6	0	0.0	2	0	0.0
	400	5	0	0.0	3	1	33.3	6	0	0.0	2	0	0.0
Top./Ort.		23	1	4.3	24	3	12.5	28	0	0.0	7	0	0.0
AĞS	25	5	4	80.0	4	0	0.0	2	0	0.0	2	1	50.0
	50	9	7	77.8	3	1	33.3	1	1	100	3	1	33.3
	75	5	0	0.0	4	0	0.0	-	-	-	2	0	0.0
	100	4	0	0.0	3	0	0.0	-	-	-	1	0	0.0
	200	5	0	0.0	3	0	0.0	-	-	-	-	-	-
	300	3	0	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Top./Ort.		31	11	35.5	17	1	5.9	3	1	33.3	8	2	25.0
EYL	25	5	4	80.0	-	-	-	3	1	33.3	1	1	100
	50	7	6	85.7	6	6	100	-	-	-	1	1	100
	75	6	5	83.3	6	4	66.6	2	2	100	1	0	0.0
	100	5	4	80.0	4	4	100	1	1	100	1	0	0.0
	200	5	3	60.0	6	6	100	2	0	0.0	-	-	-
	300	-	-	-	1	0	0.0	1	0	0.0	-	-	-
Top./Ort.		29	23	79.3	23	20	87.0	10	5	50.0	4	2	50.0
Gen. Top./Ort.		161	59	36.6	117	39	33.3	86	15	17.4	67	12	17.9

TÇS: Tozlanan Çiçek Sayısı; TMS: Tutan Meyve Sayısı; MBO: Meyve Bağlama Oranı
 - : Yeterli dişi çiçek veya polen olmadığından tozlama yapılamadı.

Aylar dikkate alınmaksızın genotiplerin farklı ışın dozlarındaki meyve bağlama oranları ise **Şekil 4.20**'de sunulmuştur. Şekil'de de görüldüğü gibi, genotiplerin farklı ışın dozlarına karşı tepkileri de farklı olmuştur. Eskenderany F₁, Sakız ve Urfa Yerli genotiplerinde genelde ışın dozunun artışına paralel olarak meyve bağlama oranında bir azalma meydana gelmiş, Acceste F₁ genotipinde ise yüksek dozlarda dahi yüksek meyve bağlama oranları elde edilmiştir. Ortalama olarak 25 Gy ışın dozunda % 39.7, 50 Gy'de % 48.9, 75 Gy'de % 46.4, 100 Gy'de % 25.4, 200 Gy'de % 18.0, 300 Gy'de % 6.3 ve 400 Gy'de ise % 16.2 oranında meyve bağlama gerçekleşmiştir.



Şekil 4.19. 1997 yılında aylara bağlı olarak ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu dört genotipte elde edilen meyve bağlama oranları (%)



Şekil 4.20. 1997 yılında farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle tozlanan genotiplerde meyve bağlama oranları (%)

Çizelge 4.2'de genotipler ve aylara göre ışınlanmış 0 ve 1 yaşlı polenlerle tozlanan ve meyve tutan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları verilmiştir.

Mayıs ayında anthesis aşamasındaki (0. gün) polenlerle tozlanan 26 çiçekten 8 tanesi meyveye dönüşmüş ve meyve bağlama oranı % 30.8 olarak gerçekleşmiştir. 1 gün yaşlı polenlerle yapılan tozlamalarda ise bu oran oldukça düşerek % 8.6 değerini vermiştir.

Haziran ayında 0 gün yaşlı polenlerle tozlanan 91 adet çiçekten, % 47.3'lük bir oran ile 43 adet meyve elde edilirken, 1. gün polenleriyle yapılan 37 tozlamadan ise hiçbir meyve elde edilememiştir.

Temmuz ayı, yoğun seyreden ZYMV sebebiyle, en az sayıda meyvenin elde edildiği ay olmuş, 0 gün yaşlı polenlerle yapılan 34 tozlamadan sadece 4 adet meyve elde edilirken, ertesi gün yapılan tozlamalardan ise meyve alınamamıştır. Ağustos ayında ilk gün tozlamalarında tozlanan 32 adet çiçekten % 46.9'u meyve bağlamış ve toplam 15 adet meyve hasat edilmiş, ertesi gün tozlanan 27 çiçekten ise hiçbir meyveye dönüşmemiştir.

Samsun koşullarında en çok meyve tutumu eylül ayında gerçekleşmiş, ilk gün tozlanan 45 adet çiçekten 39 tanesi, ikinci gün tozlanan 21 adet çiçekten ise 11 tanesi meyveye dönüşmüş, meyve bağlama oranı ise sırasıyla % 86.7 ve % 52.4 olmuştur.

Çeşitlerin polen yaşına göre meyve bağlama oranları incelendiğinde; Eskenderany F₁ genotipinde 0 gün yaşlı polenlerle yıl boyunca yapılan tozlamalarda en yüksek meyve bağlama oranı % 95.0 ile eylül, en düşük meyve bağlama oranı ise % 16.7 ile temmuz ayında gerçekleşmiştir. Diğer aylardan mayıs ayında % 36.4, haziran ayında % 59.4 ve ağustos ayında ise % 55.0 oranında meyve tutumu olmuştur. 1 gün yaşlı polenlerle yapılan tozlamalarda yalnızca mayıs ve eylül aylarında uyartım sağlanabilmiş ve meyve bağlama oranları sırasıyla % 3.7 ve % 44.4 olarak bulunmuştur.

Acceste F₁ genotipinde 0. gün polenleriyle yapılan tozlamalarda en yüksek meyve bağlama oranı % 93.3 ile eylül, en düşük meyve bağlama oranı ise % 25.0'lik değerlerle temmuz ve ağustos aylarında elde edilmiştir. Öteki aylardan mayıs ayında % 66.7, haziran ayında ise % 47.1 oranında uyartım sağlanmıştır. 1 gün yaşlı

polenlerle yapılan tozlamalarda yalnızca mayıs ve eylül aylarında sırasıyla % 23.8 ve % 75.0 oranlarında meyve tutumu olmuştur.

Sakız genotipinde yıl boyunca yapılan tozlamalardan genelde oldukça düşük değerler alınmıştır. 0. gün polenleriyle yapılan tozlamalardan temmuz ayında meyve elde edilemezken, en yüksek meyve bağlama oranı % 57.1 ile eylül, en düşük meyve bağlama oranı ise % 11.1 ile mayıs ayında gerçekleşmiştir. Haziran ayında % 42.1 olan bu değer, ağustos ayında % 33.3'e düşmüştür. 1 gün yaşlı polenlerle yapılan uyartım çalışmalarında ise yalnızca eylül ayında % 33.3'lük bir oran ile meyve tutumu sağlanmıştır.

Urfa Yerli genotipinde 0. gün polenleriyle yapılan tozlamalardan temmuz ayında uyartım sağlanamazken, en yüksek meyve tutumu % 66.7 ile yine eylül, en düşük meyve tutumu ise % 33.3 ile mayıs ayında gerçekleşmiştir. Diğer aylardan haziran ve ağustos aylarında ise meyve bağlama oranları sırasıyla % 34.8 ve % 40.0 olarak bulunmuştur.

1997 yılı genel değerlendirmesine göre, 0 gün yaşlı polenlerle tozlanan 242 adet çiçekten % 42.9'u, 1 gün yaşlı polenlerle tozlanan 189 adet çiçekten % 11.1'i meyveye dönüşerek sırasıyla, 104 ve 21 adet olmak üzere toplam 125 adet meyve elde edilmiştir.

Çizelge 4.2. 1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte ışınlanmış 0 ve 1 gün yaşlı polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları

MAYIS

GENOTİPLER	0. gün			1. gün		
	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
ESKENDERANY F ₁	11	4	36.4	27	1	3.7
ACCESTE F ₁	3	2	66.7	21	5	23.8
SAKIZ	9	1	11.1	10	0	0.0
URFA YERLİ	3	1	33.3	12	0	0.0
TOPLAM/ORTALAMA	26	8	30.8	70	6	8.6

Çizelge 4.2.'nin devamı

HAZİRAN

GENOTİPLER	0. gün			1. gün		
	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
ESKENDERANY F ₁	32	19	59.4	8	0	0.0
ACCESTE F ₁	17	8	47.1	12	0	0.0
SAKIZ	19	8	42.1	7	0	0.0
URFA YERLİ	23	8	34.8	10	0	0.0
TOPLAM/ORTALAMA	91	43	47.3	37	0	0.0

TEMMUZ

GENOTİPLER	0. gün			1. gün		
	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
ESKENDERANY F ₁	6	1	16.7	17	0	0.0
ACCESTE F ₁	12	3	25.0	12	0	0.0
SAKIZ	14	0	0.0	14	0	0.0
URFA YERLİ	2	0	0.0	5	0	0.0
TOPLAM/ORTALAMA	34	4	11.8	48	0	0.0

AĞUSTOS

GENOTİPLER	0. gün			1. gün		
	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
ESKENDERANY F ₁	20	11	55.0	11	0	0.0
ACCESTE F ₁	4	1	25.0	13	0	0.0
SAKIZ	3	1	33.3	-	-	-
URFA YERLİ	5	2	40.0	3	0	0.0
TOPLAM/ORTALAMA	32	15	46.9	27	0	0.0

EYLÜL

GENOTİPLER	0. gün			1. gün		
	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
ESKENDERANY F ₁	20	19	95.0	9	4	44.4
ACCESTE F ₁	15	14	93.3	8	6	75.0
SAKIZ	7	4	57.1	3	1	33.3
URFA YERLİ	3	2	66.7	1	0	0.0
TOPLAM/ORTALAMA	45	39	86.7	21	11	52.4

GENEL TOPLAM

GENOTİPLER	0. gün			1. gün		
	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
ESKENDERANY F ₁	100	53	53.0	61	6	9.8
ACCESTE F ₁	51	25	49.0	66	14	21.2
SAKIZ	52	14	26.9	34	1	2.9
URFA YERLİ	39	12	30.8	28	0	0.0
TOPLAM/ORTALAMA	242	104	42.9	189	21	11.1

TÇS: Tozlanan Çiçek Sayısı; TMS: Tutan Meyve Sayısı; MBO: Meyve Bağlama Oranı

- : Yeterli dişi çiçek veya polen olmadığından tozlama yapılamadı.

4.1.3.2. 1998 Yılı Bulguları

Işınlanmış polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları genotiplere, aylara ve ışın dozlarına göre **Çizelge 4.3**'te verilmiştir.

Çizelge 4.3'te de görüldüğü gibi, Eskenderany F₁ genotipinde tozlanan 144 çiçekten 86 adet meyve elde edilmiş ve meyve bağlama oranı % 59.7 olarak gerçekleşmiştir. Acceste F₁ genotipinde tozlanan toplam 116 çiçekten 68 adedi meyveye dönüşebilmiş ve meyve bağlama oranı % 58.6 olmuştur. Açık tozlanan çeşitlerde meyve tutum oranı daha düşük seviyede gerçekleşmiştir. Sakız genotipinde tozlanan 169 çiçekten 67 adet meyve elde edilirken, Urfa Yerli genotipinde tozlanan 73 çiçekten ise ancak 23 tanesi meyveye dönüşebilmiş, meyve bağlama oranları ise sırasıyla % 39.6 ve % 31.5 olarak gerçekleşmiştir.

En yüksek meyve bağlama oranlarının elde edildiği aylar, eylül (% 58.0) ve mayıs (% 55.0) ayları olmuş, en düşük meyve bağlama oranı ise yoğun ZYMV zararının yaşandığı ağustos (% 22.2) ayında elde edilmiştir. Bu değer haziran ayında % 48.2, temmuz ayında ise % 48.0 olarak bulunmuştur.

Genotiplerin aylara göre meyve bağlama oranları **Şekil 4.21**'de verilmiştir. Genel olarak tüm genotiplerde, yoğun ZYMV zararının yaşandığı ağustos ayı hariç, iyi bir meyve tutumu sağlanmıştır. En yüksek meyve bağlama oranı temmuz ayından ve Eskenderany F₁ genotipinden % 81.3 ile elde edilmiştir. Bütün bir yıl itibarıyla Eskenderany F₁ genotipinde % 46.2 - 81.3, Acceste F₁ genotipinde % 20.0 - 70.0, Sakız genotipinde % 26.5 - 68.8 ve Urfa Yerli genotipinde ise % 19.4 - 42.9 meyve bağlama oranı gerçekleşmiştir.

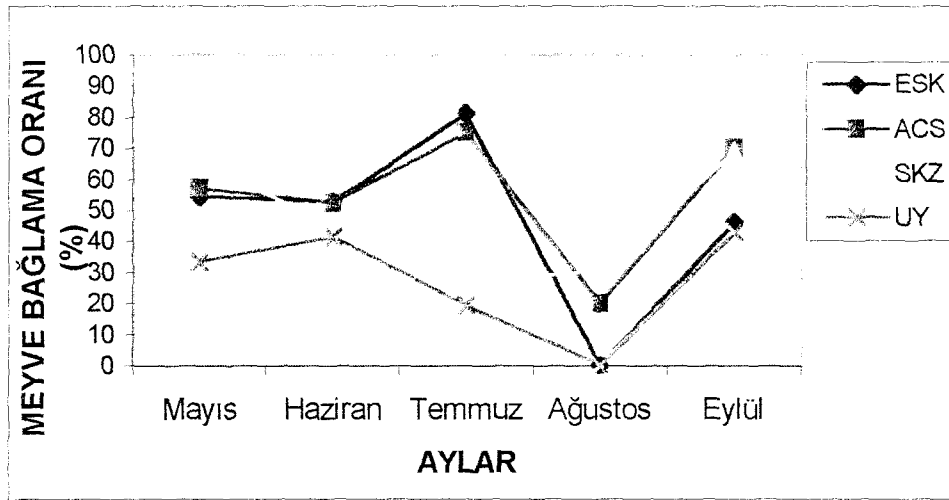
Aylar dikkate alınmaksızın genotiplerin farklı ışın dozlarındaki meyve bağlama oranları ise **Şekil 4.22**'de sunulmuştur. Şekildedeki görüldüğü gibi, genotiplerin farklı ışın dozlarına karşı tepkileri de farklı olmuştur. Eskenderany F₁, Acceste F₁ ve Urfa Yerli genotiplerinde genelde ışın dozunun artışına paralel olarak (200 Gy hariç) meyve bağlama oranında bir artış meydana gelmiş, Sakız genotipi ise tüm dozlarda (200 Gy hariç) birbirine yakın değerler vermiştir. Ortalama olarak 25 Gy ışın dozunda % 39.4, 50 Gy'de % 39.0, 75 Gy'de % 62.8, 100 Gy'de % 62.8, 200 Gy'de ise % 13.8 oranında meyve bağlama gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.3. 1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte değişik dozlarda ışınlanmış polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları

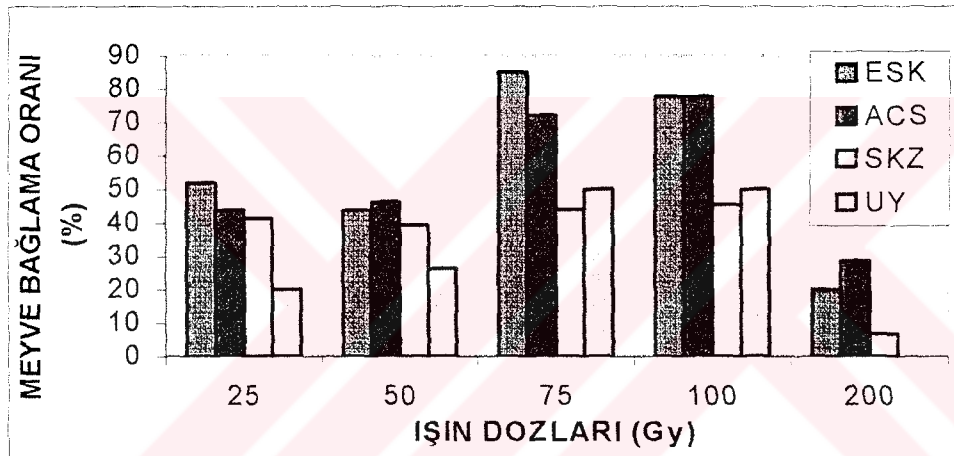
AYLAR	DOZ (Gy)	G E N O T İ P L E R											
		ESKENDERANY F ₁			ACCESTE F ₁			SAKIZ			URFA YERLİ		
		TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
MYS	25	2	0	0.0	4	2	50.0	3	3	100	2	0	0.0
	50	4	2	50.0	4	2	50.0	2	1	0.0	2	0	0.0
	75	2	2	100	3	2	66.7	1	1	50.0	1	1	100
	100	2	2	100	2	2	100	1	1	100	1	1	100
	200	1	0	0.0	1	0	0.0	2	0	100	-	-	-
Top./Ort.		11	6	54.5	14	8	57.1	9	6	66.7	6	2	33.3
HZR	25	17	10	58.8	9	4	44.4	12	2	16.7	8	1	12.5
	50	14	3	21.4	10	3	30.0	15	8	53.3	7	3	42.9
	75	9	8	88.9	12	8	66.7	16	10	62.5	7	5	71.4
	100	12	7	58.3	9	6	66.7	15	8	53.3	5	3	60.0
	200	3	1	33.3	4	2	50.0	5	0	0.0	2	0	0.0
Top./Ort.		55	29	52.7	44	23	52.3	63	28	44.4	29	12	41.4
TMZ	25	9	6	66.7	3	3	100	16	3	18.8	8	1	12.5
	50	8	7	87.5	6	4	66.7	17	4	23.5	10	2	20.0
	75	15	13	86.7	10	8	80.0	14	4	28.6	6	1	16.7
	100	12	12	100	7	6	85.7	15	6	40.0	6	2	33.3
	200	4	1	25.0	2	0	0.0	6	1	16.7	1	0	0.0
Top./Ort.		48	39	81.3	28	21	75.0	68	18	26.5	31	6	19.4
AĞS	25	2	0	0.0	6	1	16.7	4	2	50.0	-	-	-
	50	-	-	-	4	1	25.0	4	2	50.0	-	-	-
	75	1	0	0.0	-	-	-	3	0	0.0	-	-	-
	100	1	0	0.0	-	-	-	2	0	0.0	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Top./Ort.		4	0	0.0	10	2	20.0	13	4	30.8	-	-	-
EYL	25	20	10	50.0	16	11	62.5	16	11	68.8	7	3	42.9
	50	6	2	33.3	4	3	80.0	-	-	0.0	-	-	0.0
	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Top./Ort.		26	12	46.2	20	14	70.0	16	11	68.8	7	3	42.9
Gen. Top./Ort.		144	86	59.7	116	68	58.6	169	67	39.6	73	23	31.5

TÇS: Tozlanan Çiçek Sayısı; TMS: Tutan Meyve Sayısı; MBO: Meyve Bağlama Oranı

- : Yeterli dişi çiçek veya polen olmadığından tozlama yapılamadı



Şekil 4.21. 1998 yılında aylara bağlı olarak ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu dört genotipte elde edilen meyve bağlama oranları (%)



Şekil 4.22. 1998 yılında farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle tozlanan dört genotipte meyve bağlama oranları (%)

Çizelge 4.4'te genotipler ve aylara göre ışınlanmış 0 ve 1 gün yaştaki polenlerle tozlanan ve meyve tutan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları verilmiştir.

Mayıs ayında anthesis aşamasındaki (0. gün) polenlerle tozlanan 39 çiçekten 22 tanesi meyveye dönüşmüş ve meyve bağlama oranı % 56.4 olarak gerçekleşmiştir. Haziran ayında 0 gün yaşlı polenlerle tozlanan 114 adet çiçekten, % 62.3'lük bir oran ile 71 adet meyve elde edilirken, 1 gün yaşlı polenleriyle yapılan 77 tozlamadan ise 24 adet meyve (% 31.2) elde edilmiştir. Temmuz ayında ilk gün tozlamalarında tozlanan 101 adet çiçekten % 65.4'ü meyve bağlamış ve toplam 66 adet meyve hasat

edilmiş, ertesi gün tozlanan 70 çiçekten ise 17 tanesi meyveye dönüşmüştür (% 24.3). Ağustos ayı, yoğun seyir eden ZYMV sebebiyle, en az sayıda meyvenin elde edildiği ay olmuş, 0. gün yaşlı polenlerle yapılan 27 tozlamadan sadece 6 adet meyve elde edilirken, ertesi gün 1 yaşlı polenlerle yapılan tozlamalardan ise meyve alınamamıştır. Eylül ayında ilk gün tozlanan 69 adet çiçekten 40 tanesi meyveye dönüşmüş, meyve bağlama oranı ise % 58.0 olmuştur.

Genotiplerin polen yaşına göre meyve bağlama oranları incelendiğinde; Acceste F₁ genotipinde 0. gün polenleriyle yapılan tozlamalarda en yüksek meyve bağlama oranı % 90.9 ile temmuz, en düşük meyve bağlama oranı ise % 20.0'lik değerle ağustos ayında elde edilmiştir. Öteki aylardan mayıs ayında % 57.1, haziran ayında % 64.0, eylül ayında ise % 70.0 oranında uyartım sağlanmıştır. 1 gün yaşlı polenlerle yalnızca haziran ve temmuz aylarında yapılan tozlamalarda sırasıyla % 36.8 ve % 20.0 oranlarında meyve tutumu olmuştur.

Eskenderany F₁ genotipinde 0 gün yaşlı polenlerle yıl boyunca yapılan tozlamalarda en yüksek meyve bağlama oranı % 82.8 ile temmuz ayında gerçekleşmiş, ağustos ayında ise hiçbir meyve elde edilememiştir. Diğer aylardan mayıs ayında % 60.0, haziran ayında % 62.1 ve eylül ayında ise % 46.2 oranlarında meyve tutumu olmuştur. 1 gün yaşlı polenlerle haziran ayında yapılan tozlamalardan 11 adet (% 42.3), temmuz ayında yapılan tozlamalardan ise 15 adet (% 79.0) meyve elde edilmiştir.

Sakız genotipinde 0. gün polenleriyle yapılan tozlamalarda en yüksek meyve tutumu eylül ayında (% 68.8), en düşük meyve tutumu ise ağustos ayında (% 30.8) gerçekleşmiştir. Mayıs ayında % 66.7 olan bu değer, haziran ayında % 61.0 olmuş, temmuz ayında % 43.2 olarak bulunmuştur. 1 gün yaşlı polenlerle yapılan uyartım çalışmalarında haziran ayında % 27.3, temmuz ayında ise % 3.6 meyve tutumu sağlanmıştır.

Urfa Yerli genotipinde 0. gün polenleriyle yapılan tozlamalardan ağustos ayında uyartım sağlanamazken, en yüksek meyve tutumu % 63.2 ile haziran, en düşük meyve tutumu ise % 33.3 ile mayıs ayında gerçekleşmiştir. Diğer aylardan temmuz ve eylül aylarında ise meyve bağlama oranları sırasıyla % 46.2 ve % 42.9 olarak bulunmuştur.

1998 yılı genel değerlendirmesine göre, 0 gün yaşlı polenlerle tozlanan 350 adet çiçekten % 58.6'sı, 1 gün yaşlı polenlerle tozlanan 147 adet çiçekten % 27.9'u meyveye dönüşerek sırasıyla, 205 ve 41 adet olmak üzere toplam 246 adet meyve elde edilmiştir.

Çizelge 4.4. 1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte ışınlanmış 0 ve 1 gün yaşlı polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları

MAYIS

GENOTİPLER	0. gün			1. gün		
	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
ESKENDERANY F ₁	10	6	42.9	-	-	-
ACCESTE F ₁	14	8	57.1	-	-	-
SAKIZ	9	6	66.7	-	-	-
URFA YERLİ	6	2	33.3	-	-	-
TOPLAM/ORTALAMA	39	22	56.4	-	-	-

HAZİRAN

GENOTİPLER	0. gün			1. gün		
	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
ESKENDERANY F ₁	29	18	62.1	26	11	42.3
ACCESTE F ₁	25	16	64.0	19	7	36.8
SAKIZ	41	25	61.0	22	6	27.3
URFA YERLİ	19	12	63.2	10	0	0.0
TOPLAM/ORTALAMA	114	71	62.3	77	24	31.2

TEMMUZ

GENOTİPLER	0. gün			1. gün		
	TÇS	TMS	MBO	TMS	MBO	MBO
ESKENDERANY F ₁	29	24	82.8	19	15	79.0
ACCESTE F ₁	22	20	90.9	5	1	20.0
SAKIZ	37	16	43.2	28	1	3.6
URFA YERLİ	13	6	46.2	18	0	0.0
TOPLAM/ORTALAMA	101	66	65.4	70	17	24.3

AĞUSTOS

GENOTİPLER	0. gün			1. gün		
	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
ESKENDERANY F ₁	4	0	0.00	-	-	-
ACCESTE F ₁	10	2	20.0	-	-	-
SAKIZ	13	4	30.7	-	-	-
URFA YERLİ	0	0	0.00	-	-	-
TOPLAM/ORTALAMA	27	6	22.2	-	-	-

Çizelge 4.4.'ün devamı

EYLÜL

GENOTİPLER	0. gün			1. gün		
	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
ESKENDERANY F ₁	26	12	46.2	-	-	-
ACCESTE F ₁	20	14	70.0	-	-	-
SAKIZ	16	11	68.8	-	-	-
URFA YERLİ	7	3	42.9	-	-	-
TOPLAM/ORTALAMA	69	40	58.0	-	-	-

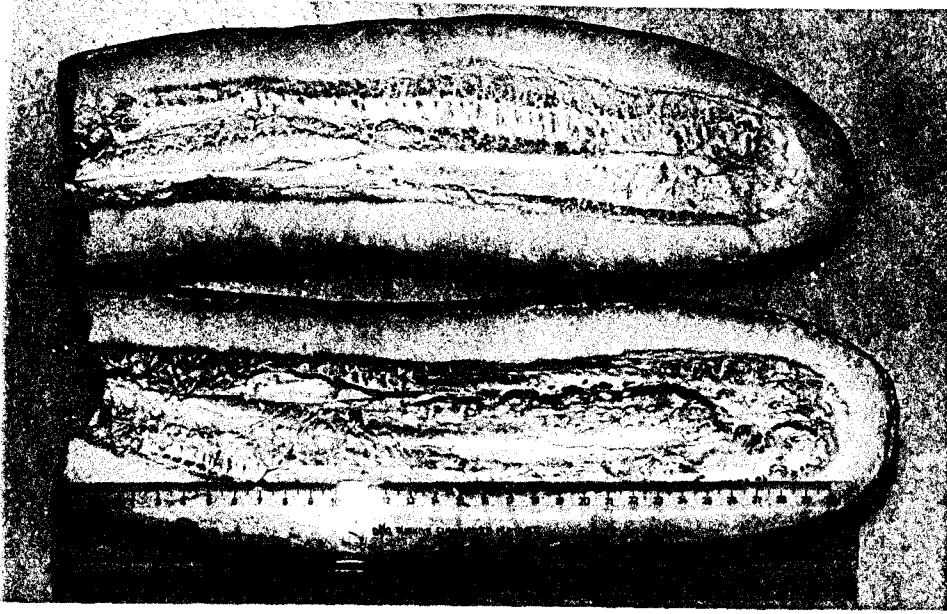
GENEL TOPLAM

GENOTİPLER	0. gün			1. gün		
	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
ESKENDERANY F ₁	98	60	61.2	45	26	57.8
ACCESTE F ₁	91	60	65.9	24	8	33.3
SAKIZ	116	62	53.5	50	7	14.0
URFA YERLİ	45	23	51.1	28	0	0.0
TOPLAM/ORTALAMA	350	205	58.6	147	41	27.9

TÇS: Tozlanan Çiçek Sayısı; TMS: Tutan Meyve Sayısı; MBO: Meyve Bağlama Oranı
 - : Yeterli dişi çiçek veya polen olmadığından tozlama yapılamadı.

4.1.4. Işınlanmış Polenlerle Tozlamaların Meyvelerde Ağırlık Değişimi ve Tohum Oluşumu Üzerine Etkileri

Kontrol polenleri ile yapılan tozlamalar sonucunda oluşan meyvelerdeki tohumlar sert kabuklu ve içleri normal embriyolar tarafından doldurulurken, ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu oluşan meyvelerdeki tohumların genellikle kabuklarının daha yumuşak ve içlerinin boş olduğu görülmüş, özellikle yüksek dozda ışınlanmış polenlerle yapılan tozlamalardan elde edilen meyvelerin bir çoğunda ise tohuma rastlanmamıştır (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Yüksek dozda ışınlanmış polenlerle tozlamalardan elde edilmiş içi boş bir meyve (Acceste F_1)

4.1.4.1. 1997 Yılı Bulguları

Farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu elde edilen meyve ve tohum sayıları ile meyve başına ortalama tohum sayıları ve ortalama meyve ağırlıkları hibrit genotipler için Çizelge 4.5 a'da, açık tozlanan genotipler için ise Çizelge 4.5 b'de sunulmuştur.

1997 yılında ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu Eskenderany F_1 genotipinden toplam 59 adet meyve elde edilmiş, elde edilen bu meyvelerin ortalama ağırlıkları 2012 g olmuş, bu meyvelerden 1760 adet tohum çıkarılmış ve meyve başına ortalama tohum sayısı 29.8 olarak gerçekleşmiştir. Acceste F_1 genotipinde elde edilen 39 meyvenin ortalama ağırlıkları 1777 g olurken, bu meyvelerden 855 adet tohum elde edilmiş ve meyve başına 21.9 tohum düştüğü belirlenmiştir. Sakız genotipinde ortalama ağırlıkları 1937 g olan 15 adet meyveden 728 tohum çıkarılmış ve ortalama tohum sayısı 48.5 olmuş; Urfa Yerli genotipinde ise hasat edilen 12 meyvede bu rakamlar sırasıyla 922 g, 1834 adet ve 152.8 adet olarak gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.5 a. 1997 yılında aylara bağlı olarak farklı dozlarda ışınlanan polenlerle tozlama sonucu Eskenderany F₁ ve Acceste F₁ genotiplerinde elde edilen meyvelerin sayısı, ortalama ağırlıkları, toplam ve meyve başına tohum sayıları

AYLAR	DOZ (Gy)	G E N O T İ P L E R							
		ESKENDERANY F ₁				ACCESTE F ₁			
		MS	MA	TTS	OTS	MS	MA	TTS	OTS
MAYIS	25	-	-	-	-	-	-	-	-
	50	1	2510	0	0.0	2	1460	33	16.5
	100	2	2075	0	0.0	1	1600	14	14.0
	200	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
	300	1	1400	0	0.0	1	300	0	0.0
	400	1	710	0	0.0	3	1387	2	0.7
Toplam/Ortalama		5	1754	0	0.0	7	1283	49	7.0
HAZİRAN	25	2	2150	243	121.5	-	-	-	-
	50	5	2110	693	138.6	2	2100	150	75.0
	100	5	1980	162	32.4	2	1775	18	9.0
	200	3	1983	33	11.0	2	1325	0	0.0
	300	3	1583	15	5.0	1	1520	0	0.0
	400	1	280	0	0	1	800	0	0.0
Toplam/Ortalama		19	1878	1146	60.3	8	1590	168	21.0
TEMMUZ	25	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
	50	0	0	0	0.0	1	1220	11	11.0
	75	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
	100	0	0	0	0.0	1	1385	0	0.0
	200	1	1400	0	0.0	0	0	0	0.0
	300	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
	400	0	0	0	0.0	1	3200	0	0.0
Toplam/Ortalama		1	1400	0	0.0	3	1935	11	3.7
AĞUSTOS	25	4	1313	107	26.8	0	0	0	0.0
	50	7	1900	125	17.9	1	1900	8	8.0
	75	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
	100	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
	200	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
	300	0	0	0	0.0	-	-	-	-
	400	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam/Ortalama		11	1686	232	21.1	1	1900	8	8.0
EYLÜL	25	4	2413	0	0.0	-	-	-	-
	50	6	2253	80	13.3	6	2009	373	62.2
	75	5	2569	183	36.6	4	2821	204	51.0
	100	4	2581	119	29.8	4	1686	40	10.0
	200	3	2265	0	0.0	6	1633	2	0.3
	300	-	-	-	-	0	0	0	0.0
	400	1	1185	0	0.0	-	-	-	-
Toplam/Ortalama		23	2362	382	16.6	20	1994	619	31.0
Genel Top./Ort.		59	2012	1760	29.8	39	1777	855	21.9

MS: Meyve Sayısı; MA: Ortalama Meyve Ağırlığı; TTS: Toplam Tohum Sayısı

OTS: Ortalama Tohum Sayısı

- : Yeterli dişi çiçek veya polen olmadığından tozlama yapılamadı.

Çizelge 4.5 b. 1997 yılında aylara bağlı olarak farklı dozlarda ışınlanan polenlerle tozlama sonucu Sakız ve Urfa Yerli genotiplerinde elde edilen meyvelerin sayısı, ortalama ağırlıkları, toplam ve meyve başına tohum sayıları

AYLAR	DOZ (Gy)	G E N O T İ P L E R							
		SAKIZ				URFA YERLİ			
		MS	MA	TTS	OTS	MS	MA	TTS	OTS
MAYIS	25	-	-	-	-	-	-	-	-
	50	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
	100	1	895	6	6.0	1	770	79	79.0
	200	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
	300	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
	400	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
Toplam/Ortalama		1	895	6	6.0	1	770	79	79.0
HAZİRAN	25	1	1850	92	92.0	3	813	476	158.7
	50	3	1735	322	107.3	2	1450	509	254.5
	100	3	1717	135	45.0	1	680	94	94.0
	200	1	1540	121	121.0	1	910	283	283.0
	300	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
	400	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
Toplam/Ortalama		8	1718	670	83.8	7	990	1362	194.6
TEMMUZ	25	0	0	0	0.0	-	-	-	-
	50	0	0	0	0.0	-	-	-	-
	75	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
	100	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
	200	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
	300	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
Toplam/Ortalama		0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
AĞUSTOS	25	0	0	0	0.0	1	580	55	55.0
	50	1	1870	0	0.0	1	1520	0	0.0
	75	-	-	-	-	0	0	0	0.0
	100	-	-	-	-	0	0	0	0.0
	200	-	-	-	-	-	-	-	-
	300	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam/Ortalama		1	1870	0	0.0	2	1050	55	27.5
EYLÜL	25	1	2080	0	0.0	1	770	310	310.0
	50	-	-	-	-	1	495	28	28.0
	75	2	3115	52	26.0	0	0	0	0.0
	100	1	2785	0	0.0	0	0	0	0.0
	200	0	0	0	0.0	-	-	-	-
	300	0	0	0	0.0	-	-	-	-
Toplam/Ortalama		5	2507	52	10.4	2	633	338	169.0
Genel Topl./Ort.		15	1937	728	48.5	12	922	1834	152.8

MS: Meyve Sayısı; MA: Ortalama Meyve Ağırlığı; TTS: Toplam Tohum Sayısı
OTS: Ortalama Tohum Sayısı

- : Yeterli dişi çiçek veya polen olmadığından tozlama yapılamadı.

Tozlamaların yapıldığı aylar dikkate alındığında, en yüksek değer meyve başına ortalama 89.9 adet tohum ile haziran ayında elde edilirken, temmuz ayında bu değer yılın en düşük miktarına inmiş ve 0.9 adet olarak gerçekleşmiştir. Diğer aylardan eylül ayında 56.7, mayıs ayında 23.0 ve ağustos ayında ise 14.2 adet tohum bulunmuştur (**Çizelge 4.6**).

En ağır meyveler eylül ayında yapılan tozlamalardan elde edilmiş ve bu ayda ortalama meyve ağırlığı 1874 g olarak gerçekleşmiştir. Temmuz ayı ise ortalama 834 g ile en hafif meyvelerin elde edildiği ay olmuştur. Ağustos ayı 1627 g, haziran ayı 1544 g ve mayıs ayı ise 1176 g ile bu değerler arasında yer almıştır (**Çizelge 4.7**).

Çizelge 4.6. 1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen ortalama tohum sayıları (adet/meyve)

AYLAR	G E N O T İ P L E R				Ortalama
	ESKENDERANY F ₁	ACCESTE F ₁	SAKIZ	URFA YERLİ	
MAYIS	0.0	7.0	6.0	79.0	23.0
HAZİRAN	60.3	21.0	83.8	194.6	89.9
TEMMUZ	0.0	3.7	0.0	0.0	0.9
AĞUSTOS	21.1	8.0	0.0	27.5	14.2
EYLÜL	16.6	31.0	10.4	169.0	56.7
Ortalama	29.8	21.9	48.5	152.8	

Çizelge 4.7. 1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen meyvelerin ortalama ağırlıkları (g)

AYLAR	G E N O T İ P L E R				Ortalama
	ESKENDERANY F ₁	ACCESTE F ₁	SAKIZ	URFA YERLİ	
MAYIS	1754	1283	895	770	1176
HAZİRAN	1878	1590	1718	990	1544
TEMMUZ	1400	1935	0	0	834
AĞUSTOS	1686	1900	1870	1050	1627
EYLÜL	2362	1994	2507	633	1874
Ortalama	2012	1777	1936	922	

4.1.4.2. 1998 Yılı Bulguları

Farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu elde edilen meyve ve tohum sayıları ile meyve başına ortalama tohum sayıları ve ortalama meyve ağırlıkları hibrit genotipler için **Çizelge 4.8 a'**da, açık tozlanan genotipler için ise **Çizelge 4.8 b'**de sunulmuştur.

1998 yılında ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu Eskenderany F₁ genotipinden toplam 86 adet meyve elde edilmiş, elde edilen bu meyvelerin ortalama ağırlıkları 1910 g olmuş, bu meyvelerden 4257 adet tohum çıkartılmış ve meyve başına ortalama tohum sayısı 49.5 olarak gerçekleşmiştir. Acceste F₁ genotipinde elde edilen 68 adet meyvenin ortalama ağırlıkları 1838 g olurken, bu meyvelerden 4177 adet tohum elde edilmiş ve meyve başına 61.4 adet tohum düştüğü belirlenmiştir. Sakız genotipinde ortalama ağırlıkları 1383 g olan 71 adet meyveden 5137 adet tohum çıkartılmış ve ortalama tohum sayısı 72.4 adet olmuş; Urfa Yerli genotipinde ise hasat edilen 23 meyvede bu rakamlar sırasıyla 737 g, 2718 adet ve 118.2 adet olarak gerçekleşmiştir.

Tozlamaların yapıldığı aylar dikkate alındığında, en yüksek değer meyve başına ortalama 137.4 adet tohum ile eylül ayında elde edilirken, ağustos ayında bu değer yılın en düşük miktarına inmiş ve 9.4 adet olarak gerçekleşmiştir. Diğer aylardan mayıs ayında 83.2, haziran ayında 73.0 ve temmuz ayında ise 62.9 adet tohum bulunmuştur (**Çizelge 4.9**).

En ağır meyveler mayıs ayında yapılan tozlamalardan elde edilmiş ve bu ayda ortalama meyve ağırlığı 1600 g olarak gerçekleşmiştir. Ağustos ayı ise ortalama 643 g ile en hafif meyvelerin elde edildiği ay olmuştur. Haziran ayı 1563 g, eylül ayı 1469 g ve temmuz ayı ise 1357 g ile bu değerler arasında yer almıştır (**Çizelge 4.10**).

Çizelge 4.8 a. 1998 yılında aylara bağlı olarak farklı dozlarda ışınlanan polenlerle tozlama sonucu Eskenderany F₁ ve Acceste F₁ genotiplerinde elde edilen meyvelerin sayısı, ortalama ağırlıkları, toplam ve meyve başına tohum sayıları

AYLAR	DOZ (Gy)	G E N O T İ P L E R							
		ESKENDERANY F ₁				ACCESTE F ₁			
		MS	MA	TTS	OTS	MS	MA	TTS	OTS
MAYIS	25	0	0	0	0.0	2	2670	422	211.0
	50	2	1518	96	48.0	2	2098	365	182.5
	75	2	2328	62	31.0	2	1543	24	11.0
	100	2	1810	26	13.0	2	2155	41	20.5
	200	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
Toplam/ortalama		6	1885	184	30.7	8	2116	852	106.5
HAZİRAN	25	10	1948	1227	122.7	4	2088	601	150.3
	50	3	1898	125	41.7	3	1678	169	56.3
	75	8	2159	227	28.4	8	1527	94	11.8
	100	7	2375	105	15.0	6	2158	155	25.8
	200	1	2095	0	0.0	2	2073	0	0.0
Toplam/ortalama		29	2109	1684	58.0	23	1856	1019	44.3
TEMMUZ	25	6	1863	374	62.3	3	1562	164	54.7
	50	7	1705	141	20.1	4	1828	81	20.3
	75	13	1460	55	4.2	8	1595	22	2.8
	100	12	1949	203	16.9	6	1844	19	2.7
	200	1	1935	0	0.0	0	0	0	0.0
Toplam/ortalama		39	1729	773	19.8	21	1712	286	13.6
AĞUSTOS	25	0	0	0	0.0	1	1065	7	7.0
	50	-	-	-	-	1	1455	4	4.0
	75	0	0	0	0.0	-	-	-	-
	100	0	0	0	0.0	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam/ortalama		0	0	0	0.0	2	1260	11	5.5
EYLÜL	25	10	2038	1410	161.6	11	1949	1542	140.2
	50	2	1985	206	103.0	3	1248	467	155.7
	75	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam/ortalama		12	2029	1616	134.7	14	1799	2009	143.5
TOPLAM		86	1910	4257	49.5	68	1838	4177	61.4

MS: Meyve Sayısı; MA: Ortalama Meyve Ağırlığı; TTS: Toplam Tohum Sayısı
OTS: Ortalama Tohum Sayısı

- : Yeterli dişi çiçek veya polen olmadığından tozlama yapılamadı.

Çizelge 4.8 b. 1998 yılında aylara bağlı olarak farklı dozlarda ışınlanan polenlerle tozlama sonucu Sakız ve Urfa Yerli genotiplerinde elde edilen meyvelerin sayısı, ortalama ağırlıkları, toplam ve meyve başına tohum sayıları

AYLAR	DOZ (Gy)	G E N O T İ P L E R							
		SAKIZ				URFA YERLİ			
		MS	MA	TTS	OTS	MS	MA	TTS	OTS
MAYIS	25	3	1762	698	232.7	0	0	0	0.0
	50	1	1440	81	81.0	0	0	0	0.0
	75	1	2255	26	26.0	1	520	177	177.0
	100	1	1540	51	51.0	1	710	0	0.0
	200	2	1878	2	1.0	-	-	-	-
Toplam/Ortalama		8	1785	858	107.3	2	615	177	88.5
HAZİRAN	25	2	1888	565	282.5	1	1035	298	298.0
	50	8	1489	580	72.5	3	723	381	127.0
	75	10	1482	544	54.4	5	726	650	130.0
	100	10	1592	285	28.5	3	673	161	53.7
	200	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0
Toplam/Ortalama		30	1548	1974	65.8	12	738	1490	124.2
TEMMUZ	25	3	1230	385	128.3	1	695	141	141.0
	50	4	996	66	16.5	2	965	408	204.0
	75	4	1600	255	63.8	1	585	125	125.0
	100	6	1158	75	12.5	2	558	377	188.5
	200	1	1765	0	0.0	0	0	0	0.0
Toplam/Ortalama		18	1266	781	43.4	6	721	1051	175.2
AĞUSTOS	25	2	1220	45	22.5	-	-	-	-
	50	2	1403	84	42.0	-	-	-	-
	75	0	0	0	0.0	-	-	-	-
	100	0	0	0	0.0	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam/Ortalama		4	1312	129	32.3	-	-	-	-
EYLÜL	25	11	1204	1395	126.8	3	845	434	144.7
	50	-	-	-	-	-	-	-	-
	75	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam/Ortalama		11	1204	1395	126.8	3	845	434	144.7
TOPLAM		71	1383	5137	72.4	23	736.7	2718	118.2

MS: Meyve Sayısı; MA: Ortalama Meyve Ağırlığı; TTS: Toplam Tohum Sayısı
OTS: Ortalama Tohum Sayısı

- : Yeterli dişi çiçek veya polen olmadığından tozlama yapılamadı.

Çizelge 4.9. 1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen ortalama tohum sayıları (adet/meyve)

AYLAR	G E N O T İ P L E R				Ortalama
	ESKENDERANY F ₁	ACCESTE F ₁	SAKIZ	URFA YERLİ	
MAYIS	30.7	106.5	107.3	88.5	83.2
HAZİRAN	58.0	44.3	65.8	124.2	73.0
TEMMUZ	19.8	13.6	43.4	175.2	62.9
AĞUSTOS	0.0	5.5	32.3	0.0	9.4
EYLÜL	134.7	143.5	126.8	144.7	137.4
Ortalama	49.5	61.4	72.4	118.2	

Çizelge 4.10. 1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen meyvelerin ortalama ağırlıkları (g)

AYLAR	G E N O T İ P L E R				Ortalama
	ESKENDERANY F ₁	ACCESTE F ₁	SAKIZ	URFA YERLİ	
MAYIS	1885	2116	1785	615	1600
HAZİRAN	2109	1856	1548	738	1563
TEMMUZ	1729	1712	1266	721	1357
AĞUSTOS	0	1260	1312	0	643
EYLÜL	2029	1799	1204	845	1469
TOPLAM	1910	1838	1383	737	

4.1.5. Işınlanmış Polenlerle Yapılan Tozlamaların Embriyo Uyartımına Etkileri

4.1.5.1. 1997 Yılı Bulguları

Farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle uyartım sonucu elde edilen embriyo sayıları ile meyve başına ortalama embriyo sayılarına ilişkin toplu sonuçlar genotiplere, aylara ve ışın dozlarına göre **Çizelge 4.11**'de verilmiştir.

Yıl boyunca yapılan uyartım çalışmaları sonucunda **Çizelge 4.11**'de de görüldüğü gibi yalnızca 25 ve 50 Gray dozunda ışınlanmış polenlerle tozlamalardan embriyo elde edilebilmiş, diğer dozlar ise embriyo uyartımına cevap vermemiştir.

1997 döneminde Eskenderany F₁ genotipinden elde edilen 59 adet meyveden toplam 172 adet, Acceste F₁ genotipinde 39 adet meyveden 7, Sakız genotipinde 15 adet meyveden 34 ve Urfa Yerli genotipinde ise 12 adet meyveden 126 adet oldukça farklı gelişme safhalarında embriyolar elde edilmiştir. Meyve başına ortalama embriyo sayıları Eskenderany F₁ genotipinde 2.9 adet, Acceste F₁ genotipinde 0.2

adet, Sakız genotipinde 2.3 adet ve Urfa Yerli genotipinde ise 10.5 adet olarak gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.11. 1997 yılında farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle uyartım sonucu aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen embriyo sayıları ile meyve başına ortalama embriyo sayıları (adet)

AYLAR	DOZ (Gy)	G E N O T İ P L E R											
		ESKENDERANY F ₁			ACCESTE F ₁			SAKIZ			URFA YERLİ		
		MS	TE	MBE	MS	TE	MBE	MS	TE	MBE	MS	TE	MBE
MYS	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	50	1	0	0.0	2	0	0.0	0	0	0.0	1	2	2.0
	100	2	0	0.0	1	0	0.0	1	0	0.0	0	0	0.0
	200	0	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0
	300	1	0	0.0	1	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0
	400	1	0	0.0	3	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0
Toplam/Ort.		5	0	0.0	7	0	0.0	1	0	0.0	1	2	2.0
HZR	25	2	63	31.5	0	0	0.0	1	20	20.0	3	83	27.7
	50	5	51	10.2	2	7	3.5	3	14	4.7	2	29	14.5
	100	5	0	0.0	2	0	0.0	3	0	0.0	1	0	0.0
	200	3	0	0.0	2	0	0.0	1	0	0.0	1	0	0.0
	300	3	0	0.0	1	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0
	400	1	0	0.0	1	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0
Toplam/Ort.		19	114	6.0	8	7	0.9	8	34	4.3	7	121	17.3
TMZ	25	0	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0	-	-	-
	50	0	0	0.0	1	0	0.0	0	0	0.0	-	-	-
	75	0	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0
	100	0	0	0.0	1	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0
	200	1	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0
	300	0	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0
	400	0	0	0.0	1	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0
Toplam/Ort.		1	0	0.0	3	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0
AĞS	25	4	24	6.0	0	0	0.0	0	0	0.0	1	12	12.0
	50	7	21	3.0	1	0	0.0	1	0	0.0	1	0	0.0
	75	0	0	0.0	0	0	0.0	-	-	-	0	0	0.0
	100	0	0	0.0	0	0	0.0	-	-	-	0	0	0.0
	200	0	0	0.0	0	0	0.0	-	-	-	-	-	-
	300	0	0	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	400	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam/Ort.		11	45	4.1	1	0	0.0	1	0	0.0	2	12	6.0
EYL	25	4	1	0.3	-	-	-	1	0	0.0	1	0	0.0
	50	6	12	2.0	6	0	0.0	-	-	-	1	0	0.0
	75	5	0	0.0	4	0	0.0	2	0	0.0	0	0	0.0
	100	4	0	0.0	4	0	0.0	1	0	0.0	0	0	0.0
	200	3	0	0.0	6	0	0.0	0	0	0.0	-	-	-
	300	-	-	-	0	0	0.0	0	0	0.0	-	-	-
	400	1	0	0.0	-	-	-	1	0	0.0	-	-	-
Toplam/Ort.		23	58	2.5	20	0	0.0	4	0	0.0	2	0	0.0
Gen. Top./Ort.		59	172	2.9	39	7	0.2	15	34	2.3	12	126	10.5

MS: Meyve Sayısı; TE: Toplam Embriyo Sayısı;

MBE: Meyve Başına Ortalama Embriyo Sayısı

- : Yeterli dişi çiçek veya polen olmadığından tozlama yapılamadı.

Tozlamaların yapıldığı aylar dikkate alındığında, haziran ayı ortalama 5.16 adet ile en çok embriyonun elde edildiği ay olmuş, bunu sırasıyla 1.33 ile ağustos, 0.16 ile eylül ve 0.07 ile mayıs ayı takip etmiştir. Polenlere uygulanan 25 Gy ışın dozu meyve başına ortalama 7.0 adet embriyo uyartımı yaparak en iyi sonucu vermiştir. 50 Gy ışın dozunda bu değer 2.4 olarak gerçekleşmiş, diğer ışın dozlarından ise embriyo elde edilememiştir (**Çizelge 4.12**).

Aylar ve çeşitler birlikte değerlendirildiğinde en fazla embriyo 7.1 adet ile haziran ayında, en az embriyo ise 0.5 adet ile mayıs ayında elde edilmiştir. Yoğun ZYMV sebebiyle temmuz ayında hiçbir embriyo elde edilemezken, bu değerler sırasıyla, ağustos ayında 2.5 ve eylül ayında 0.6 olmuştur. Yıl içerisinde en yüksek değer meyve başına 17.3 adet embriyo ile Urfa Yerli genotipinde ve haziran ayında, en düşük değer ise yine aynı ayda meyve başına 0.9 adet ile Acceste F₁ genotipinden elde edilmiştir (**Çizelge 4.13**).

Çizelge 4.12. 1997 yılında farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle uyartım sonucu aylara bağlı olarak elde edilen ortalama embriyo sayıları (adet/meyve)

AYLAR	I Ş I N D O Z L A R I (G r a y)							Ortalama
	25	50	75	100	200	300	400	
MAYIS	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.07
HAZİRAN	27.7	8.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.16
TEMMUZ	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00
AĞUSTOS	7.2	2.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.33
EYLÜL	0.2	0.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.16
Ortalama	7.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	

Çizelge 4.13. 1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen ortalama embriyo sayıları (adet/meyve)

AYLAR	G E N O T İ P L E R				Ortalama
	ESKENDERANY F ₁	ACCESTE F ₁	SAKIZ	URFA YERLİ	
MAYIS	0.0	0.0	0.0	2.0	0.5
HAZİRAN	6.0	0.9	4.3	17.3	7.1
TEMMUZ	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AĞUSTOS	4.1	0.0	0.0	6.0	2.5
EYLÜL	2.5	0.0	0.0	0.0	0.6
Ortalama	2.9	0.2	2.3	10.5	

4.1.5.2. 1998 Yılı Bulguları

Işınlanmış polenlerle uyartım sonucu elde edilen embriyo sayıları ile meyve başına ortalama embriyo sayılarına ilişkin toplu sonuçlar genotiplere, aylara ve ışın dozlarına göre **Çizelge 4.14**'de verilmiştir.

Uyartım çalışmaları sonucunda **Çizelge 4.14**'de de görüldüğü gibi elde edilen embriyoların tamamı 25 ve 50 Gy dozunda ışınlanmış polenlerle yapılan tozlamalardan gelmiştir.

1998 döneminde Eskenderany F₁ genotipinden elde edilen 86 adet meyveden toplam 534 adet, Acceste F₁ genotipinde 68 adet meyveden 373, Sakız genotipinde 67 adet meyveden 552 ve Urfa Yerli genotipinde ise 23 adet meyveden 78 adet oldukça farklı gelişme safhalarında embriyolar elde edilmiştir. Meyve başına ortalama embriyo sayıları Eskenderany F₁ genotipinde 6.2 adet, Acceste F₁ genotipinde 5.5 adet, Sakız genotipinde 8.2 adet ve Urfa Yerli genotipinde ise 3.4 adet olarak gerçekleşmiştir.

Tozlamaların yapıldığı aylar dikkate alındığında, mayıs ayı ortalama 7.7 adet ile en çok embriyonun elde edildiği ay olmuş, bunu sırasıyla 5.8 ile haziran, 4.5 ile eylül, 3.1 ile temmuz ve 1.0 ile ağustos ayı takip etmiştir. Polenlere uygulanan 25 Gy ışın dozu meyve başına 18.37 adet embriyo uyartımı yaparak en iyi sonucu vermiştir. 50 Gy ışın dozunda bu değer 7.00 olarak gerçekleşmiş, diğer ışın dozlarından ise embriyo elde edilememiştir (**Çizelge 4.15**).

Aylar ve çeşitler birlikte değerlendirildiğinde en fazla embriyo 14.4 adet ile eylül ayında, en az embriyo ise 1.0 adet ile ağustos ayında elde edilmiştir. Bu değerler sırasıyla, mayıs ayında 6.1, haziran ayında 4.9 ve ağustos ayında 2.9 olmuştur. Genelde tüm aylarda embriyo uyartımı sağlanmış olup, yıl içerisinde en yüksek değer meyve başına 19.8 adet embriyo ile Sakız genotipinde ve eylül ayında, en düşük değer ise Acceste F₁ genotipinde ve aynı ayda meyve başına 0.5 adet ile elde edilmiştir. Urfa Yerli genotipinde mayıs ayında, Eskenderany F₁ genotipinde ise ağustos ayında hiçbir embriyo uyartımı sağlanamamıştır (**Çizelge 4.16**).

Çizelge 4.14. 1998 yılında farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle uyartım sonucu aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen embriyo sayıları ile meyve başına ortalama embriyo sayıları (adet)

AYLAR	DOZ (Gy)	G E N O T İ P L E R											
		ESKENDERANY F ₁			ACCESTE F ₁			SAKIZ			URFA YERLİ		
		MS	TE	MBE	MS	TE	MBE	MS	TE	MBE	MS	TE	MBE
MYS	25	0	0	0.0	2	58	29.0	3	93	31.0	0	0	0
	50	2	14	7.0	2	27	13.5	1	0	0.0	0	0	0
	75	2	0	0.0	2	0	0.0	1	0	0.0	1	0	0.0
	100	2	0	0.0	2	0	0.0	1	0	0.0	1	0	0.0
	200	0	0	0.0	0	0	0.0	2	0	0.0	0	0	0.0
Toplam/Ort.		6	14	2.3	8	85	10.6	8	93	11.6	2	0	0.0
HZR	25	10	195	19.5	4	88	22.0	2	78	39.0	1	14	14.0
	50	3	18	6.0	3	10	3.3	8	73	9.1	3	20	6.7
	75	8	0	0.0	8	0	0.0	10	0	0.0	5	0	0.0
	100	7	0	0.0	6	0	0.0	10	0	0.0	3	0	0.0
	200	1	0	0.0	2	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0
Toplam/Ort.		29	213	7.3	23	98	4.3	30	151	5.0	12	34	2.8
TMZ	25	6	80	13.3	3	25	8.3	3	76	25.3	1	22	22.0
	50	7	0	0.0	4	0	0.0	4	0	0.0	2	0	0.0
	75	13	0	0.0	8	0	0.0	4	0	0.0	1	0	0.0
	100	12	0	0.0	6	0	0.0	6	0	0.0	2	0	0.0
	200	1	0	0.0	0	0	0.0	1	0	0.0	0	0	0.0
Toplam/Ort.		39	80	2.7	21	25	1.2	18	76	4.2	6	22	3.7
AĞS	25	0	0	0.0	1	1	1.0	2	7	3.5	-	-	-
	50	-	-	-	1	0	0.0	2	7	3.5	-	-	-
	75	0	0	0.0	-	-	-	0	0	0.0	-	-	-
	100	0	0	0.0	-	-	-	0	0	0.0	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam/Ort.		0	0	0.0	2	1	0.5	4	14	3.5	-	-	-
EYL	25	10	208	20.8	11	156	14.2	11	218	19.8	3	22	7.3
	50	2	19	9.5	3	8	2.6	-	-	-	-	-	-
	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam/Ort.		12	227	18.9	14	164	11.7	11	218	19.8	3	22	7.3
Gen. Top./Ort.		86	534	6.2	68	373	5.5	67	552	8.2	23	78	3.4

MS: Meyve Sayısı; TE: Toplam Embriyo Sayısı;

MBE: Meyve Başına Ortalama Embriyo Sayısı

- : Yeterli dişi çiçek veya polen olmadığından tozlama yapılamadı.

Çizelge 4.15. 1998 yılında farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle uyartım sonucu aylara bağlı olarak elde edilen ortalama embriyo sayıları (adet/meyve)

AYLAR	IŞIN DOZLARI					Ortalama
	25	50	75	100	200	
MAYIS	30.2	8.2	0.0	0.0	0.0	7.7
HAZİRAN	22.1	7.1	0.0	0.0	0.0	5.8
TEMMUZ	15.6	0.0	0.0	0.0	0.0	3.1
AĞUSTOS	2.7	2.3	0.0	0.0	-	1.0
EYLÜL	17.3	5.4	-	-	-	4.5
Ortalama	18.4	7.0	0.0	0.0	0.0	

Çizelge 4.16. 1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen ortalama embriyo sayıları (adet/meyve)

AYLAR	G E N O T İ P L E R				Ortalama
	ESKENDERANY F ₁	ACCESTE F ₁	SAKIZ	URFA YERLİ	
MAYIS	2.3	10.6	11.6	0.0	6.1
HAZİRAN	7.3	4.3	5.0	2.8	4.9
TEMMUZ	2.7	1.2	4.2	3.7	2.9
AĞUSTOS	0.0	0.5	3.5	-	1.0
EYLÜL	18.9	11.7	19.8	7.3	14.4
Ortalama	6.2	5.5	8.2	3.4	

- : Yeterli dişi çiçek veya polen olmadığından tozlama yapılamadı.

4.1.6. Işınlanmış Polenlerle Uyartım Sonucu Elde Edilen Embiyoların Değişik Gelişme Safhaları

4.1.6.1. 1997 Yılı Bulguları

Işınlanmış polenlerle tozlama sonucu aylara bağlı olarak elde edilen değişik gelişim safhalarındaki bitkiye dönüşebilecek sert, beyaz yapılı embriyolar ile bitkiye dönüşme kabiliyetleri olmayan nekrotik embriyoların sayılarına ilişkin sonuçlar **Çizelge 4.17 a, b, c ve d'**de sunulmuştur.

Çizelge 4.17 a'da görüldüğü gibi; Eskenderany F₁ genotipinde 114 adet haziran, 45 adet ağustos ve 13 adet de eylül ayında olmak üzere toplam 172 adet embriyo elde edilmiştir. Bu embriyolardan 128 adedi bitkiye dönüşebilecek sert, beyaz renkli embriyolar olurken, 44 tanesinin nekrotik olduğu belirlenmiştir. Buna göre, sert embriyolar toplam embriyoların % 74.42'sini oluşturmuştur. Sert

embriyolardan nokta safhasında 15 adet, globüler safhada 46 adet, çubuk safhasında 13 adet, torpedo safhada 13 adet, yürek safhasında 17 adet, kotiledon benzeri 11 adet ve şekilsiz 13 adet embriyo elde edilmiştir. Bu embriyoların toplam sert embriyolara oranları ise sırasıyla % 11.72, % 35.94, % 10.16, % 10.16, % 13.28, % 8.59 ve % 10.16 olmuştur. Mayıs ve temmuz aylarında ise embriyo uyartımı sağlamak mümkün olmamıştır. Farklı gelişim safhalarında bulunan sert ve nekrotik embriyolar birlikte değerlendirildiğinde; 23 adet nokta safhada, 72 adet globüler safhada, 17 adet çubuk safhada, 16 adet torpedo safhada, 17 adet yürek safhada, 12 adet kotiledon safhada ve 15 adet şekilsiz embriyo elde edilmiştir.

Çizelge 4.17 a. 1997 yılında Eskenderany F₁ genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları

		A Y L A R					Toplam	%
		MYS	HZR	TMZ	AĞS	EYL		
S	Nokta	0	9	0	4	2	15	11.72
E	Globüler	0	33	0	10	3	46	35.94
R	Çubuk	0	6	0	5	2	13	10.16
T	Torpedo	0	11	0	2	0	13	10.16
	Yürek	0	8	0	7	2	17	13.28
E	Kotiledon	0	8	0	3	0	11	8.59
M.	Şekilsiz	0	6	0	5	2	13	10.16
N	Nokta	0	8	0	0	0	8	18.18
E	Globüler	0	19	0	6	1	26	59.09
K	Çubuk	0	2	0	2	0	4	9.09
R.	Torpedo	0	1	0	1	1	3	6.82
	Yürek	0	0	0	0	0	0	0.00
E	Kotiledon	0	1	0	0	0	1	2.27
M.	Şekilsiz	0	2	0	0	0	2	4.55
	SET	0	81	0	36	11	128	74.42
	NET	0	33	0	9	2	44	25.58
	GT	0	114	0	45	13	172	

SET: Sert Embriyoların Toplamı; NET: Nekrotik Embriyoların Toplamı
GT: Genel Toplam

Acceste F₁ genotipi 1997 yılında yalnızca haziran ayında ve toplam 7 adet embriyo vermiştir. Bu embriyolardan 4 adedi sert, beyaz yapılı embriyo; 3 adedi ise nekrotik embriyo olarak bulunmuştur. Sert, beyaz embriyolar toplam embriyoların % 57.14'ünü, nekrotik embriyolar ise % 42.86'sını oluşturmuştur. 4 adet sert

embriyodan 1 adedi nokta safhasında, 1 adedi yürek safhasında, 2 adedi globüler safhada olurken, 3 adet nekrotik embriyo ise globüler safhada tespit edilmiştir (Çizelge 4.17 b).

Çizelge 4.17 b. 1997 yılında Acceste F₁ genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları

		A Y L A R					Toplam	%
		MYS	HZR	TMZ	AĞS	EYL		
S E R T E M.	Nokta	0	1	0	0	0	1	25.00
	Globüler	0	2	0	0	0	2	50.00
	Çubuk	0	0	0	0	0	0	0.00
	Torpedo	0	0	0	0	0	0	0.00
	Yürek	0	1	0	0	0	1	25.00
	Kotiledon	0	0	0	0	0	0	0.00
	Şekilsiz	0	0	0	0	0	0	0.00
N E K R. E M.	Nokta	0	0	0	0	0	0	0.00
	Globüler	0	3	0	0	0	3	100.00
	Çubuk	0	0	0	0	0	0	0.00
	Torpedo	0	0	0	0	0	0	0.00
	Yürek	0	0	0	0	0	0	0.00
	Kotiledon	0	0	0	0	0	0	0.00
	Şekilsiz	0	0	0	0	0	0	0.00
SET		0	4	0	0	0	4	57.14
NET		0	3	0	0	0	3	42.86
GT		0	7	0	0	0	7	

SET: Sert Embriyoların Toplamı; NET: Nekrotik Embriyoların Toplamı
GT: Genel Toplam

Çizelge 4.17 c’de görüldüğü gibi, Sakız genotipinde yalnızca haziran ayında ve toplam 34 embriyo elde edilmiş, bu embriyolardan 22 adedinin sert, 12 adedinin ise nekrotik olduğu belirlenmiştir. Sert embriyolar toplam embriyoların % 64.71’ini oluşturmuştur. Sert embriyolardan 3’ü nokta, 6’sı globüler, 2’si torpedo, 7’si yürek, 3’ü kotiledon ve 1’i ise şekilsiz olarak bulunmuştur. Değişik safhalarda bulunan sert ve yumuşak embriyolar birlikte değerlendirildiğinde; 6 adet nokta safhasında, 14 adet globüler safhada, 2 adet torpedo safhada, 8 adet yürek safhada, 3 adet kotiledon safhada ve 1 adet şekilsiz yapı belirlenmiştir.

Çizelge 4.17 c. 1997 yılında Sakız genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları

		A Y L A R					Toplam	%
		MYS	HZR	TMZ	AĞS	EYL		
S E R T E M.	Nokta	0	3	0	0	0	3	13.64
	Globüler	0	6	0	0	0	6	27.27
	Çubuk	0	0	0	0	0	0	0.00
	Torpedo	0	2	0	0	0	2	9.09
	Yürek	0	7	0	0	0	7	31.82
	Kotiledon	0	3	0	0	0	3	13.64
	Şekilsiz	0	1	0	0	0	1	4.55
N E K R. E M.	Nokta	0	3	0	0	0	3	25.00
	Globüler	0	8	0	0	0	8	66.67
	Çubuk	0	0	0	0	0	0	0.00
	Torpedo	0	0	0	0	0	0	0.00
	Yürek	0	1	0	0	0	1	8.33
	Kotiledon	0	0	0	0	0	0	0.00
	Şekilsiz	0	0	0	0	0	0	0.00
SET		0	22	0	0	0	22	64.71
NET		0	12	0	0	0	12	35.29
GT		0	34	0	0	0	34	

SET: Sert Embriyoların Toplamı; NET: Nekrotik Embriyoların Toplamı
GT: Genel Toplam

Urfa Yerli genotipinde temmuz ve eylül ayları dışında embriyo uyartımı sağlamak mümkün olmuş, elde edilen toplam 126 adet embriyodan 2 adedi mayıs, 112 adedi haziran, 12 adedi ise ağustos ayından gelmiştir. Bu embriyolardan 86 adedi sert, 40 adedi ise nekrotik olarak tespit edilmiştir. Bitkiye dönüşebilecek yapıda olan embriyolar toplam embriyoların % 68.25'ini oluşturmuştur. Sert embriyoların 6 adedi nokta, 33 adedi globüler, 4 adedi çubuk, 7 adedi torpedo, 15 adedi yürek, 12 adedi kotiledon safhasında olurken, 9 adet te şekilsiz embriyoya rastlanmıştır. Bu embriyoların toplam embriyoya oranları ise sırasıyla, % 6.98, % 38.37, % 4.65, % 8.14, % 17.44, % 13.95 ve % 10.47 olarak saptanmıştır. Elde edilen tüm embriyolar birlikte değerlendirildiğinde; 8 adet nokta, 67 adet globüler, 6 adet çubuk, 7 adet torpedo, 17 adet yürek, 12 adet kotiledon ve 9 adet şekilsiz embriyo tespit edilmiştir (**Çizelge 4.17 d**).

Çizelge 4.17 d. 1997 yılında Urfa Yerli genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları

		A Y L A R					Toplam	%
		MYS	HZR	TMZ	AĞS	EYL		
S E R T E M.	Nokta	0	6	0	0	0	6	6.98
	Globüler	0	29	0	4	0	33	38.37
	Çubuk	0	4	0	0	0	4	4.65
	Torpedo	0	7	0	0	0	7	8.14
	Yürek	0	14	0	1	0	15	17.44
	Kotiledon	2	9	0	1	0	12	13.95
	Şekilsiz	0	6	0	3	0	9	10.47
N E K R. E M.	Nokta	0	0	0	2	0	2	5.13
	Globüler	0	34	0	0	0	34	85.00
	Çubuk	0	2	0	0	0	2	5.13
	Torpedo	0	0	0	0	0	0	0.00
	Yürek	0	1	0	1	0	2	5.13
	Kotiledon	0	0	0	0	0	0	0.00
	Şekilsiz	0	0	0	0	0	0	0.00
SET		2	75	0	9	0	86	68.25
NET		0	37	0	3	0	40	31.75
GT		2	112	0	12	0	126	

SET: Sert Embriyoların Toplamı; NET: Nekrotik Embriyoların Toplamı
GT: Genel Toplam

1997 yılı genel değerlendirmesine göre, temmuz ayı dışında embriyo uyartımı sağlamak mümkün olmuş, elde edilen toplam 339 adet embriyodan 2 adedi mayıs, 267 adedi haziran, 57 adedi ağustos ve 13 adedi ise eylül ayından gelmiştir. Bu embriyolardan 240 adedi sert, 99 adedi ise nekrotik olarak tespit edilmiştir. Bitkiye dönüşebilecek yapıda olan embriyolar toplam embriyoların % 70.80'ini oluşturmuştur. Sert embriyoların 25 adedi nokta, 87 adedi globüler, 17 adedi çubuk, 22 adedi torpedo, 40 adedi yürek, 26 adedi kotiledon safhasında olurken, 23 adet te şekilsiz embriyoya rastlanmıştır. Bu embriyoların toplam embriyoya oranları ise sırasıyla, % 10.41, % 36.25, % 7.08, % 9.17, % 16.67, % 10.83 ve % 9.58 olarak saptanmıştır. Elde edilen tüm embriyolar birlikte değerlendirildiğinde; 38 adet nokta, 158 adet globüler, 23 adet çubuk, 25 adet torpedo, 43 adet yürek, 27 adet kotiledon ve 25 adet şekilsiz embriyo tespit edilmiştir (**Çizelge 4.18**).

Çizelge 4.18. 1997 yılı içerisinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları

		A Y L A R					Toplam	%
		MYS	HZR	TMZ	AĞS	EYL		
S E R T E M.	Nokta	0	19	0	4	2	25	10.41
	Globüler	0	70	0	14	3	87	36.25
	Çubuk	0	10	0	5	2	17	7.08
	Torpedo	0	20	0	2	0	22	9.17
	Yürek	0	30	0	8	2	40	16.67
	Kotiledon	2	20	0	4	0	26	10.83
N E K R. E M.	Şekilsiz	0	13	0	8	2	23	9.58
	Nokta	0	11	0	2	0	13	13.13
	Globüler	0	64	0	6	1	71	71.72
	Çubuk	0	4	0	2	0	6	6.06
	Torpedo	0	1	0	1	1	3	3.03
	Yürek	0	2	0	1	0	3	3.03
	Kotiledon	0	1	0	0	0	1	1.01
	Şekilsiz	0	2	0	0	0	2	2.02
SET		2	182	0	45	11	240	70.80
NET		0	85	0	12	2	99	29.20
GT		2	267	0	57	13	339	

SET: Sert Embriyoların Toplamı; NET: Nekrotik Embriyoların Toplamı
GT: Genel Toplam

4.1.6.2. 1998 Yılı Bulguları

Işınlanmış polenlerle tozlama sonucu aylara bağlı olarak elde edilen değişik gelişim safhalarındaki bitkiye dönüşebilecek sert, beyaz yapılı embriyolar ile bitkiye dönüşme kabiliyetleri olmayan nekrotik embriyoların sayılarına ilişkin sonuçlar **Çizelge 4.19 a, b, c ve d'**de sunulmuştur.

Çizelge 4.19 a'da görüldüğü gibi, Eskenderany F₁ genotipinde 227 adet eylül, 213 adet haziran, 80 adet temmuz ve 14 adet de mayıs ayında olmak üzere toplam 534 adet embriyo elde edilmiştir. Bu embriyolardan 472 adedi bitkiye dönüşebilecek sert, beyaz renkli embriyolar olurken, 62 tanesinin nekrotik olduğu belirlenmiştir. Buna göre, sert beyaz renkli embriyolar toplam embriyoların % 88.39'unu oluşturmuştur. Sert embriyolardan nokta safhasında 48 adet, globüler safhada 93 adet, ok ucu safhasında 71 adet, çubuk safhasında 31 adet, torpedo safhada 37 adet, yürek safhasında 11 adet, kotiledon benzeri 146 adet ve şekilsiz 35 adet embriyo elde edilmiştir. Bu embriyoların toplam sert embriyolara oranları ise sırasıyla % 10.17, % 19.70, % 15.04, % 6.57, % 7.84, % 2.33, % 30.93 ve % 7.42 olmuştur.

Ağustos ayında embriyo uyartımı sağlamak mümkün olmamıştır. Farklı gelişim safhalarında bulunan sert ve nekrotik embriyolar birlikte değerlendirildiğinde; 66 adet nokta safhada, 120 adet globüler safhada, 81 adet ok ucu safhada, 35 adet çubuk safhada, 37 adet torpedo safhada, 11 adet yürek safhada, 149 adet kotiledon safhada ve 35 adet şekilsiz embriyo elde edilmiştir.

Çizelge 4.19 a. 1998 yılında Eskenderany F₁ genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları

		AYLAR					Toplam	%
		MYS	HZR	TMZ	AĞS	EYL		
S E R T	Nokta	1	18	6	0	23	48	10.17
	Globüler	4	50	10	0	29	93	19.70
	Ok ucu	1	24	12	0	34	71	15.04
	Çubuk	1	11	7	0	12	31	6.57
	Torpedo	1	9	6	0	21	37	7.84
E M B.	Yürek	1	2	5	0	3	11	2.33
	Kotiledon	2	36	11	0	97	146	30.93
	Şekilsiz	1	18	8	0	8	35	7.42
N E K R.	Nokta	0	11	7	0	0	18	29.03
	Globüler	2	20	5	0	0	27	43.55
	Ok ucu	0	7	3	0	0	10	16.13
	Çubuk	0	4	0	0	0	4	6.45
	Torpedo	0	0	0	0	0	0	0.00
E M B.	Yürek	0	0	0	0	0	0	0.00
	Kotiledon	0	3	0	0	0	3	4.84
	Şekilsiz	0	0	0	0	0	0	0.00
SET		12	168	65	0	227	472	88.39
NET		2	45	15	0	0	62	11.61
GT		14	213	80	0	227	534	

SET: Sert Embriyoların Toplamı; NET: Nekrotik Embriyoların Toplamı

GT: Genel Toplam

Acceste F₁ genotipi 164 adet eylül, 98 adet haziran, 85 adet mayıs, 25 adet temmuz ve 1 adet de ağustos ayında olmak üzere toplam 373 adet embriyo vermiştir. Bu embriyolardan 296 adedi bitkiye dönüşebilecek sert, beyaz renkli embriyolar olurken, 77 tanesinin nekrotik olduğu belirlenmiştir. Buna göre, sert beyaz renkli embriyolar toplam embriyoların % 79.36'sını oluşturmuştur. Sert embriyolardan nokta safhasında 66 adet, globüler safhada 35 adet, ok ucu safhasında 27 adet, çubuk safhasında 13 adet, torpedo safhada 27 adet, yürek safhasında 9 adet, kotiledon

benzeri 110 adet ve şekilsiz 9 adet embriyo elde edilmiştir. Bu embriyoların toplam sert embriyolara oranları ise sırasıyla % 22.30, % 11.82, % 9.12, % 4.39, % 9.12, % 3.04, % 37.16 ve % 3.04 olmuştur. Değişik safhalarda bulunan sert ve nekrotik embriyolar birlikte değerlendirildiğinde; 103 adet nokta safhasında, 54 adet globüler safhada, 30 adet ok ucu safhada, 14 adet çubuk safhada, 36 adet torpedo safhada, 10 adet yürek safhada, 117 adet kotiledon safhada ve 9 adet şekilsiz yapı belirlenmiştir (Çizelge 4.19 b).

Çizelge 4.19 b. 1998 yılında Acceste F₁ genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları

		A Y L A R					Toplam	%
		MYS	HZR	TMZ	AĞS	EYL		
S E R T E M B. R.	Nokta	16	17	6	0	27	66	22.30
	Globüler	11	8	1	0	15	35	11.82
	Ok ucu	4	2	1	0	20	27	9.12
	Çubuk	3	3	2	0	5	13	4.39
	Torpedo	1	4	2	0	20	27	9.12
	Yürek	4	5	0	0	0	9	3.04
	Kotiledon	14	17	2	0	77	110	37.16
	Şekilsiz	6	1	2	0	0	9	3.04
N E K R. E M B. R.	Nokta	13	19	4	1	0	37	48.05
	Globüler	5	11	3	0	0	19	24.68
	Ok ucu	1	1	1	0	0	3	3.90
	Çubuk	0	1	0	0	0	1	1.30
	Torpedo	4	4	1	0	0	9	11.69
	Yürek	1	0	0	0	0	1	1.30
	Kotiledon	2	5	0	0	0	7	9.09
	Şekilsiz	0	0	0	0	0	0	0.00
SET		59	57	16	0	164	296	79.36
NET		26	41	9	1	0	77	20.64
GT		85	98	25	1	164	373	

SET: Sert Embriyoların Toplamı; NET: Nekrotik Embriyoların Toplamı
GT: Genel Toplam

Çizelge 4.19 c'de görüldüğü gibi, Sakız genotipinden 218 adet eylül, 151 adet haziran, 93 adet mayıs, 76 adet temmuz ve 14 adet de ağustos ayında olmak üzere toplam 552 adet embriyo elde edilmiştir. Bu embriyolardan 448 adedi bitkiye dönüşebilecek sert, beyaz renkli embriyolar olurken; 104 adedinin nekrotik olduğu belirlenmiştir. Buna göre, sert beyaz renkli embriyolar toplam embriyoların %

81.16'sını oluşturmuştur. Sert embriyolardan nokta safhasında 69 adet, globüler safhada 59 adet, ok ucu safhasında 84 adet, çubuk safhasında 6 adet, torpedo safhada 35 adet, yürek safhasında 11 adet, kotiledon benzeri 146 adet ve şekilsiz 38 adet embriyo elde edilmiştir. Bu embriyoların toplam embriyoya oranları ise sırasıyla % 15.40, % 13.17, % 18.75, % 1.34, % 7.81, % 2.46, % 32.59 ve % 8.48 olmuştur. Değişik safhalarda bulunan sert ve yumuşak embriyolar birlikte değerlendirildiğinde; 99 adet nokta safhasında, 100 adet globüler safhada, 108 adet ok ucu safhada, 6 adet çubuk safhada, 36 adet torpedo safhada, 11 adet yürek safhada, 153 adet kotiledon safhada ve 39 adet şekilsiz yapı belirlenmiştir.

Çizelge 4.19 c. 1998 yılında Sakız genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları

		A Y L A R					Toplam	%
		MYS	HZR	TMZ	AĞS	EYL		
S E R T	Nokta	6	21	5	7	30	69	15.40
	Globüler	11	9	9	1	29	59	13.17
	Ok ucu	16	22	10	1	35	84	18.75
	Çubuk	1	2	1	0	2	6	1.34
	Torpedo	5	9	4	0	17	35	7.81
	Yürek	2	2	3	2	2	11	2.46
E M B.	Kotiledon	7	18	20	0	101	146	32.59
	Şekilsiz	12	17	6	1	2	38	8.48
N E K R.	Nokta	3	20	7	0	0	30	28.85
	Globüler	24	12	5	0	0	41	39.42
	Ok ucu	4	15	4	1	0	24	23.08
	Çubuk	0	0	0	0	0	0	0.00
	Torpedo	0	0	0	1	0	1	0.96
	Yürek	0	0	0	0	0	0	0.00
E M B.	Kotiledon	2	3	2	0	0	7	6.73
	Şekilsiz	0	1	0	0	0	1	0.96
SET		60	100	58	12	218	448	81.16
NET		33	51	18	2	0	104	18.84
GT		93	151	76	14	218	552	

SET: Sert Embriyoların Toplamı; NET: Nekrotik Embriyoların Toplamı
GT: Genel Toplam

Urfa Yerli genotipinde mayıs ve ağustos ayları dışında embriyo uyarımı sağlamak mümkün olmuş, elde edilen toplam 78 adet embriyodan 34 adedi haziran, 22 adedi temmuz ve 22 adedi ise eylül ayından gelmiştir. Bu embriyolardan 63 adedi sert, 15 adedi ise nekrotik olarak tespit edilmiştir. Bitkiye dönüşebilecek yapıda olan

embriyolar toplam embriyoların % 80.77'sini oluşturmuştur. Sert embriyoların 12 adedi nokta, 12 adedi globüler, 2 adedi ok ucu, 4 adedi çubuk, 5 adedi yürek, 24 adedi kotiledon safhasında olurken, 4 adet de şekilsiz embriyoya rastlanmıştır. Bu embriyoların toplam embriyoya oranları ise sırasıyla, % 19.05, % 19.05, % 3.17, % 6.35, % 7.94, % 38.10 ve % 6.35 olarak saptanmıştır. Elde edilen tüm embriyolar birlikte değerlendirildiğinde, 33 adet nokta, 15 adet globüler, 2 adet ok ucu, 4 adet çubuk, 5 adet yürek, 25 adet kotiledon ve 4 adet şekilsiz embriyo tespit edilmiştir (Çizelge 4.19 d).

Çizelge 4.19 d. 1998 yılında Urfa Yerli genotipinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları

		A Y L A R					Toplam	%
		MYS	HZR	TMZ	AĞS	EYL		
S E R T	Nokta	0	3	5	0	4	12	19.05
	Globüler	0	6	4	0	2	12	19.05
	Ok ucu	0	0	0	0	2	2	3.17
	Çubuk	0	3	1	0	0	4	6.35
	Torpedo	0	0	0	0	0	0	0.00
E M B.	Yürek	0	3	2	0	0	5	7.94
	Kotiledon	0	7	3	0	14	24	38.10
	Şekilsiz	0	1	3	0	0	4	6.35
N E K R.	Nokta	0	8	3	0	0	11	73.33
	Globüler	0	2	1	0	0	3	20.00
	Ok ucu	0	0	0	0	0	0	0.00
	Çubuk	0	0	0	0	0	0	0.00
	Torpedo	0	0	0	0	0	0	0.00
E M B.	Yürek	0	0	0	0	0	0	0.00
	Kotiledon	0	1	0	0	0	1	6.67
	Şekilsiz	0	0	0	0	0	0	0.00
SET		0	23	18	0	22	63	80.77
NET		0	11	4	0	0	15	19.23
GET		0	34	22	0	22	78	

SET: Sert Embriyoların Toplamı; NET: Nekrotik Embriyoların Toplamı
GT: Genel Toplam

1998 yılı genel değerlendirmesine göre 649 adet eylül, 496 adet haziran, 203 adet temmuz, 192 adet mayıs ve 15 adet de ağustos ayında olmak üzere toplam 1555 adet embriyo elde edilmiştir. Bu embriyolardan 1279 adedi bitkiye dönüşebilecek sert, beyaz renkli embriyolar olurken; 276 adedinin nekrotik olduğu belirlenmiştir.

Buna göre, sert beyaz renkli embriyolar toplam embriyoların % 82.25'ini oluşturmuştur. Sert embriyolardan nokta safhasında 195 adet, globüler safhada 199 adet, ok ucu safhasında 184 adet, çubuk safhasında 54 adet, torpedo safhada 99 adet, yürek safhasında 36 adet, kotiledon safhasında 426 adet ve şekilsiz 86 adet embriyo elde edilmiştir. Bu embriyoların toplam embriyoya oranları ise sırasıyla % 15.25, % 15.56, % 14.39, % 4.22, % 7.74, % 2.81, % 33.31 ve % 6.72 olmuştur. Değişik safhalarda bulunan sert ve yumuşak embriyolar birlikte değerlendirildiğinde; 309 adet nokta safhasında, 289 adet globüler safhada, 221 adet ok ucu safhada, 59 adet çubuk safhada, 109 adet torpedo safhada, 37 adet yürek safhada, 444 adet kotiledon safhada ve 87 adet şekilsiz yapı belirlenmiştir (**Çizelge 4.20**).

Çizelge 4.20. 1998 yılı içerisinde aylara bağlı olarak elde edilen değişik safhalardaki embriyoların sayıları ile toplam embriyoya oranları

		A Y L A R					Toplam	%
		MYS	HZR	TMZ	AĞS	EYL		
S E R T	Nokta	23	59	22	7	84	195	15.25
	Globüler	26	73	24	1	75	199	15.56
	Ok ucu	21	48	23	1	91	184	14.39
	Çubuk	5	19	11	0	19	54	4.22
	Torpedo	7	22	12	0	58	99	7.74
	Yürek	7	12	10	2	5	36	2.81
E M B.	Kotiledon	23	78	36	0	289	426	33.31
	Şekilsiz	19	37	19	1	10	86	6.72
N E K R.	Nokta	16	58	21	1	18	114	41.30
	Globüler	31	45	14	0	0	90	32.61
	Ok ucu	5	23	8	1	0	37	13.41
	Çubuk	0	5	0	0	0	5	1.81
	Torpedo	4	4	1	1	0	10	3.62
	Yürek	1	0	0	0	0	1	0.36
E M B.	Kotiledon	4	12	2	0	0	18	6.52
	Şekilsiz	0	1	0	0	0	1	0.36
SET		131	348	157	12	631	1279	82.25
NET		61	148	46	3	18	276	17.75
GET		192	496	203	15	649	1555	

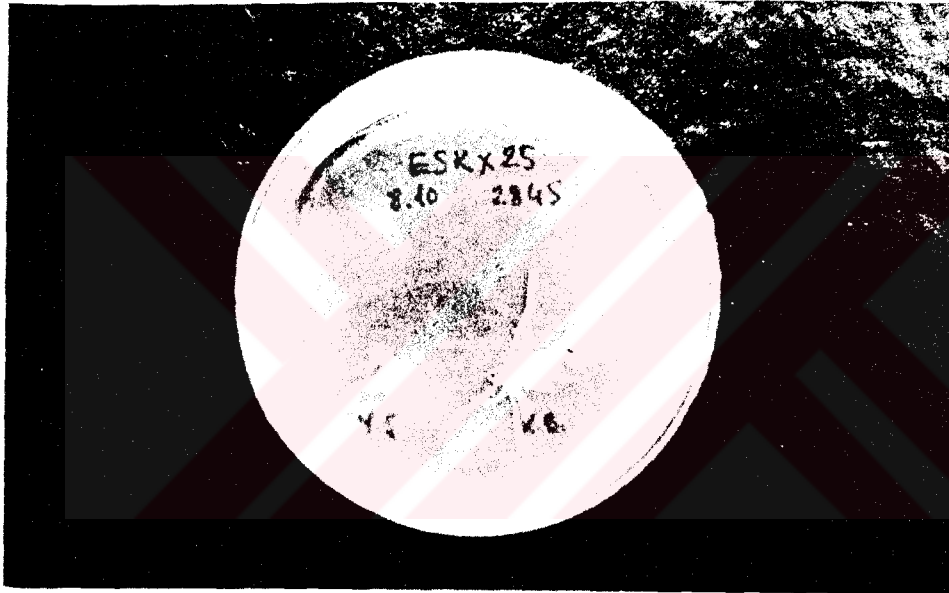
SET: Sert Embriyoların Toplamı; NET: Nekrotik Embriyoların Toplamı

GT: Genel Toplam

4.1.7. Işınlanmış Polenlerle Uyartım Sonucu Elde Edilen Değişik Safhalardaki Embriyoların Köklenme ve Bitkiye Dönüşümleri

4.1.7.1. 1997 Yılı Bulguları

1997 yılında *in vitro*'da kültüre alınarak bitkiye dönüştürülmeye çalışılan farklı gelişme safhalarındaki embriyo sayıları ile bu embriyolardan köklenen (Şekil 4.24), bitkiye dönüşen embriyo miktarları ile saksılara şaşırtılan bitki sayıları genotiplere ve aylara göre Çizelge 4.21 a, b, c ve d'de verilmiştir.



Şekil 4.24. Köklenmekte olan yürek ve kotiledon safhadaki embriyolar

Çizelge 4.21 a'da görüldüğü gibi Eskenderany F₁ genotipinde temmuz ve mayıs ayları dışındaki tüm aylarda embriyo uyartımı sağlamak mümkün olmuş, elde edilen 128 adet embriyodan 64 adedi köklenmiş, köklenen embriyolardan 37 adedi (% 28.9) normal bir bitkiye dönüşmüş, bu bitkilerden ise ancak 9 adedi canlı tutulabilmektedir. En fazla embriyo (81 adet) ve bitki (26 adet) ise haziran ayında elde edilmiştir.

Nokta safhasındaki 15 embriyodan 3'ü köklenmesine rağmen bitkiye dönüşmemiştir. Globüler safhadaki 46 embriyodan 4, çubuk safhasındaki 13 embriyodan 5, torpedo safhasındaki 13 embriyodan 6, yürek safhasındaki 17 embriyodan 11, kotiledon safhasındaki 11 embriyodan 9, şekilsiz 13 embriyodan ise 2 adet bitki elde edilmiştir. Embriyoların bitkiye dönüşüm oranları ise kotiledon safhasında % 81.8, yürek safhasında % 64.7, torpedo safhasında % 46.2, çubuk safhasında % 38.5, globüler safhada ise % 8.7 olmuştur.

Çizelge 4.21 a. 1997 yılında Eskenderany F₁ genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları

	HAZİRAN						AĞUSTOS					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	9	2	0	0	0	0.0	4	0	0	0	0	0.0
Globüler	33	5	3	3	0	9.1	10	2	0	0	0	0.0
Çubuk	6	5	3	3	0	50.0	5	1	1	1	0	20.0
Torpedo	11	9	4	4	1	36.4	2	2	1	1	0	50.0
Yürek	8	8	6	6	1	75.0	7	7	4	2	0	57.1
Kotiledon	8	8	8	8	4	100.0	3	3	3	3	2	100.0
Şekilsiz	6	3	2	2	0	33.3	5	1	1	1	0	20.0
TOPLAM	81	40	26	26	6	32.1	36	16	8	8	2	22.2

	EYLÜL						TOPLAM					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	2	1	0	0	0	0.0	15	3	0	0	0	0.0
Globüler	3	2	1	1	0	33.3	46	9	4	4	0	8.7
Çubuk	2	2	1	1	0	50.0	13	8	5	5	0	38.5
Torpedo	0	0	0	0	0	0.0	13	11	6	6	1	46.2
Yürek	2	2	1	1	1	50.0	17	17	11	11	2	64.7
Kotiledon	0	0	0	0	0	0.0	11	11	9	9	6	81.8
Şekilsiz	2	1	0	0	0	0.0	13	5	2	2	0	15.4
TOPLAM	11	8	3	3	1	27.3	128	64	37	37	9	28.9

Acceste F₁ genotipinde yalnızca haziran ayında ve toplam 4 adet embriyo elde edilmiş ve bu embriyolardan 1 (% 25.0) adedi normal bir bitkiye dönüşebilmiştir (**Çizelge 4.21 b**).

Çizelge 4.21 b. 1997 yılında Acceste F₁ genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları

HAZİRAN (GENEL TOPLAM)						
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	1	0	0	0	0	0.0
Globüler	2	0	0	0	0	0.0
Çubuk	0	0	0	0	0	0.0
Torpedo	0	0	0	0	0	0.0
Yürek	1	1	1	1	1	100.0
Kotiledon	0	0	0	0	0	0.0
Şekilsiz	0	0	0	0	0	0.0
TOPLAM	4	1	1	1	1	25.0

Sakız genotipinde de yalnızca haziran ayında embriyo uyartımı sağlanmış, elde edilen 22 adet embriyodan 17 adedi köklenmiş, 6 adedi (% 27.3) normal bir bitkiye dönüşmüş, bunlardan ise 3 adedi canlı tutulabilmiştir (**Çizelge 4.21 c**).

Nokta safhasındaki 3, globüler safhadaki 6, şekilsiz 1 adet embriyodan bitki elde edilememiştir. Torpedo safhasındaki 2 embriyodan 1, yürek safhasındaki 7 embriyodan 2, kotiledon safhasındaki 3 embriyodan ise 3 adet bitki elde edilmiştir. Embriyoların bitkiye dönüşüm oranları ise kotiledon safhasında % 100.0, yürek safhasında % 28.6, torpedo safhasında ise % 50.0 olmuştur.

Çizelge 4.21 c. 1997 yılında Sakız genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları

HAZİRAN (GENEL TOPLAM)						
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	3	0	0	0	0	0.0
Globüler	6	4	0	0	0	0.0
Çubuk	0	0	0	0	0	0.0
Torpedo	2	2	1	1	0	50.0
Yürek	7	7	2	2	1	28.6
Kotiledon	3	3	3	3	2	100.0
Şekilsiz	1	1	0	0	0	0.0
TOPLAM	22	17	6	6	3	27.3

Urfa Yerli genotipinde ise (**Çizelge 4.21 d**) temmuz ve eylül ayları dışındaki tüm aylarda embriyo uyartımı sağlanmış, elde edilen 86 adet embriyodan 58 adedi köklenmiş, köklenen embriyolardan 26 adedi (% 30.2) normal bir bitkiye dönüşmüş,

bu bitkilerden ise ancak 11 adedi canlı tutulabilmektedir. En fazla embriyo (86 adet) ve bitki (26 adet) ise haziran ayında elde edilmiştir

Nokta safhasındaki 6 embriyodan 1'i, şekilsiz 9 embriyodan 5'i köklenmesine rağmen bitkiye dönüşmemiştir. Globüler safhadaki 33 embriyodan 3, çubuk safhasındaki 4 embriyodan 2, torpedo safhasındaki 7 embriyodan 2, yürek safhasındaki 15 embriyodan 9, kotiledon safhasındaki 12 embriyodan ise 10 adet bitki elde edilmiştir. Embriyoların bitkiye dönüşüm oranları ise kotiledon safhasında % 83.3, yürek safhasında % 60.0, torpedo safhasında % 28.6, çubuk safhasında % 50.0, globüler safhada ise % 9.1 olmuştur.

Çizelge 4.21 d. 1997 yılında Urfa Yerli genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları

	MAYIS						HAZİRAN					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	0	0	0	0	0	0.0	6	1	0	0	0	0.0
Globüler	0	0	0	0	0	0.0	29	12	3	3	0	10.3
Çubuk	0	0	0	0	0	0.0	4	4	2	2	2	50.0
Torpedo	0	0	0	0	0	0.0	7	7	2	2	1	28.6
Yürek	0	0	0	0	0	0.0	14	14	8	8	2	57.1
Kotiledon	2	2	1	1	1	50.0	9	9	8	8	4	88.9
Şekilsiz	0	0	0	0	0	0.0	6	4	0	0	0	0.0
TOPLAM	2	2	1	1	1	50.0	75	51	23	23	9	30.7

	AĞUSTOS						TOPLAM					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	0	0	0	0	0	0.0	6	1	0	0	0	0.0
Globüler	4	2	0	0	0	0.0	33	14	3	3	0	9.1
Çubuk	0	0	0	0	0	0.0	4	4	2	2	2	50.0
Torpedo	0	0	0	0	0	0.0	7	7	2	2	1	28.6
Yürek	1	1	1	1	0	100.0	15	15	9	9	2	60.0
Kotiledon	1	1	1	1	1	100.0	12	12	10	10	6	83.3
Şekilsiz	3	1	0	0	0	0.0	9	5	0	0	0	0.0
TOPLAM	9	5	2	2	1	22.2	86	58	26	26	11	30.2

1997 yılı genel değerlendirmesine göre elde edilen 240 adet embriyodan 139 adedi köklenmiş, köklenen embriyolardan 69 adedi (% 28.8) normal bir bitkiye dönüşmüş, bu bitkilerden ise ancak 24 adedi canlı tutulabilmektedir.

Nokta safhasındaki 25 embriyodan 4'ü köklenmesine rağmen, bitkiye dönüşmemiştir. Globüler safhadaki 87 embriyodan 7, çubuk safhasındaki 21

embriyodan 7, torpedo safhasındaki 22 embriyodan 9, yürek safhasındaki 39 embriyodan 22, kotiledon safhasındaki 26 embriyodan 22, şekilsiz 23 embriyodan ise 2 adet bitki elde edilmiştir. Embriyoların bitkiye dönüşüm oranları ise kotiledon safhasında % 84.6, yürek safhasında % 56.4, torpedo safhasında % 40.9, çubuk safhasında % 33.3, şekilsizde % 8.7, globüler safhada ise % 8.0 olmuştur (**Çizelge 4.22**).

Çizelge 4.22. 1997 yılı içerisinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların bitkiye dönüşüm oranları

	GENEL TOPLAM					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	25	4	0	0	0	0.0
Globüler	87	27	7	7	0	8.0
Çubuk	21	12	7	7	2	33.3
Torpedo	22	20	9	9	2	40.9
Yürek	39	39	22	22	6	56.4
Kotiledon	26	26	22	22	14	84.6
Şekilsiz	23	11	2	2	0	8.7
TOPLAM	240	139	69	69	24	28.8

TE : Toplam Embriyo Sayısı

KE : Köklenen Embriyo Sayısı

BDE : Bitkiye Dönüşen Embriyo Sayısı

ŞBS : Şaşırtılan Bitki Sayısı

TB : Tutan Bitki Sayısı

BDO : Bitkiye Dönüşüm Oranı (%)

4.1.7.2. 1998 Yılı Bulguları

1998 yılında *in vitro*'da kültüre alınarak bitkiye dönüştürülmeye çalışılan farklı gelişme safhalarındaki embriyo sayıları ile bu embriyolardan köklenen, bitkiye dönüşen embriyo miktarları ile saksılara şaşırtılan bitki sayıları genotiplere ve aylara göre **Çizelge 4.23 a, b, c ve d**'de verilmiştir.

Eskenderany F₁ genotipinde elde edilen 472 adet embriyodan 159 adedi köklenmiş, köklenen embriyolardan ise 84 adedi (% 17.8) normal bir bitkiye dönüşmüş, bu bitkilerden ancak 50 adedi canlı tutulabilmiştir. En fazla embriyonun elde edildiği ay eylül ayı olmuş (227 adet), diğer aylardan haziran'da 168, temmuz'da 65, mayıs'da ise 12 adet embriyo elde edilmiştir (**Çizelge 4.23 a**).

Nokta safhasındaki 48 embriyodan 3, globüler safhadaki 93 embriyodan 8, okucu safhasındaki 71 embriyodan 8, çubuk safhasındaki 31 embriyodan 6, torpedo

safhasındaki 37 embriyodan 9, yürek safhasındaki 11 embriyodan 5, kotiledon safhasındaki 146 embriyodan 44, şekilsiz 35 embriyodan ise 1 adet bitki elde edilmiştir. Embriyoların bitkiye dönüşüm oranları ise yürek safhasında % 45.5 kotiledon safhasında % 26.8, torpedo safhasında % 24.3, çubuk safhasında % 19.4, ok ucu safhasında % 11.3, globüler safhada % 8.6, nokta safhasında % 6.3, şekilsizlerde ise % 2.9 olmuştur.

Çizelge 4.23 a. 1998 yılında Eskenderany F₁ genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları

	MAYIS						HAZİRAN					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	1	0	0	0	0	0.0	18	3	1	1	1	5.6
Globüler	4	1	0	0	0	0.0	50	17	4	4	1	8.0
Ok ucu	1	0	0	0	0	0.0	24	8	3	3	1	12.5
Çubuk	1	0	0	0	0	0.0	11	4	2	2	0	18.2
Torpedo	1	1	0	0	0	0.0	9	5	2	2	2	22.2
Yürek	1	1	1	1	1	100.0	2	1	1	1	1	50.0
Kotiledon	2	2	2	2	2	100.0	36	23	14	14	9	38.9
Şekilsiz	1	0	0	0	0	0.0	18	5	1	1	0	5.6
TOPLAM	12	5	3	3	3	25.0	168	66	28	28	15	16.7

	TEMMUZ						EYLÜL					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	6	1	0	0	0	0.0	23	3	2	2	1	8.7
Globüler	10	3	1	1	0	10.0	29	5	3	3	2	10.3
Ok ucu	12	2	1	1	0	8.4	34	13	4	4	2	11.8
Çubuk	7	3	2	2	1	28.6	12	2	2	2	1	16.7
Torpedo	6	4	2	2	2	33.3	21	8	5	5	3	23.8
Yürek	5	4	3	3	1	60.0	3	0	0	0	0	0.0
Kotiledon	11	9	7	7	5	63.6	97	30	21	21	14	21.6
Şekilsiz	8	2	0	0	0	0.0	8	0	0	0	0	0.0
TOPLAM	65	28	16	16	9	24.6	227	61	37	37	23	16.3

	GENEL TOPLAM					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	48	6	3	3	2	6.3
Globüler	93	26	8	8	3	8.6
Ok ucu	71	23	8	8	3	11.3
Çubuk	31	9	6	6	2	19.4
Torpedo	37	18	9	9	7	24.3
Yürek	11	6	5	5	3	45.5
Kotiledon	146	64	44	44	30	26.8
Şekilsiz	35	7	1	1	0	2.9
TOPLAM	472	159	84	84	50	17.8

Çizelge 4.23 b'de de görüldüğü gibi Acceste F₁ genotipinde ağustos ayı dışında embriyo uyartımı sağlamak mümkün olmuş, elde edilen 296 adet embriyodan 86 adedi köklenmiş ve 53 adedi (% 17.9) normal bir bitkiye dönüşebilmiş, bu bitkilerden ise 35 adedi canlı tutulabilmekmiştir. En fazla embriyonun (164 adet) ve bitkinin (30 adet) elde edildiği ay ise eylül ayı olmuştur.

Çizelge 4.23 b. 1998 yılında Acceste F₁ genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları

	MAYIS						HAZİRAN					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	16	3	0	0	0	0.0	17	1	0	0	0	0.0
Globüler	11	3	1	1	0	9.1	8	0	0	0	0	0.0
Ok ucu	4	1	0	0	0	0.0	2	0	0	0	0	0.0
Çubuk	3	2	1	1	1	33.3	3	1	1	1	0	33.3
Torpedo	1	1	1	1	0	100.0	4	3	2	2	1	50.0
Yürek	4	3	1	1	1	25.0	5	3	3	3	2	60.0
Kotiledon	14	12	7	7	5	50.0	17	14	11	11	7	64.7
Şekilsiz	6	2	1	1	0	16.7	1	0	0	0	0	0.0
TOPLAM	59	27	12	12	7	20.3	57	22	17	17	10	29.8

	TEMMUZ						EYLÜL					
	E	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	6	1	0	0	0	0.0	27	0	0	0	0	0.0
Globüler	1	0	0	0	0	0.0	15	1	0	0	0	0.0
Ok ucu	1	0	0	0	0	0.0	20	2	1	1	1	5.0
Çubuk	2	2	1	1	1	50.0	5	0	0	0	0	0.0
Torpedo	2	2	1	1	1	50.0	20	8	5	5	3	25.0
Yürek	0	0	0	0	0	0.0	0	0	0	0	0	0.0
Kotiledon	2	2	2	2	1	100.0	77	19	14	14	11	18.2
Şekilsiz	2	0	0	0	0	0.0	0	0	0	0	0	0.0
TOPLAM	16	6	4	4	3	25.0	164	30	20	20	15	12.2

	GENEL TOPLAM					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	66	5	0	0	0	0.0
Globüler	35	4	1	1	0	2.9
Ok ucu	27	3	1	1	1	3.7
Çubuk	13	5	3	3	2	23.1
Torpedo	27	14	9	9	5	33.3
Yürek	9	6	4	4	3	44.4
Kotiledon	110	47	34	34	24	30.9
Şekilsiz	9	2	1	1	0	11.1
TOPLAM	296	86	53	53	35	17.9

Nokta safhasındaki 66 embriyodan 5'i köklenmesine rağmen bitkiye dönüşememiş, globüler safhadaki 35 embriyodan 1, ok ucu safhasındaki 27 embriyodan 1, çubuk safhasındaki 13 embriyodan 3, torpedo safhasındaki 27 embriyodan 9, yürek safhasındaki 9 embriyodan 4, kotiledon safhasındaki 110 embriyodan 47, şekilsiz 9 embriyodan ise 1 adet bitki elde edilmiştir. Embriyoların bitkiye dönüşüm oranları ise yürek safhasında % 44.4, kotiledon safhasında % 30.9, torpedo safhasında % 33.3, çubuk safhasında % 23.1, şekilsizlerde % 11.1, ok ucu safhasında % 3.7, globüler safhada ise % 2.9 olmuştur.

Sakız genotipinde, **Çizelge 4.23 c'**de de görüldüğü gibi yıl boyunca embriyo uyartımı sağlanmış, elde edilen 448 adet embriyodan 170 adedi köklenmiş ve 98 adedi (% 21.9) normal bir bitkiye dönüşebilmiş, bu bitkilerden ise 66 adedi canlı tutulabilmiştir. En fazla embriyonun (218 adet) ve bitkinin (48 adet) elde edildiği ay ise eylül ayı olmuştur.

Nokta safhasındaki 69 embriyodan 2, globüler safhadaki 59 embriyodan 4, ok ucu safhasındaki 84 embriyodan 12, çubuk safhasındaki 6 embriyodan 2, torpedo safhasındaki 35 embriyodan 13, yürek safhasındaki 11 embriyodan 5, kotiledon safhasındaki 146 embriyodan 55, şekilsiz 38 embriyodan ise 5 adet bitki elde edilmiştir. Embriyoların bitkiye dönüşüm oranları ise yürek safhasında % 45.5, kotiledon safhasında % 37.7, torpedo safhasında % 37.1, çubuk safhasında % 33.3, ok ucu safhasında % 14.3, şekilsizlerde % 13.2, globüler safhada % 6.8, nokta safhasında ise % 2.9 olmuştur.

Çizelge 4.23 c. 1998 yılında Sakız genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları

	MAYIS						HAZİRAN					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	6	0	0	0	0	0.0	21	2	0	0	0	0.0
Globüler	11	1	1	1	0	9.1	9	1	1	1	1	11.1
Ok ucu	16	3	1	1	1	6.3	22	6	1	1	1	4.5
Çubuk	1	1	0	0	0	0.0	2	1	1	1	1	50.0
Torpedo	5	3	2	2	1	40.0	9	5	3	3	1	33.3
Yürek	2	2	1	1	1	50.0	2	2	2	2	1	100.0
Kotiledon	7	5	5	5	4	71.4	18	13	9	9	6	50.0
Şekilsiz	12	4	1	1	1	8.3	17	5	3	3	2	17.6
TOPLAM	60	19	11	11	8	18.3	100	35	20	20	13	20.0

Çizelge 4.23 c'nin devamı

	TEMMUZ						AĞUSTOS					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	5	0	0	0	0	0.0	7	0	0	0	0	0.0
Globüler	9	1	0	0	0	0.0	1	0	0	0	0	0.0
Ok ucu	10	3	1	1	1	10.0	1	0	0	0	0	0.0
Çubuk	1	0	0	0	0	0.0	0	0	0	0	0	0.0
Torpedo	4	3	2	2	1	50.0	0	0	0	0	0	0.0
Yürek	3	3	1	1	1	33.3	2	1	1	1	0	50.0
Kotiledon	20	14	13	13	9	65.0	0	0	0	0	0	0.0
Şekilsiz	6	2	1	1	1	16.7	1	0	0	0	0	0.0
TOPLAM	58	26	18	18	12	31.0	12	1	1	1	0	8.3

	EYLÜL						GENEL TOPLAM					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	30	5	2	2	1	6.7	69	7	2	2	1	2.9
Globüler	29	6	2	2	2	6.9	59	9	4	4	3	6.8
Ok ucu	35	22	9	9	5	25.7	84	34	12	12	8	14.3
Çubuk	2	1	1	1	1	50.0	6	3	2	2	2	33.3
Torpedo	17	14	6	6	4	35.3	35	25	13	13	7	37.1
Yürek	2	0	0	0	0	0.0	11	8	5	5	3	45.5
Kotiledon	101	41	28	28	19	27.7	146	73	55	55	38	37.7
Şekilsiz	2	0	0	0	0	0.0	38	11	5	5	4	13.2
TOPLAM	218	89	48	48	31	22.0	448	170	98	98	66	21.9

Urfa Yerli genotipinde elde edilen 63 adet embriyodan 28 adedi köklenmiş ve 20 adedi (% 31.7) normal bir bitkiye dönüşebilmiş, bu bitkilerden ise 14 adedi canlı tutulabilmektedir. Elde edilen embriyo ve bitki sayıları tüm aylarda birbirine yakın olmuştur (Çizelge 4.23 d).

Nokta safhasındaki 12 embriyoda köklenme olmamış, globüler safhadaki 12 embriyodan 1, ok ucu safhasındaki 2 embriyodan 1, çubuk safhasındaki 4 embriyodan 1, yürek safhasındaki 5 embriyodan 2, kotiledon safhasındaki 24 embriyodan 13, şekilsiz 4 embriyodan ise 2 adet bitki elde edilmiştir. Embriyoların bitkiye dönüşüm oranları ise kotiledon safhasında % 54.2, ok ucu safhasında ve şekilsizlerde % 50.0, yürek safhasında % 40.0, çubuk safhasında % 25.0, globüler safhada ise % 8.3 olmuştur.

Çizelge 4.23 d. 1998 yılında Urfa Yerli genotipinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşme oranları

	HAZİRAN						TEMMUZ					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	3	0	0	0	0	0.0	5	0	0	0	0	0.0
Globüler	6	1	1	1	0	16.7	4	0	0	0	0	0.0
Ok ucu	0	0	0	0	0	0.0	0	0	0	0	0	0.0
Çubuk	3	1	1	1	1	33.3	1	1	0	0	0	0.0
Torpedo	0	0	0	0	0	0.0	0	0	0	0	0	0.0
Yürek	3	3	1	1	1	33.3	2	2	1	1	1	50.0
Kotiledon	7	5	5	5	4	71.4	3	3	3	3	2	100.0
Şekilsiz	1	0	0	0	0	0.0	3	2	2	2	1	66.7
TOPLAM	23	10	8	8	6	34.8	18	8	6	6	4	33.3

	EYLÜL						GENEL TOPLAM					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	4	0	0	0	0	0.0	12	0	0	0	0	0.0
Globüler	2	1	0	0	0	0.0	12	2	1	1	0	8.3
Ok ucu	2	2	1	1	1	50.0	2	2	1	1	1	50.0
Çubuk	0	0	0	0	0	0.0	4	2	1	1	1	25.0
Torpedo	0	0	0	0	0	0.0	0	0	0	0	0	0.0
Yürek	0	0	0	0	0	0.0	5	5	2	2	2	40.0
Kotiledon	14	7	5	5	3	35.7	24	15	13	13	9	54.2
Şekilsiz	0	0	0	0	0	0.0	4	2	2	2	1	50.0
TOPLAM	22	10	6	6	4	27.3	63	28	20	20	14	31.7

1998 yılı genel değerlendirmesine göre, elde edilen 1279 embriyodan 443 adedi köklenmiş, köklenen embriyolardan 255 adedi (% 19.9) normal bir bitkiye dönüşmüş, bu bitkilerden ise 165 adedi canlı tutulabilmiştir. Nokta safhasındaki 195 adet embriyodan 5, globüler safhadaki 199 adet embriyodan 14, ok ucu safhasındaki 184 adet embriyodan 22, çubuk safhasındaki 54 adet embriyodan 12, torpedo safhasındaki 99 adet embriyodan 31, yürek safhasındaki 36 adet embriyodan 16, kotiledon safhasındaki 426 adet embriyodan 146, şekilsiz 86 embriyodan ise 9 adet bitki elde edilmiştir. Embriyoların bitkiye dönüşüm oranları ise nokta safhasında % 2.6, globüler safhada % 7.0, ok ucu safhasında % 12.0, çubuk safhasında % 22.2, torpedo safhasında % 31.3, yürek safhasında % 44.4, kotiledon safhasında % 34.3, şekilsizlerde ise % 10.5 olmuştur (**Çizelge 4.24**).

Çizelge 4.24. 1998 yılı içerisinde elde edilen değişik safhalardaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları

	GENEL TOPLAM					
	TE	KE	BDE	ŞBS	TB	BDO
Nokta	195	18	5	5	3	2.6
Globüler	199	41	14	14	6	7.0
Ok ucu	184	62	22	22	13	12.0
Çubuk	54	19	12	12	7	22.2
Torpedo	99	57	31	31	19	31.3
Yürek	36	25	16	16	11	44.4
Kotiledon	426	199	146	146	101	34.3
Şekilsiz	86	22	9	9	5	10.5
TOPLAM	1279	443	255	255	165	19.9

TE : Toplam Embriyo Sayısı

KE : Köklenen Embriyo Sayısı

BDE : Bitkiye Dönüşen Embriyo Sayısı

ŞBS : Şaşırtılan Bitki Sayısı

TB : Tutan Bitki Sayısı

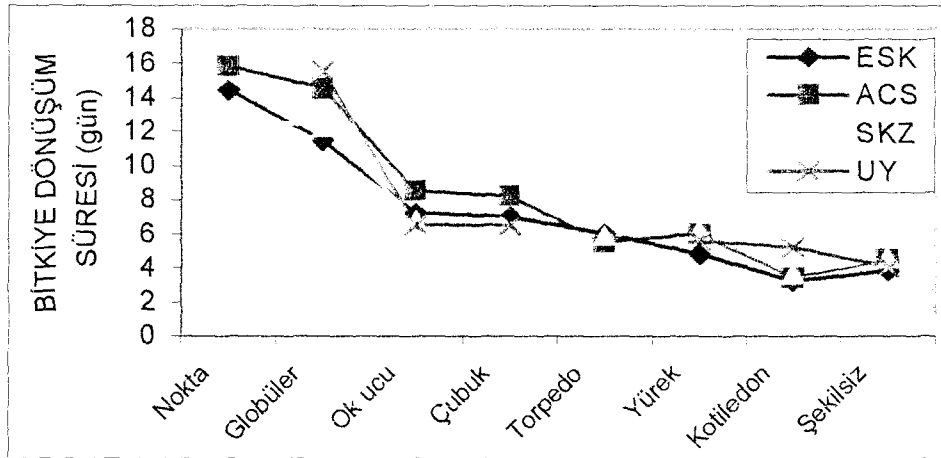
BDO : Bitkiye Dönüşüm Oranı (%)

4.1.8. Değişik Safhalardaki Embriyolardan Elde Edilen Bitkilerin Gelişme Durumlarına İlişkin Bulgular

Elde edilen bitkilerin gelişme durumlarına ilişkin bulgulara ait sonuçlarda, uygulama sayılarının eşit olmamasından dolayı istatistiki analiz yapılamamış, ortalamaların verilmesiyle yetinilmiştir.

Dört genotipe ait nokta, globüler, ok ucu, çubuk, torpedo, yürek, kotiledon ve şekilsiz yapıdaki embriyoların besi ortamına alınmaları ile iyi bir kök sistemi geliştirip kotiledon yaprakları oluşturmalarına kadar geçen sürelerin farklı olduğu belirlenmiştir. **Şekil 4.25'**te de görüldüğü gibi embriyoların bitkiye dönüşüm süreleri embriyo gelişim safhası ilerledikçe kısalmıştır. Kotiledon safhasındaki ve şekilsiz yapıdaki embriyolar sırasıyla ortalama 3.9 ve 4.2 gün ile en kısa sürede bitkiye dönüşmüştür. Bu değer yürek safhasındaki embriyolarda 5.7, torpedo safhasındaki embriyolarda 5.8, çubuk safhasındaki embriyolarda 6.9, ok ucu safhasındaki embriyolarda 7.3, globüler safhadaki embriyolarda 13.4 ve nokta safhasındaki embriyolarda ise 14.3 gün olarak saptanmıştır.

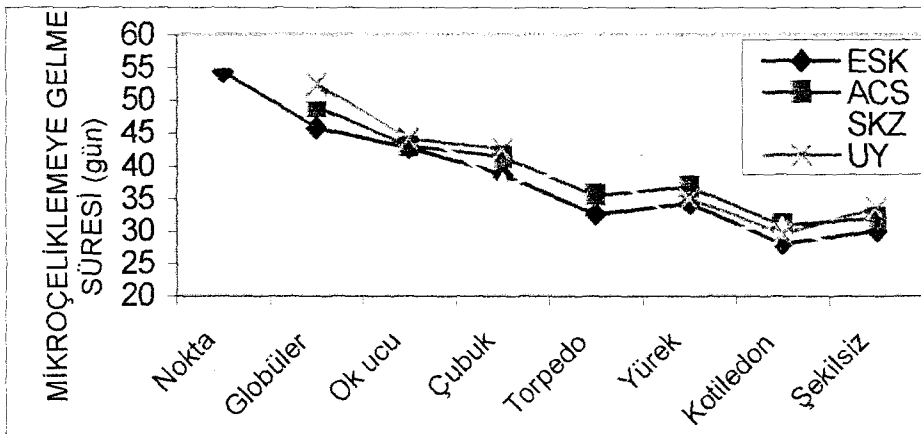
Bütün genotipler birbirine oldukça yakın değerler vermiş (ortalama 7.2 ile 7.3 gün arasında), ancak Acceste F₁ genotipinin embriyoları yaklaşık olarak 1 gün kadar (8.3 gün) daha geç bitkiye dönüşmüştür.



Şekil 4.25. Değişik safhalardaki embriyoların bitkiye dönüşümleri için geçen ortalama süre (gün)

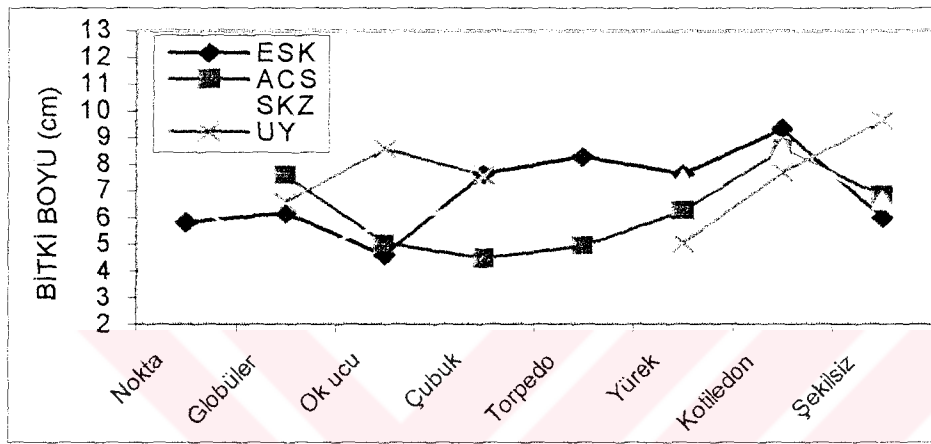
Şekil 4.26'da görüldüğü gibi, değişik safhalardaki embriyoların ilk mikroçeliklemeye gelme süreleri embriyo safhalarına göre değişiklik göstermiş, ileri gelişme safhalarında bulunan embriyolar daha kısa sürede çelikleme aşamasına gelmiştir. Kotiledon safhasındaki ve şekilsiz yapıdaki embriyolar sırasıyla 29.7 ve 30.4 gün'de çeliklemeye gelirken, bu değer yürek safhasındaki embriyolarda 34.2, torpedo safhasındaki embriyolarda 35.9, çubuk safhasındaki embriyolarda 39.9, ok ucu safhasındaki embriyolarda 44.0, globüler safhadaki embriyolarda 49.7 ve nokta safhasındaki embriyolarda ise 55.4 gün olarak saptanmıştır.

İlk mikroçeliklemeye gelme süresi üzerine genotiplerin etkisi olmamış, bütün genotipler birbirine oldukça yakın değerler (38.3 ile 39.8 gün arasında) vermiştir.



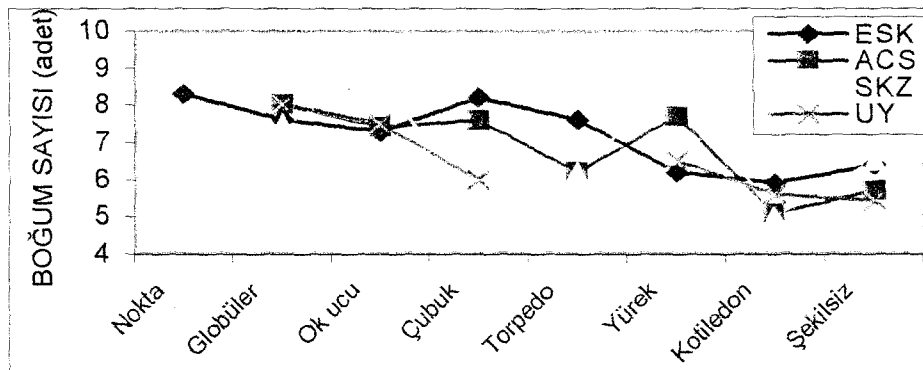
Şekil 4.26. Değişik safhalardaki embriyolardan gelişen bitkilerin ilk mikroçeliklemeye gelmeleri için geçen ortalama süre (gün)

Değişik safhalardaki embriyolardan gelişen bitkilerin ilk mikroçelikleme aşamasındaki ortalama boylarına ilişkin ölçümler **Şekil 4.27**'de verilmiştir. Şekilde de görüleceği üzere, kotiledon safhasındaki ve şekilsiz yapıdaki embriyolar en uzun boylu bitkileri vermiş (sırasıyla 8.5 ve 7.3 cm), diğer safhalardaki embriyolardan gelişen bitkilerin boyları ise 6.0 ile 6.6 cm arasında olmuştur. Urfa Yerli genotipi diğer genotiplere nazaran daha uzun bitkiler (7.5 cm) vermiştir.



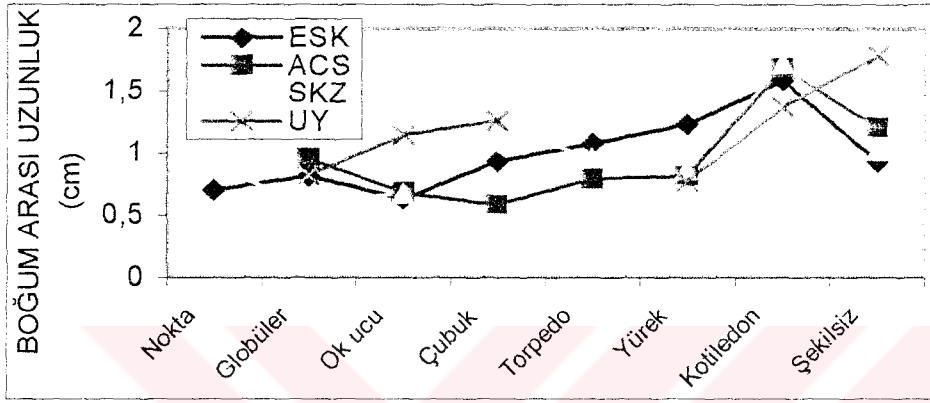
Şekil 4.27. Değişik safhalardaki embriyolardan gelişen bitkilerin ilk mikroçeliklemeye geldikleri aşamadaki ortalama boyları (cm)

Bitkilerin ilk mikroçeliklemeye geldikleri aşamadaki ortalama boğum sayıları embriyo safhalarına göre değişiklik göstermiştir (**Şekil 4.28**). İleri gelişim safhasındaki embriyolar daha kısa boğum arasına sahip bitkiler vermiş, bu değer kotiledon safhasında 5.4 adet, nokta safhasında ise 7.9 adet olarak saptanmıştır. Diğer safhalar bu değerler arasında yer almıştır.



Şekil 4.28. Değişik safhalardaki embriyolardan gelişen bitkilerin ilk mikroçeliklemeye geldikleri aşamadaki ortalama boğum sayıları (adet)

İlk mikroçelikleme aşamasına gelmiş bitkilerin ortalama boy uzunluklarının ortalama boğum sayısına bölünmesiyle elde edilen ortalama boğum arası uzunluk değerlerine ilişkin sonuçlar **Şekil 4.29**'da gösterilmiştir. Buna göre ortalama boğum arası uzunlukların embriyo gelişim safhası ilerledikçe artış gösterdiği tespit edilmiş, kotiledon safhasında 1.59 cm olarak bulunan bu değer, nokta safhasındaki 0.79 cm olarak saptanmıştır.



Şekil 4.29. Değişik safhalardaki embriyolardan gelişen bitkilerin ilk mikroçeliklemeye geldikleri aşamadaki ortalama boğum arası uzunlukları (cm)

4.1.9. Haploid Üretim Etkinliği

Kök ucu kromozom sayımları sonucunda elde edilen tüm bitkilerin haploid yapıda olmadıkları, embriyoların gelişme safhalarına göre değişiklikler gösterdikleri tespit edilmiştir. Embriyo safhası olarak şekilsiz yapıdaki embriyoların ve kotiledon safhasındakilerin tamamı, yürek safhasındakilerin büyük bir kısmı (% 76.9), torpedo safhasındakilerin ise yaklaşık ½'si (% 46.2) diploid ($2n=2x=40$) yapıda bitki oluştururken, diğer safhalardaki embriyolardan (globüler, çubuk, ok ucu ve torpedo) elde edilen bitkilerin tamamı ise haploid ($n=20$) yapıda bulunmuştur. **Çizelge 4.25**'de kök ucu kromozom sayımları sonucunda değişik safhalardaki embriyolardan elde edilen haploid ve diploid bitkilerin sayıları ve oranları verilmiştir.

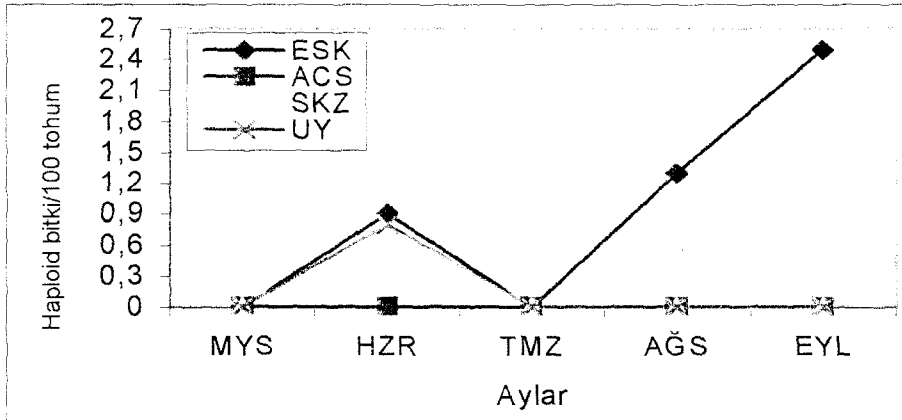
Çizelge 4.25. Kök ucu kromozom sayımları sonucunda değişik safhalardaki embriyolardan elde edilen haploid ve diploid bitki sayıları ve oranları

Embriyo Safhaları	İncelenen Bitki Sayısı (adet)	Haploid Bitkilerin		Diploid Bitkilerin	
		Sayısı (adet)	Oranı (%)	Sayısı (adet)	Oranı (%)
Nokta	3	3	100.0	0	0.0
Globüler	11	11	100.0	0	0.0
Ok ucu	16	16	100.0	0	0.0
Çubuk	8	8	100.0	0	0.0
Torpedo	26	14	53.8	12	46.2
Yürek	13	3	23.1	10	76.9
Kotiledon	43	0	0.0	43	100.0
Şekilsiz	6	0	0.0	6	100.0

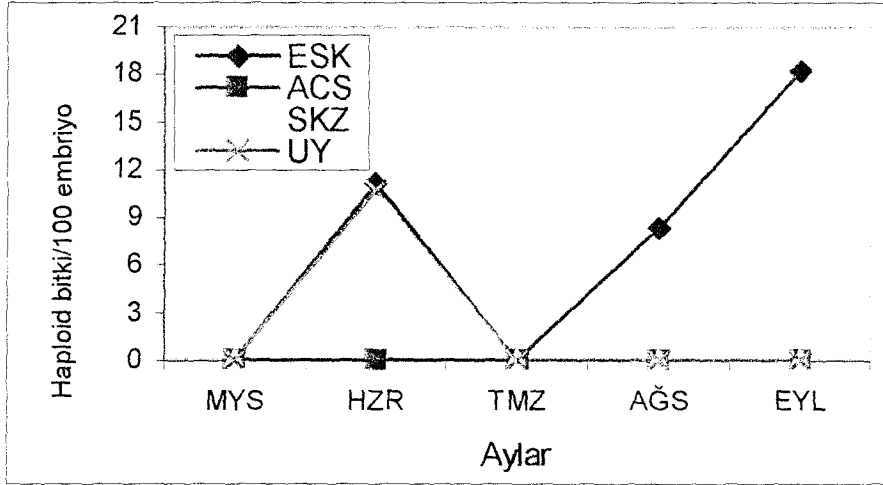
4.1.9.1. 1997 Yılı Bulguları

1997 yılında haploid üretim etkinliğini belirlemek amacıyla 100 tohumdaki ve 100 embriyodaki bitki sayıları çeşitlere, aylara ve ışın dozlarına göre **Çizelge 4.26'**da, meyve başına haploid bitki sayısı ise çeşitlere ve aylara göre **Çizelge 4.27'**de verilmiştir.

Şekil 4.30 ve **Şekil 4.31'**de de görüldüğü gibi, 100 tohumdaki ve 100 embriyodaki haploid bitki sayıları üzerine haziran, ağustos ve eylül ayları etkili olmuştur. Mayıs ve temmuz aylarında ise haploid bitki elde edilememiştir.



Şekil 4.30. 1997 yılında 100 tohumdaki embriyolardan elde edilen haploid bitki sayıları



Şekil 4.31. 1997 yılında 100 embriyodan elde edilen haploid bitki sayıları

Çizelge 4.26'da görüldüğü gibi, Eskenderany F_1 genotipinde yıl boyunca toplam 14 adet haploid bitki elde edilmiştir. Bu bitkilerden 9 adedi haziran, 3 adedi ağustos, 2 adedi ise eylül aylarından gelmiştir. 50 Gy ışın dozu ve eylül ayında yapılan tozlamalardan gelen tohumlarda 100 tohumdaki bitki sayısı 2.5 ile en yüksek değeri almıştır. Bunu 2.1 ile 25 Gy ışın dozu ve haziran ayı, 1.9 ile 25 Gy ışın dozu ve ağustos ayı takip etmiştir. 100 tohumdaki en düşük haploid bitki sayısını 0.6'lık değer ile 50 Gy ışın dozu ve haziran ayı tozlamaları vermiştir. 100 embriyodaki haploid bitki sayısı açısından ise 50 Gy ışın dozu ve eylül ayında yapılan tozlamalar 18.2 ile en yüksek değeri vermiştir.

Acceste F_1 genotipinde yıl boyunca yapılan tozlamalar neticesinde çok az embriyo elde edilmiş ve bunlardan hiçbirisi haploid bitki vermemiştir.

Sakız genotipinde yalnızca haziran ayında yapılan tozlamalardan embriyo taşıyan tohumlar elde edilmiş ve bu tohumlardan çıkarılan embriyolar ise 1 adet haploid bitki vermiştir. 100 tohumdaki haploid bitki sayısı 25 Gy ışın dozunda 1.1 olarak gerçekleşmiştir. 100 embriyodaki haploid bitki sayısı ise 7.1 olmuştur.

Urfa Yerli genotipinde haziran ayında 6 adedi 25 Gy ışın dozunda ve 2 adedi 50 Gy ışın dozunda olmak üzere toplam 8 adet haploid bitki elde edilmiştir. 100 tohumdaki bitki sayısı 25 Gy ışın dozunda 1.3, 50 Gy ışın dozunda ise 0.4 olmuş, 100 embriyodaki bitki sayıları ise sırasıyla 9.5 ve 16.7 olarak gerçekleşmiştir.

Aylar dikkate alınmaksızın genotipler arasında bir değerlendirme yapıldığında **Çizelge 4.26**'da görüldüğü gibi, 100 tohumdaki haploid bitki sayıları Eskenderany F₁ genotipinde 1.1, Urfa Yerli genotipinde 0.8 ve Sakız genotipinde ise 0.3 olarak gerçekleşmiştir. 100 embriyodaki haploid bitki sayıları ise sırasıyla 10.9, 9.3 ve 4.6 bulunmuştur.

Çizelge 4.26. 1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu elde edilen toplam haploid bitki sayısı ile bu bitkilerin 100 tohum ve 100 embriyodaki sayısı

AYLAR	DOZ (Gy)	G E N O T İ P L E R											
		ESK			ACS			SKZ			UY		
		BS	YTBS	YEBS	BS	YTBS	YEBS	BS	YTBS	YEBS	BS	YTBS	YEBS
MYS	25	0	0.0	0.0	0	0	0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
	50	0	0.0	0.0	0	0	0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
Toplam/Ort.		0	0.0	0.0	0	0	0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
HZR	25	5	2.1	10.4	0	0	0	1	1.1	7.1	6	1.3	9.5
	50	4	0.6	10.7	0	0	0	0	0.0	0.0	2	0.4	16.7
Toplam/Ort.		9	0.9	11.1	0	0	0	1	1.1	7.1	8	0.8	10.7
TMZ	25	0	0.0	0.0	0	0	0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
	50	0	0.0	0.0	0	0	0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
Toplam/Ort.		0	0.0	0.0	0	0	0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
AGS	25	2	1.9	10.0	0	0	0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
	50	1	0.8	6.3	0	0	0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
Toplam/Ort.		3	1.3	8.3	0	0	0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
EYL	25	0	0.0	0.0	0	0	0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
	50	2	2.5	18.2	0	0	0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
Toplam/Ort.		2	2.5	18.2	0	0	0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
Gen.Top./Ort.		14	1.1	10.9	0	0	0	1	0.3	4.6	8	0.8	9.3

BS : Bitki Sayısı (adet)

YTBS : 100 Tohumdaki Bitki Sayısı (adet/100 tohum)

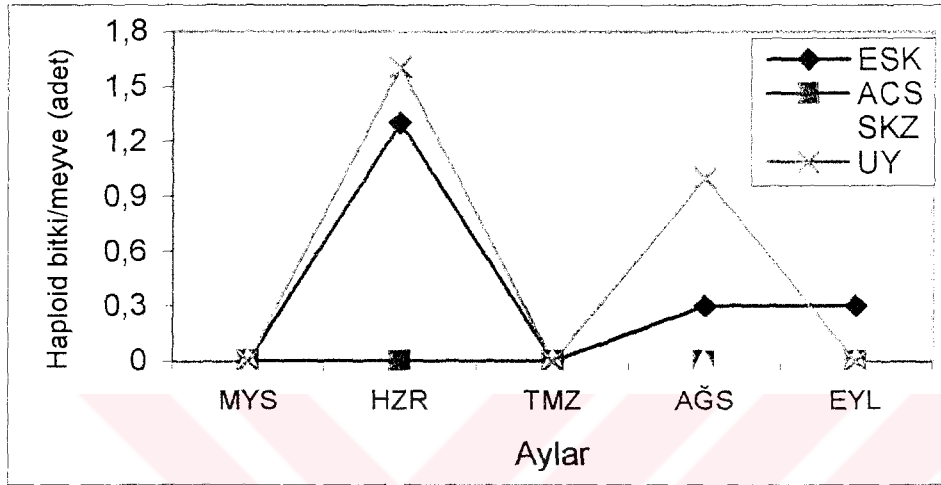
YEBS : 100 Embriyodaki Bitki Sayısı (adet/100 embriyo)

Haploid üretim etkinliğini belirlemek amacıyla incelenen üçüncü özellik de meyve başına haploid bitki sayısıdır. **Şekil 4.32**'de görüldüğü gibi, tüm genotiplerde en iyi sonuçlar haziran ayında alınmıştır. Bu ayda 1.6 ile Urfa Yerli genotipi en yüksek değeri vermiş, Eskenderany F₁ genotipi 1.3 ile ikinci sırada yer almış, Sakız genotipi ise meyve başına 0.3 adet haploid bitki vermiştir.

Aylar dikkate alınmaksızın genotipler arasında bir değerlendirme yapıldığında **Çizelge 4.27**'de görüldüğü gibi, meyve başına bitki sayıları Urfa Yerli

genotipinde 0.8, Eskenderany F₁ genotipinde 0.5 ve Sakız genotipinde ise 0.2 olarak gerçekleşmiştir.

Aylar kendi aralarında değerlendirildiğinde, haziran ayı 1.0 adet ile meyve başına en fazla bitkinin elde edildiği ay olmuş, bunu 0.2 adet ile ağustos ve 0.1 adet ile eylül ayları izlemiştir.



Şekil 4.32. 1997 yılında meyve başına elde edilen haploid bitki sayıları

Çizelge 4.27. 1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen meyve başına haploid bitki sayıları (adet)

AYLAR	G E N O T İ P L E R												Top./Ort.		
	ESK			ACS			SKZ			UY					
	BS	MS	MHB	BS	MS	MHB	BS	MS	MHB	BS	MS	MHB	BS	MS	MHB
MYS	0	1	0.0	0	2	0.0	0	0	0.0	0	1	0.0	0	4	0.0
HZR	9	7	1.3	0	2	0.0	1	4	0.3	8	5	1.6	18	18	1.0
TMZ	0	0	0.0	0	1	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0	0	1	0.0
AĞS	3	11	0.3	0	1	0.0	0	0	0.0	0	2	1.0	3	14	0.2
EYL	2	10	0.3	0	6	0.0	0	1	0.0	0	2	0.0	2	19	0.1
Top/Ort.	14	29	0.5	0	12	0.0	1	5	0.2	8	10	0.8			

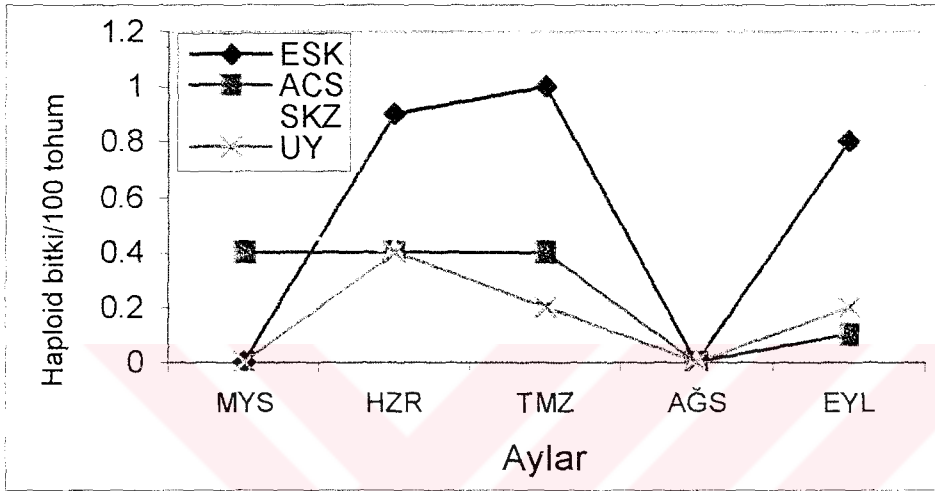
BS : Bitki Sayısı; MS : Meyve Sayısı; MHB : Meyve Başına Haploid Bitki Sayısı

4.1.9.2. 1998 Yılı Bulguları

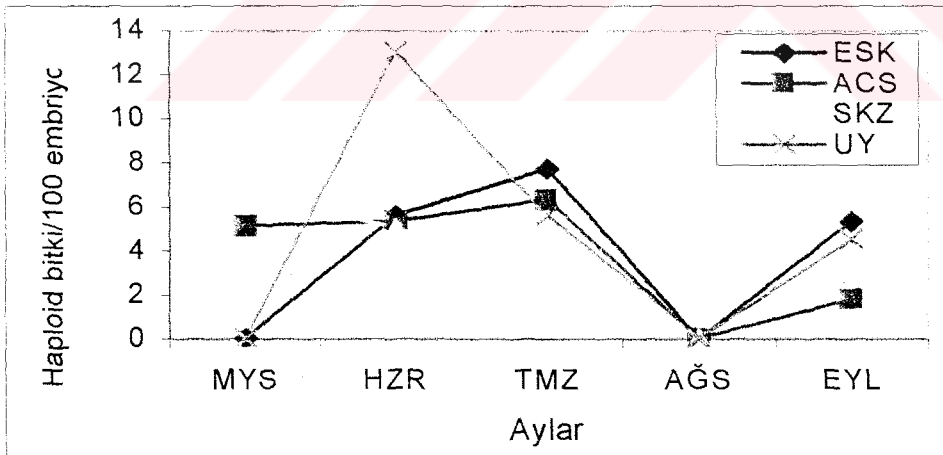
1998 yılında haploid üretim etkinliğini belirlemek amacıyla 100 tohumdaki ve 100 embriyodaki bitki sayıları çeşitlere, aylara ve ışın dozlarına göre Çizelge

4.28'de, meyve başına haploid bitki sayısı ise çeşitlere ve aylara göre Çizelge 4.29'da verilmiştir.

Şekil 4.33 ve Şekil 4.34'de de görüldüğü gibi, 100 tohumdaki ve 100 embriyodaki haploid bitki sayıları üzerine haziran, temmuz ve eylül ayları etkili olmuştur. Ağustos ayında haploid bitki elde edilemezken, mayıs ayında ise sadece Acceste F₁ ve Sakız genotiplerinden birkaç adet bitki elde edilebilmiştir.



Şekil 4.33. 1998 yılında 100 tohumdaki embriyolardan elde edilen haploid bitki sayıları



Şekil 4.34. 1998 yılında 100 embriyodan elde edilen haploid bitki sayıları

Çizelge 4.28'de görüldüğü gibi, Eskenderany F₁ genotipinde yıl boyunca toplam 29 adet haploid bitki elde edilmiştir. Bu bitkilerden 12 adedi haziran, 12 adedi eylül ve 5 adedi ise temmuz aylarından gelmiştir. 25 Gy ışın dozu ve temmuz

ayında yapılan tozlamalardan gelen tohumlarda 100 tohumdaki bitki sayısı 1.3 ile en yüksek değeri almıştır. 100 embriyodaki haploid bitki sayısı açısından ise 50 Gy ışın dozu ve haziran ayında yapılan tozlamalar 11.1 ile en yüksek değeri vermiştir. Bunu 7.7 ile 25 Gy ışın dozu ve temmuz ayı takip etmiştir.

Acceste F₁ genotipinde yıl boyunca toplam 10 adet haploid bitki elde edilmiştir. Bu bitkilerden 1 adedi temmuz, 3'er adedi ise mayıs, haziran ve eylül aylarından gelmiştir. 25 Gy ışın dozu ve temmuz ayında yapılan tozlamalardan gelen tohumlarda 100 tohumdaki bitki sayısı 0.6 adet ile en yüksek değeri almıştır. Bunu 0.5 adet ile 25 Gy ışın dozu ve mayıs ile haziran ayları takip etmiştir. 100 embriyodaki haploid bitki sayısı açısından ise 50 Gy ışın dozu ve mayıs ayında yapılan tozlamalar 8.3 ile en yüksek değeri vermiştir. Bunu 6.3'lük değer ile 25 Gy ışın dozu ve temmuz ayı izlemiştir.

Sakız genotipinde yıl boyunca elde edilen 26 adet haploid bitkinin 16 adedi eylül, 5 adedi haziran, 4 adedi mayıs ve 1 adedi ise temmuz aylarından gelmiştir. 25 Gy ışın dozu ve eylül ayında yapılan tozlamalardan gelen tohumlarda 100 tohumdaki bitki sayısı 1.1 adet ile en yüksek değeri almıştır. Bunu 0.6 adet ile 25 Gy ışın dozu ve mayıs ayı takip etmiştir. 100 embriyodaki haploid bitki sayısı açısından ise 25 Gy ışın dozu ve eylül ayında yapılan tozlamalar 7.4 adet ile en yüksek değeri vermiştir. Bunu 6.7 adetlik değer ile 25 Gy ışın dozu ve mayıs ayı izlemiştir.

Urfa Yerli genotipinde elde edilen toplam 5 adet haploid bitkinin 3 adedi haziran, 1'er adedi ise temmuz ve eylül aylarından gelmiştir. 100 tohumdaki bitki sayısı 25 Gy ışın dozu ve temmuz ayı tozlamalarında 0.7 adet ile en yüksek olmuştur. 100 embriyodaki haploid bitki sayısı 50 Gy ışın dozu ve haziran ayında 15.4 ile en yüksek bulunmuştur.

Aylar dikkate alınmaksızın genotipler arasında bir değerlendirme yapıldığında **Çizelge 4.28**'de görüldüğü gibi, 100 tohumdaki haploid bitki sayıları Eskenderany F₁ genotipinde 0.8, Sakız genotipinde 0.7, Urfa Yerli genotipinde 0.3 ve Acceste F₁ genotipinde ise 0.2 adet olarak gerçekleşmiştir. 100 embriyodaki haploid bitki sayıları ise Urfa Yerli genotipinde 7.9, Eskenderany F₁ genotipinde 6.2, Sakız genotipinde 5.8 ve Acceste F₁ genotipinde ise 3.4 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.28. 1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte değişik dozlarda ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu elde edilen toplam haploid bitki sayısı ile bu bitkilerin 100 tohum ve 100 embriyodaki sayısı

AYLAR	DOZ (Gy)	G E N O T İ P L E R											
		ESK			ACS			SKZ			UY		
		BS	YTBS	YEBS	BS	YTBS	YEBS	BS	YTBS	YEBS	BS	YTBS	YEBS
MYS	25	0	0.0	0.0	2	0.5	4.3	4	0.6	6.7	0	0.0	0.0
	50	0	0.0	0.0	1	0.3	8.3	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
Toplam/Ort.		0	0.0	0.0	3	0.4	5.1	4	0.5	6.7	0	0.0	0.0
HZR	25	11	0.9	6.9	3	0.5	5.3	2	0.4	4.2	1	0.3	10.0
	50	1	0.8	11.1	0	0.0	0.0	3	0.5	5.8	2	0.5	15.4
Toplam/Ort.		12	0.9	5.6	3	0.4	5.3	5	0.4	5.0	3	0.4	13.0
TMZ	25	5	1.3	7.7	1	0.6	6.3	1	0.3	1.7	1	0.7	5.6
	50	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
Toplam/Ort.		5	1.0	7.7	1	0.4	6.3	1	0.2	1.7	1	0.2	5.6
AĞS	25	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
	50	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
Toplam/Ort.		0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
EYL	25	12	0.9	5.7	3	0.2	1.8	16	1.1	7.4	1	0.2	4.5
	50	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
Toplam/Ort.		12	0.8	5.3	3	0.1	1.8	16	1.1	7.4	1	0.2	4.5
Gen.Top./Ort.		29	0.8	6.2	10	0.2	3.4	26	0.7	5.8	5	0.3	7.9

BS : Bitki Sayısı (adet)

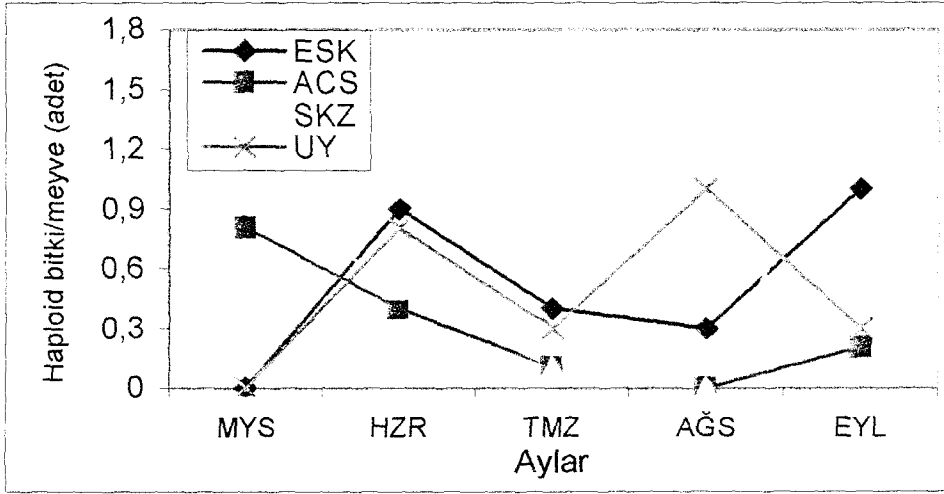
YTBS : 100 Tohumdaki Bitki Sayısı (adet/100 tohum)

EBS : 100 Embriyodaki Bitki Sayısı (adet/100 embriyo)

Meyve başına haploid bitki sayısı açısından mayıs, haziran, temmuz ve eylül ayları etkili olmuş, ağustos ayında bitki elde edilememiştir. Genelde en yüksek değerler eylül ayında alınmış, bu ayda ortalama 1.5 bitki ile Sakız genotipi en yüksek değeri vermiş, Eskenderany F₁ genotipi ise 1.0 bitki ile ikinci sırada yer almıştır (Şekil 4.35).

Aylar dikkate alınmaksızın genotipler arasında bir değerlendirme yapıldığında Çizelge 4.29'da görüldüğü gibi, meyve başına bitki sayıları Eskenderany F₁ ve Sakız genotiplerinde 0.7, Urfa Yerli genotipinde 0.5 ve Aceste F₁ genotipinde ise 0.3 olarak gerçekleşmiştir.

Aylar kendi aralarında değerlendirildiğinde, eylül ayı ortalama 0.8 adet ile meyve başına en fazla bitkinin elde edildiği ay olmuş, bunu 0.7 bitki ile mayıs ve haziran ayları izlemiş, temmuz ayında ise bu değer 0.3 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.35. 1998 yılında meyve başına elde edilen haploid bitki sayıları (adet)

Çizelge 4.29. 1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte elde edilen meyve başına haploid bitki sayısı (adet)

AYLAR	GENOTİPLER												Top./Ort.		
	ESK			ACS			SKZ			UY					
	BS	MS	MHB	BS	MS	MHB	BS	MS	MHB	BS	MS	MHB	BS	MS	MHB
MYS	0	2	0.0	3	4	0.8	4	4	1.0	0	0	0.0	7	10	0.7
HZR	12	13	0.9	3	7	0.4	5	10	0.5	3	4	0.8	23	34	0.7
TMZ	5	13	0.4	1	7	0.1	1	7	0.1	1	3	0.3	8	30	0.3
AĞS	0	0	0.0	0	2	0.0	0	4	0.0	0	0	0.0	0	6	0.0
EYL	12	12	1.0	3	14	0.2	16	11	1.5	1	3	0.3	32	42	0.8
Top/Ort.	29	40	0.7	10	34	0.3	26	36	0.7	5	10	0.5			

BS : Bitki Sayısı

MS : Meyve Sayısı

MHB : Meyve Başına Haploid Bitki Sayısı

4.2. Işınlamaya Alternatif Uygulamalara İlişkin Bulgular

4.2.1. Farklı Türlerin Polenlerinden Yararlanma

4.2.1.1. Farklı Türlerin Polenleriyle Tozlamaların Meyve Tutumu Üzerine Etkileri

4.2.1.1.(1). 1997 Yılı Bulguları

Dört kabak genotipinde aynı familyaya ait dokuz farklı türün polenleri kullanılarak yapılan türler arası tozlamalara ilişkin sonuçlar **Çizelge 4.30**'da sunulmuştur.

Çizelge'de de görüldüğü gibi araştırmada ana olarak kullanılan genotipler tozlayıcı olarak kullanılan farklı türlerin polenlerine karşı farklı tepkilerde bulunmuşlardır. Eskenderany F₁ genotipi yıl boyunca sadece *C. melo*, *C. sativus* ve *C. moschata* türleriyle yapılan uyartımlara cevap vermiş ve her birinden birer meyve olmak üzere toplam 3 adet meyve elde edilmiştir. Acceste F₁ genotipi ise *C. lanatus*, *C. melo*, *C. sativus*, *C. moschata* ve *C. maxima* türleriyle yapılan tozlamalara ait 26 adet meyve vermiştir. Sakız genotipi diğer iki genotipten farklı olarak sadece *C. moschata* ile yapılan tozlamalara iyi yanıt vermiş ve toplam 12 adet meyve hasat edilmiştir. Urfa Yerli genotipinde ise türlerarası tozlamalarla uyartım sağlamak mümkün olmamıştır.

Tozlayıcı türlerden *C. lanatus* ile uyartımla 1 adet, *C. melo* ile 8, *C. sativus* ile 2, *C. maxima* ile 8, *C. moschata* ile 24 meyve elde edilirken, *L. acutangula*, *L. vulgaris*, ve *C. ficifolius* ile yapılan uyartımlardan meyve elde edilememiştir.

Çizelge 4.30. 1997 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte farklı türlere ait polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları

		AYLAR								
		MAYIS			HAZİRAN			TEMMUZ		
Polen Kaynağı		TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
E S K	<i>C. lanatus</i>	2	0	0.0	7	0	0.0	-	-	-
	<i>C. melo</i>	8	1	12.5	11	0	0.0	1	0	0.0
	<i>C. sativus</i>	3	1	33.3	5	0	0.0	1	0	0.0
	<i>C. maxima</i>	3	0	0.0	13	0	0.0	3	0	0.0
	<i>C. moschata</i>	2	0	0.0	19	1	11.1	-	-	-
	<i>L. acutangula</i>	-	-	-	8	0	0.0	-	-	-
	<i>L. vulgaris</i>	-	-	-	4	0	0.0	-	-	-
	<i>C. ficifolius</i>	-	-	-	5	0	0.0	-	-	-
	Top./Ort.	18	2	11.1	72	1	1.4	5	0	0.0
A C S	<i>C. lanatus</i>	2	1	50.0	8	0	0.0	-	-	-
	<i>C. melo</i>	7	6	85.7	13	0	0.0	-	-	-
	<i>C. sativus</i>	6	1	16.7	1	0	0.0	4	0	0.0
	<i>C. maxima</i>	6	4	66.7	13	4	30.8	-	-	-
	<i>C. moschata</i>	5	5	100.0	10	3	30.0	1	1	100.0
	<i>L. acutangula</i>	-	-	-	4	0	0.0	-	-	-
	<i>L. vulgaris</i>	-	-	-	1	0	0.0	-	-	-
	<i>C. ficifolius</i>	-	-	-	3	0	0.0	-	-	-
	Top./Ort.	26	17	65.4	53	7	13.2	5	1	20.0
S K Z	<i>C. lanatus</i>	2	0	0.0	12	0	0.0	-	-	-
	<i>C. melo</i>	12	0	0.0	13	0	0.0	2	0	0.0
	<i>C. sativus</i>	1	0	0.0	2	0	0.0	1	0	0.0
	<i>C. maxima</i>	7	0	0.0	8	0	0.0	2	0	0.0
	<i>C. moschata</i>	7	5	71.4	14	6	42.9	2	0	0.0
	<i>L. acutangula</i>	-	-	-	7	0	0.0	-	-	-
	<i>L. vulgaris</i>	-	-	-	5	0	0.0	2	0	0.0
	<i>C. ficifolius</i>	-	-	-	8	0	0.0	-	-	-
	Top./Ort.	29	5	17.2	69	6	8.7	9	0	0.0
U Y	<i>C. lanatus</i>	1	0	0.0	8	0	0.0	-	-	-
	<i>C. melo</i>	7	0	0.0	16	0	0.0	1	0	0.0
	<i>C. sativus</i>	2	0	0.0	5	0	0.0	2	0	0.0
	<i>C. maxima</i>	6	0	0.0	3	0	0.0	1	0	0.0
	<i>C. moschata</i>	3	0	0.0	11	0	0.0	1	0	0.0
	<i>L. Oacutangula</i>	-	-	-	4	0	0.0	1	0	0.0
	<i>L. vulgaris</i>	-	-	-	2	0	0.0	2	0	0.0
	<i>C. ficifolius</i>	-	-	-	2	0	0.0	-	-	-
	Top./Ort.	19	0	0.0	51	0	0.0	8	0	0.0
Gen. Top./Ort.		92	24	26.1	245	14	5.7	27	1	3.7

Çizelge 4.30'un devamı

		AYLAR								
		AĞUSTOS			EYLÜL			TOP./ORT.		
Polen Kaynağı		TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
E S K	<i>C. lanatus</i>	6	0	0.0	-	-	-	15	0	0.0
	<i>C. melo</i>	3	0	0.0	-	-	-	23	1	4.3
	<i>C. sativus</i>	1	0	0.0	1	0	0.0	11	1	9.1
	<i>C. maxima</i>	2	0	0.0	-	-	-	21	0	0.0
	<i>C. moschata</i>	-	-	-	-	-	-	21	1	4.8
	<i>L. acutangula</i>	6	0	0.0	2	0	0.0	16	0	0.0
	<i>L. vulgaris</i>	-	-	-	-	-	-	4	0	0.0
	<i>C. ficifolius</i>	1	0	0.0	-	-	-	6	0	0.0
	Top./Ort.	19	0	0.0	3	0	0.0	117	3	2.6
A C S	<i>C. lanatus</i>	-	-	-	-	-	-	10	1	10.0
	<i>C. melo</i>	-	-	-	2	1	50.0	22	7	31.8
	<i>C. sativus</i>	-	-	-	1	0	0.0	12	1	8.3
	<i>C. maxima</i>	-	-	-	1	0	0.0	20	8	0.4
	<i>C. moschata</i>	-	-	-	-	-	-	16	9	56.3
	<i>L. acutangula</i>	2	0	0.0	3	0	0.0	9	0	0.0
	<i>L. vulgaris</i>	1	0	0.0	-	-	-	2	0	0.0
	<i>C. ficifolius</i>	-	-	-	-	-	-	3	0	0.0
	Top./Ort.	3	0	0.0	7	1	14.3	94	26	27.7
S K Z	<i>C. lanatus</i>	-	-	-	-	-	-	14	0	0.0
	<i>C. melo</i>	-	-	-	3	0	0.0	30	0	0.0
	<i>C. sativus</i>	-	-	-	-	-	-	4	0	0.0
	<i>C. maxima</i>	3	0	0.0	1	0	0.0	21	0	0.0
	<i>C. moschata</i>	1	1	100.0	-	-	-	24	12	50.0
	<i>L. acutangula</i>	2	0	0.0	-	-	-	9	0	0.0
	<i>L. vulgaris</i>	1	0	0.0	-	-	-	8	0	0.0
	<i>C. ficifolius</i>	-	-	-	-	-	-	8	0	0.0
	Top./Ort.	7	1	14.3	4	0	0.0	118	12	10.2
U Y	<i>C. lanatus</i>	-	-	-	2	0	0.0	11	0	0.0
	<i>C. melo</i>	-	-	-	1	0	0.0	25	0	0.0
	<i>C. sativus</i>	-	-	-	-	-	-	9	0	0.0
	<i>C. maxima</i>	-	-	-	-	-	-	10	0	0.0
	<i>C. moschata</i>	-	-	-	-	-	-	15	0	0.0
	<i>L. acutangula</i>	1	0	0.0	-	-	-	6	0	0.0
	<i>L. vulgaris</i>	1	0	0.0	1	0	0.0	6	0	0.0
	<i>C. ficifolius</i>	-	-	-	1	0	0.0	3	0	0.0
	Top./Ort.	2	0	0.0	5	0	0.0	85	0	0.0
Genel Top./Ort.		31	1	3.2	19	1	5.3	414	41	9.9

TÇS: Tozlanan Çiçek Sayısı; TMS: Tutan Meyve Sayısı; MBO: Meyve Bağlama Oranı
 - : Yeterli dişi çiçek veya polen olmadığından tozlama yapılamadı.

4.2.1.1.(2). 1998 Yılı Bulguları

Dört kabak genotipinde aynı familyaya ait 9 farklı türün polenleri kullanılarak yapılan türlerarası tozlamalara ilişkin sonuçlar **Çizelge 4.31**'de sunulmuştur.

Çizelge'de de görüldüğü gibi Eskenderany F_1 genotipi yalnızca *C. lanatus*, *C. melo*, *C. sativus*, *C. moschata* ve *C. maxima* türleriyle yapılan tozlamalardan 8 adet; Aceste F_1 genotipi *C. lanatus*, *C. melo*, *C. maxima* *L. acutangula* ve *L. vulgaris* türleriyle yapılan tozlamalara ait 12 adet meyve vermiştir. Sakız genotipi yine *C. moschata* ile yapılan tozlamalardan ve sadece 3 adet meyve vermiş, Urfa Yerli genotipi ise türler arası tozlamalara, birinci yılda olduğu gibi, bu yıl da hiçbir cevap vermemiştir. Ağustos ve eylül aylarında ise yeterli erkek ve dişi çiçek olmadığından tozlama yapılamamıştır.

1998 yılında toplam olarak *C. lanatus* ile uyartımla 5 adet, *C. melo* ile 6 adet, *C. sativus* ile 1 adet, *C. maxima* ile 3 adet, *C. moschata* ile 5 adet, *L. acutangula* ile 2 adet ve *L. vulgaris* ile 1 adet meyve elde edilirken, *C. flexuosus* ve *C. ficifolius* ile yapılan uyartımlardan meyve elde edilememiştir.

Çizelge 4.31. 1998 yılında aylara bağlı olarak dört genotipte farklı türlere ait polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları

		AYLAR											
		MAYIS			HAZİRAN			TEMMUZ			TOP./ORT.		
PolenKaynağı		TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
E S K	<i>C. lanatus</i>	2	0	0.0	4	0	0.0	4	1	25.0	10	1	10.0
	<i>C. melo</i>	4	0	0.0	5	0	0.0	5	2	40.0	14	2	14.3
	<i>C. sativus</i>	4	0	0.0	3	0	0.0	3	1	33.3	10	1	10.0
	<i>C. maxima</i>	3	0	0.0	2	0	0.0	5	2	40.0	10	2	20.0
	<i>C. moschata</i>	7	0	0.0	8	0	0.0	11	2	18.2	26	2	7.7
	<i>L. acutangula</i>	-	-	-	3	0	0.0	3	0	0.0	6	0	0.0
	<i>L. vulgaris</i>	-	-	-	5	0	0.0	6	0	0.0	11	0	0.0
	<i>C. flexuosus</i>	2	0	0.0	3	0	0.0	-	-	-	5	0	0.0
	<i>C. ficifolius</i>	-	-	-	6	0	0.0	3	0	0.0	9	0	0.0
	Top./Ort.	22	0	0.0	39	0	0.0	40	8	20.0	101	8	7.9
A C S	<i>C. lanatus</i>	6	0	0.0	11	0	0.0	7	4	57.1	24	4	16.7
	<i>C. melo</i>	3	0	0.0	9	0	0.0	8	4	50.0	20	4	20.0
	<i>C. sativus</i>	5	0	0.0	5	0	0.0	3	0	0.0	13	0	0.0
	<i>C. maxima</i>	1	0	0.0	2	0	0.0	2	1	50.0	5	1	20.0
	<i>C. moschata</i>	11	0	0.0	9	0	0.0	7	0	0.0	27	0	0.0
	<i>L. acutangula</i>	-	-	-	3	0	0.0	5	2	40.0	8	2	25.0
	<i>L. vulgaris</i>	-	-	-	5	0	0.0	3	1	33.3	8	1	12.5
	<i>C. flexuosus</i>	2	0	0.0	2	0	0.0	2	0	0.0	6	0	0.0
	<i>C. ficifolius</i>	-	-	-	7	0	0.0	6	0	0.0	13	0	0.0
	Top./Ort.	28	0	0.0	53	0	0.0	43	12	27.9	124	12	9.7
S K Z	<i>C. lanatus</i>	3	0	0.0	5	0	0.0	2	0	0.0	10	0	0.0
	<i>C. melo</i>	5	0	0.0	3	0	0.0	4	0	0.0	12	0	0.0
	<i>C. sativus</i>	7	0	0.0	3	0	0.0	2	0	0.0	12	0	0.0
	<i>C. maxima</i>	1	0	0.0	6	0	0.0	4	0	0.0	11	0	0.0
	<i>C. moschata</i>	14	3	21.4	11	0	0.0	9	0	0.0	34	3	8.8
	<i>L. acutangula</i>	-	-	-	2	0	0.0	3	0	0.0	5	0	0.0
	<i>L. vulgaris</i>	-	-	-	1	0	0.0	6	0	0.0	7	0	0.0
	<i>C. flexuosus</i>	1	0	0.0	2	0	0.0	5	0	0.0	8	0	0.0
	<i>C. ficifolius</i>	-	-	-	2	0	0.0	4	0	0.0	6	0	0.0
	Top./Ort.	31	3	9.7	35	0	0.0	39	0	0.0	105	3	2.9
U Y	<i>C. lanatus</i>	3	0	0.0	5	0	0.0	2	0	0.0	10	0	0.0
	<i>C. melo</i>	1	0	0.0	9	0	0.0	7	0	0.0	17	0	0.0
	<i>C. sativus</i>	1	0	0.0	4	0	0.0	1	0	0.0	6	0	0.0
	<i>C. maxima</i>	1	0	0.0	1	0	0.0	1	0	0.0	3	0	0.0
	<i>C. moschata</i>	6	0	0.0	9	0	0.0	6	0	0.0	21	0	0.0
	<i>L. acutangula</i>	-	-	-	4	0	0.0	2	0	0.0	6	0	0.0
	<i>L. vulgaris</i>	-	-	-	7	0	0.0	1	0	0.0	8	0	0.0
	<i>C. flexuosus</i>	1	0	0.0	4	0	0.0	3	0	0.0	8	0	0.0
	<i>C. ficifolius</i>	-	-	-	1	0	0.0	1	0	0.0	2	0	0.0
	Top./Ort.	13	0	0.0	44	0	0.0	24	0	0.0	81	0	0.0
Genel Top./Ort		94	3	3.2	171	0	0.0	146	20	13.7	411	23	5.6

TÇS: Tozlanan Çiçek Sayısı; TMS: Tutan Meyve Sayısı; MBO: Meyve Bağlama Oranı

- : Yeterli dişi çiçek veya polen olmadığından tozlama yapılamadı.

4.2.1.2. Türlerarası Tozlamaların Meyve Ağırlığı, Tohum ve Embriyo Oluşumu ile Embriyo Gelişimi Üzerine Etkileri

4.2.1.2.(1). 1997 Yılı Bulguları

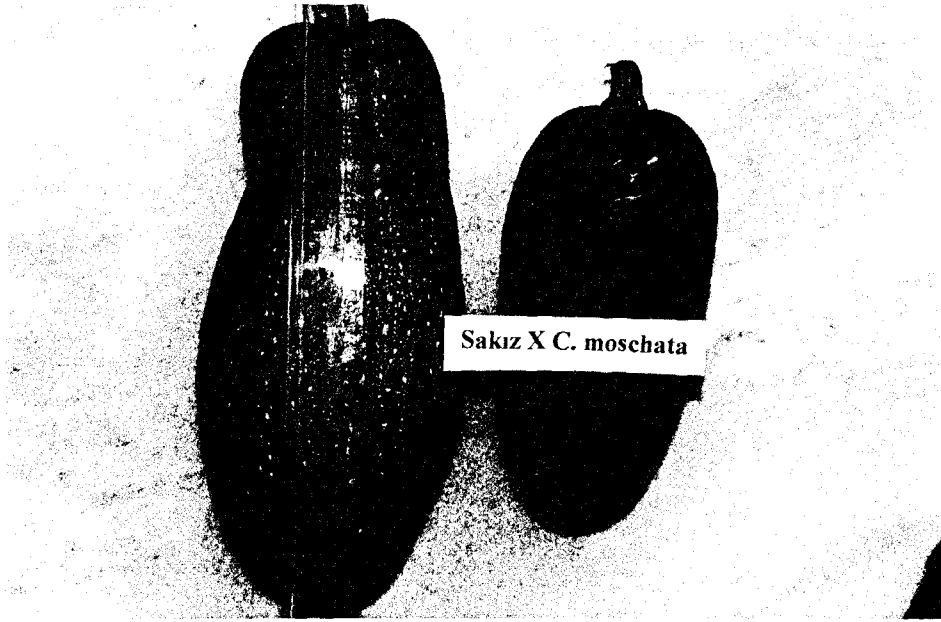
Dört kabak genotipinde aynı familyaya ait 9 farklı türün polenleri kullanılarak yapılan türlerarası tozlamaların meyve ağırlığı ile tohum ve embriyo oluşumu üzerine olan etkilerine ilişkin sonuçlar **Çizelge 4.32**'de sunulmuştur.

Türlerarası tozlamalar sonucu Eskenderany F_1 genotipinde hasat edilen 3 adet meyveden, dolu veya boş, tohum elde edilememiş, meyvelerin ortalama ağırlıkları ise 1265 g olmuştur. Aceste F_1 genotipinde ise yalnızca *C. moschata* ile yapılan tozlamalardan ve toplam 12 adet tohum elde edilmiş, ancak tohumların tamamı boş çıkmış, ortalama meyve ağırlığı ise 1328 g olmuştur. Sakız genotipinde ortalama ağırlıkları 1630 g olan 12 adet meyve elde edilmiş, bu meyvelerden toplam 1258 adet tohum, bu tohumlardan ise 236 adet embriyo çıkarılmıştır. Çıkarılan embriyoların tamamı, embriyo gelişim safhası olarak, kotiledon benzeri olmuş, bu embriyolardan 29 adet bitki elde edilmiştir. Yapılan sitolojik ve morfolojik analizler sonucunda elde edilen tüm bitkilerin diploid ($2n=2x=40$) olduğu görülmüştür. Seraya dikilen bitkilerden kontrollü tozlama ile meyveler alınmış ve meyvelerin görünüşü olarak ne Sakız çeşidine de *C. moschata*'ya benzediği ve melez olduğu anlaşılmıştır (**Şekil 4.36**).

Çizelge 4.32. 1997 yılında farklı türlere ait polenlerle tozlama sonucu elde edilen meyvelerin sayısı, ortalama ağırlıkları, tohum ve embriyo sayıları, embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları

Polen Kaynağı	MS	MA	TTS	OTS	TE	MBE	KE	BDE	ŞBS	TB
E S K	<i>C. lanatus</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. melo</i>	1	1475	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. sativus</i>	1	1120	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. maxima</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. moschata</i>	1	1200	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>L. acutangula</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>L. vulgaris</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. ficifolius</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	Top./Ort.	3	1265	0	0.0	0	0.0	0	0	0
A C S	<i>C. lanatus</i>	1	1100	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. melo</i>	6	1450	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. sativus</i>	1	1235	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. maxima</i>	4	1276	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. moschata</i>	5	1289	12	2.4	0	0.0	0	0	0
	<i>L. acutangula</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>L. vulgaris</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. ficifolius</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	Top./Ort.	17	1328	12	0.7	0	0.0	0	0	0
S K Z	<i>C. lanatus</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. melo</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. sativus</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. maxima</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. moschata</i>	12	1630	1258	104.8	236	19.7	192	142	62
	<i>L. acutangula</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>L. vulgaris</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. ficifolius</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	Top./Ort.	12	1630	1258	104.8	236	19.7	192	142	62
U Y	<i>C. lanatus</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. melo</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. sativus</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. maxima</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. moschata</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>L. acutangula</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>L. vulgaris</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. ficifolius</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	Top./Ort.	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	Genel Top./Ort	32	1435	1270	39.7	236	7.4	192	142	62

MS: Meyve Sayısı, MA:Ortalama Meyve Ağırlığı, TTS:Toplam Tohum Sayısı, OTS:Ortalama Tohum Sayısı, TE: Toplam Embriyo Sayısı, MBE: Meyve Başına Embriyo Sayısı, KE: Köklenen Embriyo Sayısı, BDE: Bitkiye Dönüşen Embriyo Sayısı, ŞBS: Şaşırtılan Bitki Sayısı, TB:Toplam Bitki Sayısı



Şekil 4.36. Sakız x *C. moschata* tozlamasından elde edilen embriyolardan gelişen bitkilerin meyveleri

4.2.1.2.(2). 1998 Yılı Bulguları

Dört kabak genotipinde aynı familyaya ait 9 farklı türün polenleri kullanılarak yapılan türlerarası tozlamaların 1998 yılında meyve ağırlığı ile tohum ve embriyo oluşumu üzerine olan etkilerine ilişkin sonuçlar **Çizelge 4.33**'te sunulmuştur.

Türlerarası tozlamalar sonucu Eskenderany F_1 ve Acceste F_1 genotiplerinde hasat edilen meyvelerden, dolu veya boş, tohum elde edilememiş, meyvelerin ortalama ağırlıkları ise sırasıyla 2155 g ve 1415 g olmuştur. Sakız çeşidinde ortalama ağırlıkları 2165 g olan 3 adet meyve elde edilmiş, bu meyvelerden 18 adet tohum, bu tohumlardan ise 2 adet embriyo çıkarılmıştır. Çıkarılan embriyolar, embriyo gelişim safhası olarak, kotiledon benzeri olmuş, bu embriyolardan 1 adet bitki elde edilmiştir. Yapılan sitolojik analizler sonucunda elde edilen bitkinin diploid yapıda olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.33. 1998 yılında farklı türlere ait polenlerle tozlama sonucu elde edilen meyvelerin sayısı, ortalama ağırlıkları, tohum ve embriyo sayıları, embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranları

Polen Kaynağı	MS	MA	TTS	OTS	TE	MBE	KE	BDE	ŞBS	TB
E S K	<i>C. lanatus</i>	1	1670	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. melo</i>	2	1695	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. sativus</i>	1	2785	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. maxima</i>	2	1890	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. moschata</i>	2	2808	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>L. acutangula</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>L. vulgaris</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. flexuosus</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. ficifolius</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	Top./Ort.	8	2155	0	0.0	0	0.0	0	0	0
A C S	<i>C. lanatus</i>	4	1728	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. melo</i>	4	1410	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. sativus</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. maxima</i>	1	1035	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. moschata</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>L. acutangula</i>	2	1263	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>L. vulgaris</i>	1	870	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. flexuosus</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. ficifolius</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	Top./Ort.	12	1415	0	0.0	0	0.0	0	0	0
S K Z	<i>C. lanatus</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. melo</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. sativus</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. maxima</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. moschata</i>	3	2165	18	6.0	2	0.7	2	2	1
	<i>L. acutangula</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>L. vulgaris</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. flexuosus</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. ficifolius</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	Top./Ort.	3	2165	18	6.0	2	0.7	2	2	1
U Y	<i>C. lanatus</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. melo</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. sativus</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. maxima</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. moschata</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>L. acutangula</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>L. vulgaris</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. flexuosus</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	<i>C. ficifolius</i>	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
	Top./Ort.	0	0	0	0.0	0	0.0	0	0	0
Genel Top./Ort.		23	1770	18	0.3	2	0.1	2	2	1

4.2.2. Polenlere Toluidin Mavisi, Kolhisin ve Su Uygulamaları

Bu amaçla araştırmada kullanılan 4 genotipe ait çiçek tozları karıştırılmış, 50, 100, 150 ve 200 ppm konsantrasyonlarında toluidin mavisi, % 0.02 dozunda kolhisin ve saf su uygulamalarına tabi tutularak kontrol ile mukayeseli canlılık ve tozlama testleri yapılmıştır. Uygulamaların hiç birisinde canlı polene rastlanmamış ve bu polenlerle yapılan tozlamalardan hiçbir meyve elde edilememiştir. Kontrol polenleri ise % 88 canlılık göstermişler ve tozlamalarda Eskenderany F₁ genotipinde % 75, Acceste F₁ genotipinde % 80, Sakız genotipinde % 60 ve Urfa Yerli genotipinde ise % 33 meyve tutumu sağlanmıştır (Çizelge 4.34).

Çizelge 4.34. 1997 yılında dört genotipte toluidin mavisi, kolhisin ve saf su uygulanmış polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve bağlama oranları

Uygulama	GENOTİPLER											
	ESK			ACS			SKZ			UY		
	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO	TÇS	TMS	MBO
Kontrol	4	3	75	5	4	80	5	3	60	3	1	33
TM-50 ppm	3	0	0	3	0	0	4	0	0	3	0	0
TM-150 ppm	3	0	0	3	0	0	3	0	0	3	0	0
TM-100 ppm	3	0	0	4	0	0	3	0	0	4	0	0
TM-200 ppm	4	0	0	4	0	0	3	0	0	3	0	0
Kol – 10 dk	5	0	0	4	0	0	5	0	0	3	0	0
Kol – 20 dk	4	0	0	3	0	0	5	0	0	3	0	0
Saf su	3	0	0	3	0	0	3	0	0	3	0	0

4.2.3. Anter ve Ovül Kültürü Çalışmalarına İlişkin Bulgular

4.2.3.1. Anter Kültürü

Dört kabak genotipinde, iki sakkaroz ve dört 2.4-D konsantrasyonunun etkilerinin incelendiği anter kültürü çalışmasında anterlerin kallus oluşturma (Şekil 4.37) oranı üzerine etkileri Çizelge 4.35’de sunulmuştur. Çizelge 4.35’de de görüldüğü gibi sakkaroz miktarının artışına paralel olarak kallus oranında da genelde artışlar gözlenmiştir. Tüm genotipler göz önüne alındığında 120 g/l sakkaroz

seviyesinde kallus oluşturma oranı % 24.17 iken, 150 g/l sakkaroz seviyesinde bu oran yaklaşık % 36'lık bir artış ile % 37.92 olarak gerçekleşmiştir.



Şekil 4.37. Anterlerden oluşmakta olan kalluslar

Çizelge 4.35. Kallus oluşturan anter oranı (%)

UYGULAMALAR		GENOTİPLER					
Sakkaroz (g/l)	2.4-D (mg/l)	ESK	ACS	SKZ	UY		
120	5.0	33.33 c-f	26.67 c-f	13.33 ef	20.00 d-f	23.33 c	
	7.5	46.67 a-d	20.00 d-f	13.33 ef	26.67 c-f	26.68 bc	
	10.0	46.67 a-d	40.00 b-e	13.33 ef	26.67 c-f	31.68 a-c	
	12.5	26.67 c-f	13.33 ef	6.67 f	13.33 ef	15.00 c	24.17 b
150	5.0	40.00 b-e	33.33 c-f	13.33 ef	26.67 c-f	28.33 a-c	
	7.5	53.33 a-c	73.33 a	26.67 c-f	40.00 b-e	48.33 ab	
	10.0	66.67 ab	66.67 ab	33.33 c-f	33.33 c-f	50.00 a	
	12.5	33.33 c-f	26.67 c-f	20.00 d-f	20.00 d-f	25.00 c	37.92 a
		43.33 a	37.50 ab	17.50 b	25.83 ab		

D %1 (Sakkaroz) : 5.75 D %1 (2.4-D) : 15.73
D %1 (Genotip) : 23.17 D %1 (Sakkaroz x 2.4-D x Genotip) : 24.64

2.4-D'nin 5.0, 7.5 ve 10.0 mg/l konsantrasyonlarında genelde tüm genotiplerde düzenli sayılabilecek artışlar olmuştur. En yüksek kallus oluşum oranları

10.0 mg/l 2.4-D'de gerçekleşmiş, en düşük değerleri ise 12.5 mg/l 2.4-D vermiştir. Eskenderany F₁ genotipi % 43.33 ile en yüksek kallus oluşum oranını verirken bunu sırasıyla Aceste F₁ (% 37.50), Urfa Yerli (% 25.83) ve Sakız (% 17.50) genotipleri izlemiştir. Kallus oluşturma oranında en yüksek değer 150 g/l sakkaroz ve 7.5 mg/l 2.4-D konsantrasyonunda % 73.33 ile Aceste F₁ genotipinden alınmıştır. Oluşan kallusların büyüklükleri açısından en yüksek değerler 150 g/l sakkaroz miktarından elde edilmiştir. Genelde 10.0 mg/l 2.4-D kullanılan ortamdaki kalluslar diğerlerine göre daha iyi gelişmişlerdir. Ancak, 12.5 mg/l 2.4-D kullanıldığında, çeşitlere göre değişmekle birlikte kallus büyüklüğünde azalmalar belirlenmiştir (**Çizelge 4.36**).

Çizelge 4.36. Anter kültüründe oluşan kallusların ortalama alanlarına ilişkin skala değerleri *

UYGULAMALAR		GENOTİPLER			
Sakkaroz (g/l)	2.4-D (mg/l)	ESK	ACS	SKZ	UY
120	5.0	2	3	4	1
	7.5	2	3	3	1
	10.0	3	3	4	3
	12.5	2	2	3	2
150	5.0	2	3	5	2
	7.5	2	4	5	2
	10.0	2	4	6	3
	12.5	2	3	5	2
		2	3	4	2

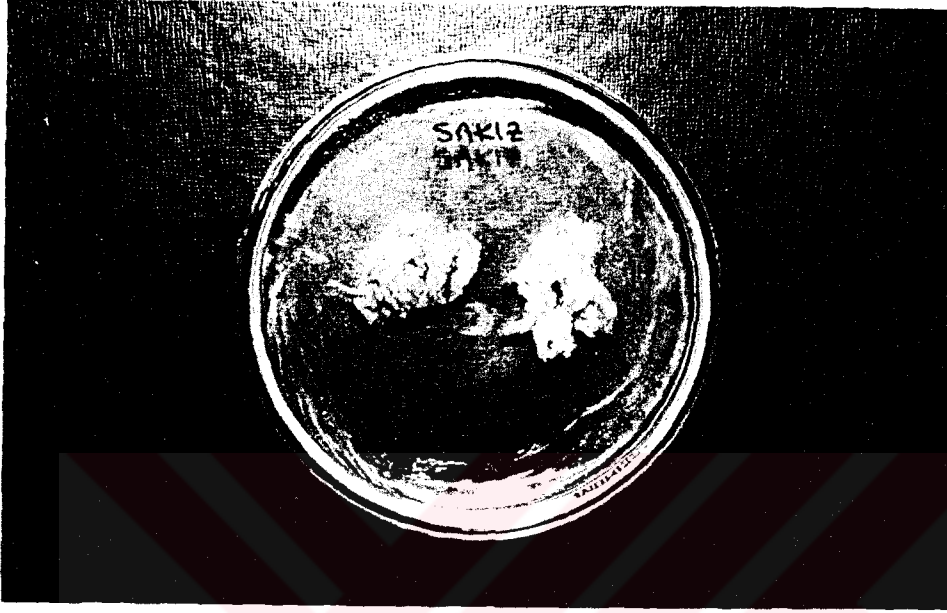
* : 1= 0-99 mm²; 2= 100-199 mm²; 3= 200-299 mm²; 4= 300-399 mm²; 5= 400-499 mm²; 6= 500-599 mm²

Genotipler arasında en fazla kallus alanı Sakız genotipinde görülmüş, bunu sırasıyla Aceste F₁, Eskenderany F₁ ve Urfa Yerli genotipleri izlemiştir.

Genel olarak en fazla kallus alanı 150 g/l sakkaroz ve 10.0 mg/l 2.4-D konsantrasyonundan ve Sakız genotipinden alınmıştır.

Anter kültürü çalışması sonucunda 120 g/l sakkaroz ve 5.0 mg/l 2.4-D kombinasyonundan 3 adet bitki elde edilmiştir. **Şekil 4.38**'de kallus üzerinde oluşmakta olan ilk bitkicikler, **Şekil 4.39**'da kültür tüplerinde büyümekte olan bitkicikler ve **Şekil 4.40**'da da plastik kaplara dikilmiş bitkiler görülmektedir.

Elde edilen bitkilerin ploidi düzeyleri kök ucu kromozom sayımları ile belirlenmiş ve bitkilerin diploid yapıda oldukları ($2n=2x=40$) saptanmıştır (Şekil 4.41).



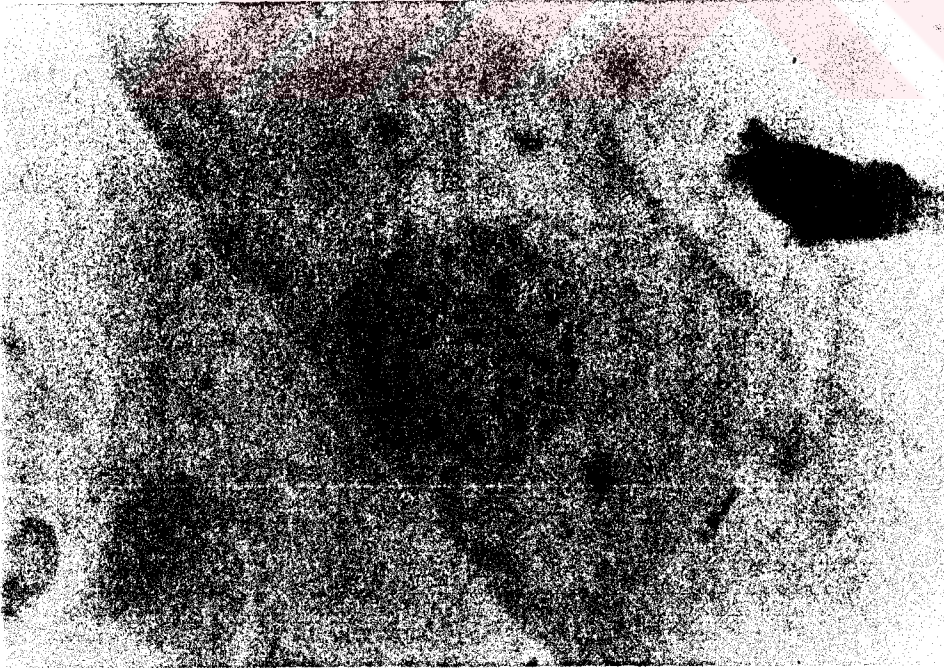
Şekil 4.38. Kallus üzerinde ilk bitkiciklerin çıkışı



Şekil 4.39. Kültür tüplerinde büyümekte olan bitkicikler



Şekil 4.40. Anter kültüründen gelen bitkilerin plastik kaplardaki görünüşü



Şekil 4.41. Anter kültüründen gelen bitkilerde kromozomlar (1800x)

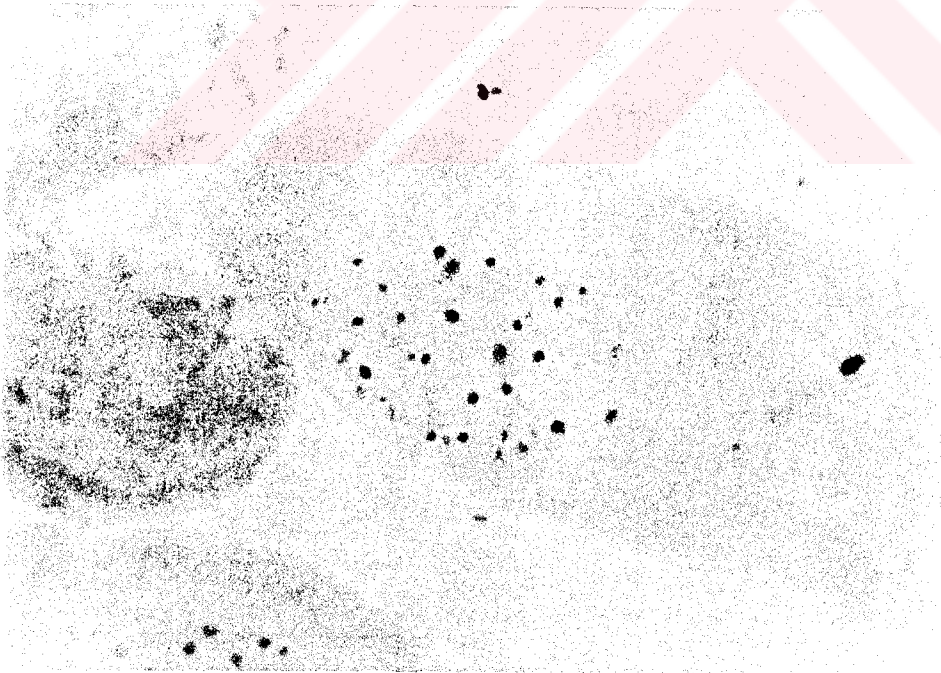
4.2.3.2. Ovül Kültürü

Kültüre alınan yumurta hücreleri (ovüller) bir süre sonra, ilk hallerine oranla şişkinleşip kabarmışlar; ancak uzun bir süre hiçbir gelişme göstermeden böyle kalmışlar ve sonunda kahverengileşerek ölmüşlerdir. Bu nedenle ovül kültürü çalışmalarından hiçbir sonuç elde edilememiştir.

4.3. Bitkilerde Ploidi Düzeylerinin Belirlenmesi

4.3.1. Kök Ucu Kromozom Sayımları

Işınlanmış polenlerle tozlamalar sonucunda elde edilen embriyolardan gelişmekte olan bitkiciklerde, henüz tüp veya kavanozları içerisinde *in vitro* gelişimlerini sürdürürken Feulgen yöntemiyle kök ucu kromozom sayımları yapılmış ve bitkilerin ploidi düzeyleri belirlenmiştir. **Şekil 4.42'**de diploid ($2n=2x=40$), **Şekil 4.43'**de ise haploid ($n=20$) yapıdaki bitkilere ait kromozomlar görülmektedir.



Şekil 4.42. Diploid yapıdaki bitkilerin kromozomları ($2n=2x=40$)



Şekil 4.43. Haploid yapıdaki bitkilerin kromozomları (n=20)

4.3.2. Stoma Boyutları ve Bekçi Hücrelerindeki Kloroplast Sayıları

Kabakta ploidi düzeyinin belirlenmesinde kök ucu kromozom sayımlarına alternatif olabileceği düşünülen stoma hücrelerine ait bazı özellikler de incelenmiş ve sonuçları Çizelge 4.37’de sunulmuştur. Kromozom sayımlarında haploid oldukları belirlenen bitkilerin yaprak alt epidermisindeki stomalarının boyutları, yoğunlukları ve bekçi hücrelerindeki toplam kloroplast sayıları diploid bitkilerle karşılaştırılmış, sonuç olarak diploid ve haploid yapıdaki bitkilerin stoma boyutlarının farklı olduğu saptanmıştır. Diploidlerde ortalama stoma uzunluğu 29.69 μm iken, haploidlerde 19.56 μm olmuştur. Stoma çapları ise diploidlerde 19.75 μm iken, haploidlerde 14.88 μm olarak bulunmuştur. İncelenen bitkilerin stoma boyutları ile birim alandaki stoma sıklığı arasında ters bir ilişki görülmüştür. Diploid bitkilerde stoma boyutlarının büyük ve birim alandaki sayılarının daha az (294.9 adet/ mm^2), haploidlerde bunun aksine stoma boyutlarının daha küçük, ancak stoma sayılarının daha fazla (402.6 adet/ mm^2) olduğu bulunmuştur. Stomaların her iki bekçi hücreesindeki toplam kloroplast sayıları diploidlerde 11.13 adet olurken, bu değer haploidlerde 7.08 adet olarak tespit edilmiştir. Haploid ve diploid bitkilere ait stomalar ile bekçi hücrelerindeki kloroplast sayıları sırasıyla Şekil 4.44 ve 4.45’te görülmektedir.

Benzer biçimde haploid bitkilerde stomanın her iki bekçi hücresinde toplam 6-8 adet kloroplast bulunurken, diploid bitkilerde 10-12 kloroplast sayılmıştır.

Çizelge 4.37. Urfa Yerli genotipine ait haploid ve diploid bitkilerin stoma uzunluk (μm), çap (μm), yoğunluk (adet/ mm^2) ve kloroplast sayıları (adet)

Ploid seviyesi	Stoma uzunluğu (μm)	Stoma çapı (μm)	Stoma yoğunluğu (adet/ mm^2)	Kloroplast sayısı (adet/stoma)
Haploid	19.56 b	14.88 b	402.6 a	7.08 b
Diploid	29.69 a	19.75 a	294.9 b	11.13 a
D %1	1.46	1.20	10.81	0.97



Şekil 4.44. Haploid bir bitkiye ait stomalar (1800x)



Şekil 4.45. Diploid bir bitkiye ait stoma (1800x)

4.3.3. Morfolojik İnceleme Bulguları

Haploid bitkiler, diploidlere göre daha yavaş bir büyüme süreci göstermişlerdir. Şekil 4.46'da büyümekte olan bir haploid bitki, Şekil 4.47'de de *in vitro*'da aynı zamanda yetiştirilmeye alınmış, diploid ve haploid bitkilerin gelişme durumları görülmektedir.



Şekil 4.46. Kültür odası şartlarında büyümekte olan haploid bir bitki



Şekil 4.47. *In vitro*'da aynı zamanda yetiştirilmeye alınmış diploid (solda) ve haploid (sağda) bitkilerin gelişme durumları

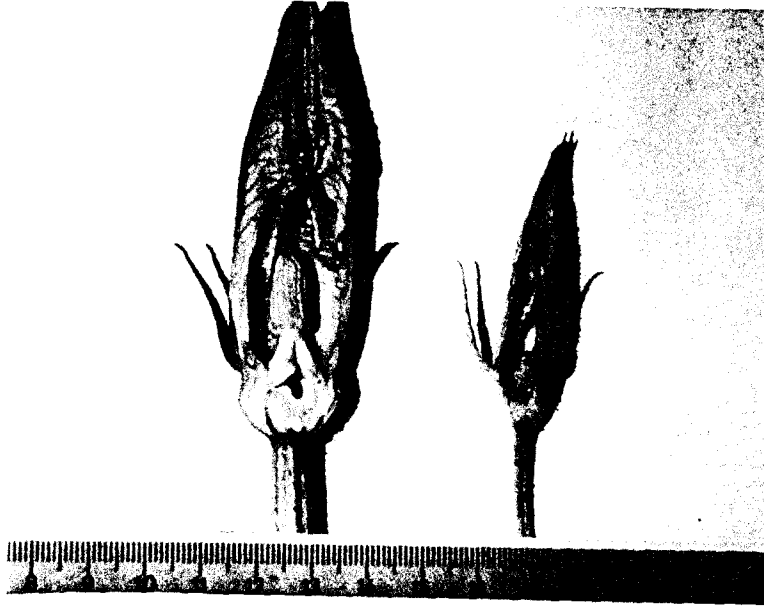
Diploid ve haploid bitkilerde stoma özelliklerinin yanında, yaprak boyu ve yaprak eni de ölçülmüştür. Her iki ploid seviyesinde de Urfa Yerli çeşidinin büyüme ucundan itibaren 7. veya 8. yaprağı alınmış; diploid bitkilerde yaprak boyu 40.8 cm, yaprak eni ise 34.6 cm olmuştur. Buna karşılık haploid bitkilerde yaprak boyutları küçülmüş; yaprak boyu 22.3 cm olurken yaprak eni de 19.5 cm olarak ölçülmüştür. Yaprak sapı cep açıları ölçülmemesine rağmen, göreceli olarak diploidlerin haploidlere oranla çok daha dar yaprak sapı cep açısına sahip oldukları belirlenmiştir (Şekil 4.48).



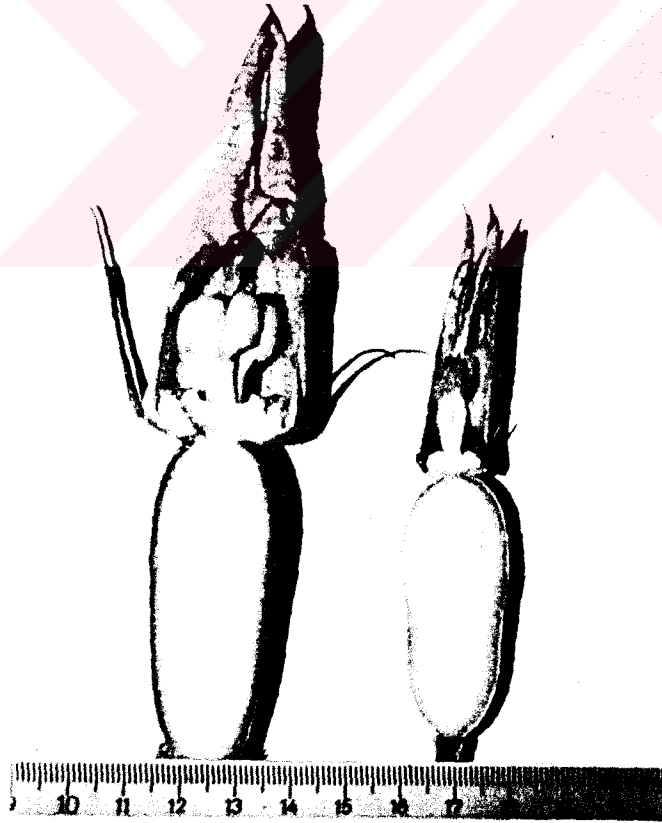
Şekil 4.48. Haploid (solda) ve diploid (sağda) bitkilere ait yapraklar

In situ'de geliştirilen haploid bitkiler, diploidler gibi çiçek oluşturmuşlardır. Ancak, oluşan çiçekler morfolojik ve biyolojik olarak farklılıklar göstermişlerdir. Diploid bitkilerde oluşan erkek çiçekler daha iri olup, anterlerinde polen taşımışlar ve anthesiste açmışlardır. Haploid bitkilerin ise erkek çiçeklerinin daha küçük yapıları oldukları, anterlerinde polen taşımadıkları ve açmadan kuruyarak döküldükleri belirlenmiştir (Şekil 4.49). Benzer durum dişi çiçeklerde de ortaya çıkmış, diploid bitkilerin dişi çiçekleri daha iri bir görünüme, geniş bir stigmaya ve gelişmiş bir

yumurtalığa sahip olurken; haploid bitkilerin dişi çiçekleri daha küçük görünümlü, çok az gelişmiş bir stigmaya ve yumurtalığa sahip olmuşlardır (Şekil 4.50).



Şekil 4.49. Diploid (solda) ve haploid (sağda) bitkilere ait anthesisten bir gün önceki aşamada erkek çiçekler



Şekil 4.50. Diploid (solda) ve haploid (sağda) bitkilere ait anthesisten bir gün önceki aşamada dişi çiçekler

Haploid bitkilerin dişi çiçeklerinde diploid bitkilerin polenleri kullanılarak yapılan kontrollü tozlamalarda, hiçbir dişi çiçeğin meyve bağlamadığı tespit edilmiştir.

4.4. Haploid Bitkilerde Kromozom Sayılarının Katlanması

Kolhisinin % 0.5 dozunda 2, 3, 4, 5 ve 6 süreyle tutulan köklü çelikler muamele sonrası saksılara şaşırtılmış ve yaklaşık 10 gün sonra ploidi tespiti için kök ucu kromozom sayımları yapılmıştır. İncelemeler sonucunda, 2 saat süreyle tutulan bitkilerde kromozom katlanması olmamış, 3 saat süreyle tutulan bitkiler haploid veya diploid hücrelere sahip olurken, 4 saat süreyle tutulan bitkiler tamamen dihaploid olmuşlardır. Sonuçlar stomatal incelemelerle de doğrulanmıştır.

Kolhisinin bitki gelişimi üzerine etkilerinin de incelendiği araştırmada, muamele süresinin artışına paralel olarak yapraklarda nekrozların ve sürgün uçlarında kurumaların, sonuçta da bitki ölümlerinin çoğaldığı belirlenmiştir. Kromozom katlanmasının gerçekleştiği 4 saat uygulaması yapılmış 6 bitkiden 3'ü normal şekilde gelişirken, 5 ve 6 saat uygulamaları yapılmış toplam 12 bitkiden hiç birisi yaşayamamıştır (**Çizelge 4.38**).

Çizelge 4.38. Urfa Yerli genotipinde değişik sürelerde uygulanan % 0.5'lik kolhisinin bitki gelişimi üzerine etkisi

SÜRELER	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
Dikilen Çelik Sayısı	6	6	6	6	6
Yaşayan Bitki Sayısı	5	5	3	0	0
Yaşama Oranı	83.3	83.3	50.0	0.0	0.0
Gelişen Bitki Sayısı	5	3	2	0	0
Gelişme Oranı	83.3	50.0	33.3	0.0	0.0

5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Monoik çiçek yapısına sahip olan kabak, yabancı tozlanmakta ve alışlagelmiş yöntemlerle yapılan ıslah çalışmaları oldukça uzun zaman almaktadır. Bu süreyi kısaltmak, olayı daha pratik hale getirmek amacıyla planladığımız araştırma sonucunda Co⁶⁰ kaynaklı gama ışını ile ışınlanmış polenlerle tozlama yoluyla partenogenetik haploid kabak bitkileri elde edilmiş ve bu bitkilerde kromozom katlamaları da yapılmıştır. Işınlanmış polen tekniği yerine geçebileceği düşünülen türlerarası tozlamalar, polenlere kimyasal uygulamaları ile anter ve ovül kültürleri üzerinde de durulmuştur. Sonuçlar, sadece ışınlanmış polen tekniğinin haploid embriyo uyartımı sağladığını göstermiştir.

Haploid bitki eldesi amacıyla ışınlanmış polen tekniğini ilk olarak **Raquin (1986)** kullanmış, bu amaçla Co⁶⁰ kaynaklı gama ışını ile ışınladığı *Petunia* bitkisinin polenleriyle aynı bitkinin dişi çiçeklerini tozlayarak ilk partenogenetik haploid bitkileri elde etmiştir. İlerleyen yıllarda, bu tekniğin kullanılmasıyla, *Cucurbitaceae* familyasından önce kavun (**Sauton, 1987**) daha sonra hıyar (**Sauton, 1989; Niemirowicz-Szczytt ve Dumas de Vault, 1989**), karpuz (**Gürsöz, 1990; Gürsöz ve ark., 1991; Sarı, 1994; Sarı ve ark., 1994**) ve acur (**Yanmaz ve ark., 1997**)’da başarılı sonuçlar alınmıştır.

Işınlanmış polenlerin çekirdekleri (genellikle vegetatif çekirdek) stigma üzerinde çimlenme sırasında bölünmeye başlar. Embriyo kesesi içerisinde ise yumurta hücresi ya da sinergit hücrelerinden birisi (**San Noeum, 1976**) veya antipodal hücrelerden birisi (**Bossoutrot ve Hosemans, 1985; Yang ve Zhou, 1990**) polenin bu aktivitesi karşısında bölünmeye başlar. Bu uyartım sonucunda, kallus olarak nitelendirilen düzensiz hücre yığınları veya doğrudan embriyolar oluşur. Ancak burada dikkat edilmesi gereken nokta, seçilen ışın dozunun normal döllenmeyi engellemesi, fakat polenin çimlenme yeteneğini inhibe etmemesidir.

Cucurbitaceae familyasına giren türlerden *C. pepo*, *C. maxima* ve *C. moschata* dışındaki türlerde *in vitro* polen çimlendirmesi başarıyla gerçekleştirilmesine rağmen, bu üç türde çimlendirme çalışmaları sonuç vermemiş, geniş literatür taramasında da yapılmış başarılı bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Nitekim, **Abak ve**

ark. (1997) ile **Aydın (1998)**'ın farklı kabakgil türlerine ait polenlerin muhafazası üzerine yaptıkları araştırmalarda da *Cucurbita* türlerinde *in vitro* polen çimlendirme çalışmaları sonuçsuz kalmıştır. Bu sebeple, araştırmada ışınlanmış polenlerin aktiviteleri polen canlılık ve *in situ* polen çimlendirme testleriyle belirlenmeye çalışılmıştır.

Yapılan polen canlılık testlerinde ışınlama olayının, ışınlama dozunun artışına paralel olarak, polenlerin canlılık gücünü ve bu gücü koruma süresini oldukça azalttığı belirlenmiştir. Genotipe ve aylara bağlı olarak anthesis günündeki (0. gün) ışınlanmış polenlerde canlılık oranı % 31-84 arasında saptanırken, kontrolde bu değer % 92-98 arasında olmuştur. Işınlanmış polenlerde, ışınlama dozuna ve aylara bağlı olarak 3.-13. günlerde, kontrol polenlerinde ise 17.-19. günlerde canlılık tespit edilememiştir.

In situ polen çimlendirmesi çalışmaları sonucunda 25 ve 50 Gy dozlarıyla ışınlanmış polenlerin stigma üzerinde çimlendiği ve stil içerisinde iyi bir gelişme gösterdiği, 75 Gy dozuyla ışınlanmış polenlerden ancak birkaç tanesinin çimlenip gelişebildiği, 100 Gy ve üzerindeki dozlarda ise hiçbir çimlenme ve gelişmenin olmadığı tespit edilmiştir. **Visser ve Oost (1981)** elma ve armut, **Van den Boom ve Den Nijs (1983)** hıyar, **Cuny ve Roudot (1991)**, **Sarı ve ark. (1992 a)** ile **Yanmaz ve Taner (1996)** kavun, **Sarı ve ark. (1992 b)**, **Sarı (1994)** karpuz polenlerinde ışınlamanın çimlenme oranını ve çimlenme yeteneğini koruma süresini azalttığını belirtirken, **Sandı (1998)** kabuksuz çerezlik kabakta yaptığı çalışmasında Sezyum¹³⁷ ile ışınlamanın polen canlılığında önemli bir etki yapmadığını bildirmiştir.

Işınlanmış polenlerle tozlamalar sonucunda meyve bağlama oranları ve oluşan meyvelerin ağırlıkları aylara, genotiplere ve ışınlama dozlarına göre değişiklik göstermiştir.

İki yıllık çalışmalar sonucunda Mayıs ayında yapılan tozlamalarda meyve tutumu ortalama % 34 kadar olurken, bu oran Haziran ayında % 41 olarak gerçekleşmiştir. Temmuz ve Ağustos aylarında Samsun koşullarında yaprak biti popülasyonunun artışına paralel olarak epidemiy gösteren ZYMV'den dolayı meyve tutum oranları azalmış (% 17-30), Eylül ayında ise en yüksek değerine ulaşmıştır (% 57-67). Işınlanmış polen yaşının da meyve tutumu üzerine etkileri olmuştur. 0. gün

polenleriyle yapılan tozlamalarda meyve tutumu % 43-59 arasında değişirken, 1. gün polenleriyle yapılan tozlamalarda bu oran % 11-28 arasında olmuştur. Daha önce, karpuz (Gürsöz, 1990; Gürsöz ve ark., 1991; Sarı, 1994; Sarı ve ark., 1994), kavun (Gürsöz, 1990) ve hıyar (Çağlar, 1995) türlerinde yapılan çalışmalarda da mevsim, genotip ve polen yaşının meyve tutumu üzerine benzer şekilde önemli etkileri olduğu bildirilmiştir. Bu sebeple, tüm tozlamalarda mümkün olduğunca 0 gün yaşlı polenlerle çalışılmaya özen gösterilmiştir.

Meyve ağırlığı açısından, en ağır meyveler eylül ayı tozlamalarından (1672 g), en hafif meyveler ise ZYMV'nin sorun olduğu temmuz (1095 g) ve ağustos (1135 g) ayı tozlamalarından elde edilmiştir. Meyve ağırlığı mayıs ayında 1388 g, haziran ayında ise 1554 g olarak bulunmuştur. Meyve ağırlığının, bitkilerin olumsuz şartlardan (düşük ve yüksek sıcaklıklar, hastalık ve zararlılar) korunduğu ve sağlıklı bir şekilde yetiştirildiği dönemlerde artış göstermesi oldukça doğaldır.

Genotiplerden melez olanlar, açık tozlananlara oranla daha fazla meyve tutumu sağlamış ve daha ağır meyveler vermiştir. Meyve tutum oranı Eskenderany F₁ genotipinde % 37-60, Acceste F₁ genotipinde % 33-59, Sakız genotipinde % 17-40, Urfa Yerli genotipinde ise % 18-32 arasında değişmiştir. En ağır meyveleri Eskenderany F₁ (1961 g) genotipi verirken, en hafif meyveler Urfa Yerli (830 g) genotipinden elde edilmiştir. Acceste F₁ genotipinde bu değer 1808 g olurken, Sakız genotipinde 1660 g olarak ölçülmüştür.

Denemede yer alan 25, 50, 75, 100, 200, 300 ve 400 Gy ışın dozlarıyla ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu yüksek ışın dozlarında meyve tutumunda belirgin azalmalar olmuş, 25-100 Gy arası ışın dozlarında meyve tutumu % 46-58 arasında olurken, 200 Gy ve yukarıdaki ışın dozlarında bu değer % 9-19 arasında gerçekleşmiştir. Işın dozunun yükselmesi, meyvelerdeki tohum ve embriyo sayısı üzerine de olumsuz etkide bulunmuştur. 75 ve 100 Gy ışın dozlarıyla yapılan tozlamalardan çok az tohum elde edilmiş, elde edilen tohumların tamamı ise boş çıkmıştır. 200 Gy ve üzerindeki dozlarda elde edilen meyvelerin ise büyük kısmında hiç tohuma rastlanmamıştır. Işın dozunun artışına paralel olarak meyve tutumu, meyve ağırlığı ve tohum sayısında azalmaların meydana geldiği ve embriyoların düşük ışın dozlarında elde edildiği bir çok araştırmacı tarafından da ortaya konmuştur

(Raquin, 1986; Rode ve Dumas de Vault, 1987; Sauton ve Dumas de Vault, 1987; Niemirowicz-Szczytt ve Dumas de Vault, 1989; Badea ve ark., 1990; Gürsöz, 1990; Zhang ve Lespinasse, 1991; Cuny ve ark., 1992; Sarı, 1994; Çağlar, 1995).

Işınlanmış polenlerle tozlamadan yaklaşık 4-5 hafta sonra hasat edilen meyvelerden elde edilen tohumların büyük bir çoğunlunun normale göre biraz daha yumuşak ve içlerinin boş olduğu belirlenmiş, çok az sayıdaki tohumda ise değişik gelişim safhalarındaki embriyolara rastlanmıştır. Özellikle 25 Gy dozuyla ışınlanmış polenlerle tozlamalarda embriyo ve endosperm içeren dolu tohumlar da elde edilmiştir. Bu sonuç ışığında melezleme etkisi yapan ışın dozunu saptamak amacıyla yapılan ve sonuçları sunulmayan bir diğer çalışmada ise 10, 20, 30 ve 40 Gy dozlarıyla ışınlanmış polenlerle tozlamalar yapılmış, 30 ve 40 Gy ışın dozuyla tozlamalardan elde edilen meyvelerin bazılarında (1-2 adet/meyve), 20 Gy ışın dozuyla tozlamalardan elde edilen meyvelerin büyük çoğunluğunda (12-28 adet/meyve), 10 Gy ışın dozuyla tozlamalardan elde edilen meyvelerin tamamında (30-74 adet/meyve) dolu tohuma rastlanmıştır. Ancak, 10 Gy ışın dozunda dahi meyve içerisindeki tohumların tamamının dolu olmaması ve çok az da olsa birkaç embriyoya rastlanması kabak türünde ışınlamanın çok düşük dozlarda dahi etkili olduğunu göstermiştir.

Elde edilen tohumların tek tek açılarak incelenmesi, araştırmanın uzun zaman alan ve en yorucu kısmını oluşturmuştur. Savin ve ark. (1988) tarafından geliştirilen; Sauton ve ark. (1988) ile Sarı (1990) tarafından kullanılan “X” ışını yöntemi tohumlardaki embriyoların saptanmasında kolaylık sağlamaktadır. Bu yöntemin ülkemizde de kullanılması olaya pratiklik ve çabukluk getirmesi açısından önemlidir.

Daha önceki çalışmalarda kullanılan ve yüksek oranda embriyo elde edilen en elverişli ışın dozları karpuz, kavun ve hıyar için 200-300 Gy, çilek (Caranta, 1992) için 100-200 Gy gibi yüksek dozlar olurken, çalışmamızda, çok daha düşük dozlar olan 25 ve 50 Gy dozlarından embriyolar elde edilmiştir. Çünkü kabak, bitki türleri içerisinde en iri polenlere (ortalama 180 µm) sahip türlerden birisidir (Shridhar, 1992) ve Brewbaker ve Emery (1962) ile Alison ve Casareft (1968)’in de belirttiği gibi polen iriliği arttıkça radyasyona duyarlılık artmaktadır. Araştırmacıların bu

bulguları ışığında polen iriliğinin artışına paralel olarak embriyo uyartımını sağlayacak ışın dozunun da düşürülmesi gerektiğini söylemek mümkündür. Fakat, **Sandi (1998)**'nın kabuksuz çerezlik kabaklarda Sezyum¹³⁷ kaynağı ile 300 ve 350 Gy dozunda ışınladığı polenlerle yaptığı tozlamalardan embriyo ve endosperm içeren dolu tohumlar elde ettiğini ve bu dozların melezleme etkisi yaptığını bildirmesi embriyo uyartımı üzerine ışın dozları dışında ışın kaynağının türünün de önemli olabileceği düşüncesini ortaya koymaktadır. Ancak, bu düşüncelerin mantıklı bir şekilde açıklanması için kabak polenlerinin fizyolojileriyle ilgili bilinmeyenlerin ortaya konması gerekmektedir.

Kullanılan 4 genotipte de araştırma süresince embriyolar elde edilmiş ve meyve başına toplam embriyo sayısı bakımından genotipler arasında farklılıklar olduğu bulunmuştur. Sakız genotipi meyve başına 7.1 adet embriyo ile en fazla embriyo elde edilen çeşit olmuş, Urfa Yerli genotipi 5.8 adet ve Eskenderany F₁ genotipi ise 4.9 adet ile bunu izlemiştir. En az embriyo ise 3.6 adet ile Acceste F₁ genotipinden alınmıştır.

Embriyo uyartımı üzerine ayların da etkili olduğu saptanmıştır. Meyve başına embriyo sayısı en fazla eylül (7.7 adet) ayında elde edilmiş, bunu haziran (5.7 adet) ve mayıs (5.1) ayları izlemiştir. Ağustos (3.4 adet) ve temmuz (2.3) ayları ise en az embriyonun elde edildiği aylar olmuştur. Zira bu aylarda bölge koşullarında ortaya çıkan yaprak biti epidemileri dolayısıyla ZYMV'nin yaygınlaşması bitkilerin sağlıklı bir şekilde yetiştirilmesini önlemiş ve istenilen sonuçlar alınamamıştır. Bölgede afitlere karşı etkili kimyasal (sistemik insektisitler) mücadele, tül seralar veya ZYMV'ye karşı aşılama ile yeterli korunma sağlandığı takdirde bu aylarda da başarılı sonuçlar alınacağı görüşündeyiz.

İki yıllık çalışma sonucunda tohumlardan çıkarılan sert yapılı 1519 adet embriyonun % 29.8'i (452 adet) kotiledon safhasında, % 18.8'i (286 adet) globüler safhada, % 14.5'i (220 adet) nokta safhasında, % 12.1'i (184 adet) ok ucu safhasında, % 8.0'i (121 adet) torpedo safhasında, % 7.2'si (109 adet) şekilsiz yapıda, % 4.9'u (75 adet) çubuk safhasında ve % 4.9'u (75 adet)'da yürek safhasında saptanmıştır.

Yürek safhasındaki embriyoların % 85.3'ü, torpedo safhasındaki embriyoların % 63.6'sı, kotiledon safhasındaki embriyoların % 49.8'i, çubuk safhasındaki

embriyoların % 41.3'ü, ok ucu safhasındaki embriyoların % 33.7'si, şekilsiz yapıdaki embriyoların % 30.3'ü, globüler safhadaki embriyoların % 23.8'i, nokta safhasındaki embriyoların ise % 10.0'u köklenmiştir. Köklenen embriyoların bitkiye dönüşüm oranları ise sırasıyla, % 50.7, % 33.1, % 37.2, % 25.3, % 12.0, % 10.1, % 7.34 ve % 2.3 olarak gerçekleşmiştir. Genel olarak, embriyo gelişim safhası ilerledikçe köklenme ve bitkiye dönüşüm oranlarında bir artış olmuş, benzer sonuçlar bitkiye dönüşüm süreleri ile ilk mikroçelikleme gelme sürelerinde de elde edilmiştir. Nitekim, **Cuny ve ark. (1992)** kavunda yürek formundaki embriyoların bitkiye dönüşüm sürelerinin globülerlere göre 2-3 kat daha az olduğuna işaret etmiştir. **Çağlar ve Abak (1999)** da yürek ve kotiledon safhalarında bulunan embriyolarda bitkiye dönüşüm oranının % 40-71 arasında değiştiğini ve bu tip embriyoların 3.5 günde bitkiye dönüştüğünü, globüler safhadaki embriyolarda ise bu değerlerin sırasıyla % 28 ve 7.4 gün olduğunu bildirmiştir.

Araştırmanın özellikle ikinci yılında çok sayıda sert yapılı embriyo kültüre alınmasına rağmen, bunlardan çok az sayıda bitki elde edilmesi nokta ve globüler safhadaki embriyoların köklenme ve bitkiye dönüşüm oranlarının oldukça düşük olmasından, zaten az sayıda olan bitkilerin de alıştırma aşamasında elden çıkmasından kaynaklanmıştır. Ayrıca fungus ve bakteri bulaşması sonucunda da kayıplar olmuştur.

Toplam embriyo içindeki sert-nekrotik embriyo oranları bakımından genotipler arasında önemli bir farklılık olmamıştır. Denemede elde edilen toplam embriyoların yaklaşık olarak % 25.7 kadarı nekrotik olmuştur. Bitkiye dönüşebilecek yapıda olan sert beyaz embriyolar tüm çeşitlerde çoğunlukla eylül ayında elde edilmiştir. Sert-nekrotik embriyo oranını mevsim ile birlikte bitkilerin yetiştirme koşullarının da etkileyebileceği düşünülmelidir. Nitekim, **Sauton (1988)** da ana ebeveynin içinde bulunduğu fizyolojik koşulların ve viral enfeksiyonların abort embriyo oluşumunu arttırdığını vurgulamıştır. Özellikle sıcak dönemlerde (haziran) karpuz (**Sarı ve ark., 1994**) ve hıyar (**Çağlar, 1995**)'da da olduğu gibi nekrotik embriyo sayısında artış olması, eylül ayında ise elde edilen nekrotik embriyo sayısının yok denecek kadar az bulunması yukarıdaki düşünceleri doğrular niteliktedir.

Sarı (1994) da karpuz türünde 4 çeşitle yaptığı araştırmasında bizim kabakta saptadığımıza benzer şekilde ana genotipin haploid embriyo uyartımı üzerine önemli etkide bulunduğunu saptamıştır. **Brun (1990)** de kavun türünde yaptığı çalışmasında benzer sonuçlara işaret etmiştir.

In vitro'da kültüre alınan sert beyaz renkli embriyoların çoğu köklenip normal bir bitkiye (kök + sürgün + yaprak) dönüşürken, bazıları anormal gelişmeler göstermiştir. Bu embriyolardan kallus benzeri yapılar oluşturan, kotiledon yaprak oluşturduğu halde sürgün oluşturmayan ve etli bir gövde oluşturarak bu gövde üzerinde küçük yaprakçıklar oluşturan, kök ve/veya çok iri kotiledon yapraklar oluşturduğu halde sürgün oluşturmamayan embriyolara da rastlanmıştır. Bu oluşumlar taze ortam üzerine alınmalarına karşın hiçbir zaman tam bir bitkiye dönüşememiş ve bir süre sonra ölmüşlerdir. Bu tip gelişmelerin embriyonun elde edildiği ana ebeveynin yetiştirme koşullarının bozukluğundan veya kültür odası koşullarındaki ani ısı değişimlerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim, **Sauton (1988)** kavunda, **Çağlar (1995)** ise hıyarda yaptıkları çalışmalarda bu tip oluşumların bitki sağlığının bozulduğu dönemlerde ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

In vitro'da gelişen bitkilerin dış ortama çıkarılması için bir alıştırma devresi gerekmektedir (**Çetiner, 1992**). 1997 yılı çalışmalarında, bir alıştırma devresi geçirilmeksizin plastik örtüler veya kavanoz altına alınan bitkilerde, plastik örtüler ve kavanozlar aşama aşama açılmasına rağmen, her iki şekilde de yaşama şansı az (% 12.5 ile % 50.0 arasında) olmuştur. Bu olumsuz sonucun görülmesi üzerine 1998 yılı çalışmalarında, bitkiler daha kavanoz veya tüplerde iken 3-4 hafta süreyle tüp veya kavanoz kapakları aşama aşama açılmış ve dış ortama iyice alıştıkları düşünülen bitkiler ilk önce plastik kaplara daha sonra da plastik saksılara şaşırtılmıştır. Bu yöntemle genotipe ve aylara bağlı olarak % 23 ile % 75 arasında tutum gerçekleşmiştir. **Sarı (1994)** da karpuzda yaptığı çalışmasında ön alıştırma devresinden geçirilmeden dış ortama aldığı bitkilerin tamamının kuruduğunu, ön alıştırma devresinden geçirilerek dış ortama alınan bitkilerde ise % 50-60 tutum gerçekleştiğini bildirmiştir.

Eskenderany F₁ genotipinde sert yapılı toplam 600 adet embriyodan 121 adet, Sakız genotipinde sert yapılı toplam 470 adet embriyodan 104 adet, Urfa Yerli

genotipinde sert yapılı toplam 149 adet embriyodan 46 adet ve Acceste F₁ genotipinde sert yapılı toplam 300 adet embriyodan ise 54 adet bitki elde edilmiştir. Ancak, yapılan sitolojik analizler sonucunda elde edilen bitkilerin tümünün haploid ($n=20$) yapıda olmadıkları görülmüş, bir kısım diploid ($2n=2x=40$) bitkiye de rastlanmıştır. Bitkilerin ploidi düzeylerinin embriyo gelişim safhalarına göre farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Nokta, globüler, çubuk ve ok ucu safhalarındaki embriyolardan elde edilen bitkilerin tamamı haploid yapıda olurken, embriyo gelişim safhasının ilerlemesine paralel olarak diploid bitki sayısı artmış, kotiledon safhasındaki ve şekilsiz yapıdaki embriyolardan elde edilen bitkilerin ise tamamı diploid yapıda bulunmuştur. Bu embriyoların diploid olma nedeni olarak iki şey düşünülebilir. Büyük bir olasılıkla spontan olarak katlanma ve bundan dolayı diploidleşme ilk akla gelen düşünce olmakla birlikte, kabağın iri polenlere sahip olması dolayısıyla ışınlamanın homojen yapılamamış olması ve ışının tüm polenlere etki etmemiş olmasıyla da durumu açıklamak mümkündür. Bu durumun ya moleküler olarak parmak izi yöntemleri ile ya da saf çeşit polenleri ile tozlama yoluyla açıklığa kavuşturulması ilerideki çalışmaların konusu olmalıdır.

Buna göre, iki yıl boyunca yapılan çalışmalarda, Eskenderany F₁ genotipinde 43, Sakız genotipinde 27, Urfa Yerli genotipinde 13 ve Acceste F₁ genotipinde 10 adet olmak üzere toplam 93 adet haploid bitki elde edilmiştir. Ancak dış ortama alıştırma sırasında bitkilerin çoğu kaybedilmiştir.

Bu çalışmada “Haploid Üretim Etkinliği” (**Chen ve Hayes, 1991; Çağlar ve Abak, 1999**), haploid bitki/100 tohum, haploid bitki/100 embriyo ve haploid bitki/meyve oranları dikkate alınarak incelenmiştir.

100 tohumdaki haploid bitki sayısı bakımından genelde eylül ve haziran ayları etkili olmuştur. 100 tohumdaki haploid bitki sayısı genotiplere ve aylara göre 1997 yılında 0.8 ile 2.5, 1998 yılında ise 0.2 ile 1.1 arasında değişmiştir. Bu açıdan en yüksek değerler 1997 yılında Eskenderany F₁ genotipinde 2.5 ile eylül ayında, 1998 yılında ise Sakız genotipinde 1.1 ile yine eylül ayında elde edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen 100 tohumdaki haploid bitki sayıları **Çağlar (1995)**’ın hıyarda elde ettiği sonuçlara yakın, **Sauton (1988 ve 1989)**’un kavun ve hıyarda elde ettiği sonuçlardan yüksektir.

100 embriyodaki haploid bitki sayısı açısından yine eylül ve haziran ayları etkili olmuştur. 100 embriyodaki haploid bitki sayısı genotiplere ve aylara göre 1997 yılında 8.3 ile 18.2, 1998 yılında ise 1.8 ile 13.0 arasında değişmiştir. Bu açıdan en yüksek değerler 1997 yılında Eskenderany F₁ genotipinde 18.2 ile eylül ayında, 1998 yılında ise Urfa Yerli genotipinde 13.0 ile haziran ayında elde edilmiştir. 100 embriyodaki haploid bitki sayısı bakımından değişik türlerde % 2.2 ile % 57 arasında sonuçlar bildirilmiştir (**Doré, 1989; Gürsöz, 1991; Maestro-Tajeda, 1992; Sarı, 1994; Çağlar ve Abak, 1999**).

Haploid üretim etkinliği açısından incelenen bir diğer özellik olan meyve başına haploid bitki sayısı aylara ve genotiplere göre değişiklik göstermiş, en yüksek değerler haziran ve eylül aylarından elde edilmiştir. Meyve başına en fazla haploid bitki sayısı 0.66 ile Sakız genotipinden elde edilmiş, bunu 0.65 ile Urfa Yerli, 0.62 ile Eskenderany F₁ ve 0.22 ile Acceste F₁ genotipi izlemiştir. **Sarı ve ark. (1994)** karpuzda meyve başına yaklaşık 0.7 adet, **Çağlar ve Abak (1999)** ise genotiplere ve aylara göre değişmekle birlikte hıyarda meyve başına 0.2 ile 1.2 arasında haploid bitki elde etmişlerdir.

Haploid üretim etkinliğini belirlemek amacıyla incelenen bu üç kriter dikkate alındığında; kabak türünde haploid bitki eldesinde en uygun ayların haziran ve eylül ayları olduğu, en başarılı sonuçların ise eylül ayında alındığı ortaya çıkmaktadır. Bölge koşullarında ise sağlıklı bitkiler yetiştirilebildiği takdirde mayıs, temmuz ve ağustos aylarında da başarılı sonuçlar alınacağı unutulmamalıdır. Elde edilen bitkilerin ploidi düzeyleri sitolojik (kök ucu kromozom sayımları ve stomaların incelenmesi) ve morfolojik olarak belirlenmiştir.

Bitkilerin kromozom düzeylerinin daha *in vitro*'da iken belirlenmesi oldukça büyük önem taşımaktadır. Ancak bu aşamadaki bitkilerin büyük bir çoğunluğu çok ince saçak kökler oluşturduğundan klasik kromozom sayımları zorlaşır ve uzun süre alır. Bu nedenle ploidi düzeylerinin belirlenmesi için son yıllarda bir çok araştırmacı tarafından değişik türlerde uygulanan ve kısa sürede kesin sonuç verdiği bildirilen "flow sitometri" yönteminden de yararlanılmaya çalışılmıştır (**Brown ve ark., 1991; Cuny ve ark., 1992; Sarı ve ark., 1994**). Bu amaçla elde edilen bitkilerden bir kısmı Fransa'daki INRA (Ulusal Tarımsal Araştırma Enstitüsü) araştırma kuruluşunda

testlenmiş, ancak sonuçlar yorumlanabilir olmamış ve güvenilir bulunmamıştır. Elde edilen sonuçlar yöntemin kabak türü için de geliştirilmesi gereğini ortaya koymuştur. Nitekim, **Ollitraut-San Marcelli ve ark. (1994)** kivide, **Çağlar (1995)** ise hıyarda yöntemin geliştirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Elde edilen bitkilerin ploidi düzeyinin belirlenmesinde, kromozom sayımlarına alternatif olabileceği düşünülen stomatal kriterlerin kullanılabilirliği de araştırılmıştır. Yapılan ölçüm ve gözlemlerde haploid bitkilerde 1 mm² yaprak alt epidermisinde ortalama 402.6 adet, diploid bitkilerde ise 294.9 adet stoma bulunmuştur. Stoma boyu ve çapı haploid bitkilerde sırasıyla, ortalama 19.56 µm ve 14.88 µm; diploid bitkilerde 29.69 µm ve 19.75 µm olarak ölçülmüştür. Haploid bitkilerin iki bekçi hücresinde toplam 6-8 adet, diploid bitkilerde 10-12 adet kloroplast sayılmıştır.

Farklı türlerde ploidi düzeyinin belirlenmesinde stoma özelliklerini inceleyen birçok araştırmacı da ploidi düzeyi yükseldikçe birim alandaki stoma sayısının azaldığını, stoma boyutlarının arttığını ve stoma bekçi hücrelerindeki kloroplast sayılarının fazlaştığını bildirmişlerdir (**Emiroğlu, 1980 ve 1982; Doré, 1986; Rode ve Dumas de Vault, 1987; Doctrinal ve ark., 1989; Brown ve ark., 1991; Sarı, 1994; Abak ve ark., 1998; Sarı ve ark., 1998**). Bu sonuçlar, kabak türünde ploidi düzeyinin belirlenmesinde stoma özelliklerinin iyi bir kriter olabileceğini göstermektedir.

Stoma özelliklerinin yanında, haploid bitkilerin yaprak boyu ve eninin (ortalama 22.3 ve 19.5 cm) diploid bitkilerinkinden (ortalama 40.8 ve 34.6 cm) daha küçük olduğu saptanmıştır. Yaprak sapı cep açıları ölçülmemesine rağmen, diploidlerin haploidlere oranla çok daha dar yaprak sapı cep açısına sahip oldukları belirlenmiştir.

Ploidi düzeyinin tespitinde sitolojik incelemelere ek olarak morfolojik gözlemler de yapılmıştır. Haploid bitkiler, diploidler gibi çiçek oluşturmuş ancak, oluşan çiçekler morfolojik ve fizyolojik olarak farklılıklar göstermişlerdir. Haploid bitkilerin erkek çiçekleri diploidlere göre daha küçük yapılmış, anterlerinde polen taşımadıkları ve açmadan kuruyarak döküldükleri belirlenmiştir. Benzer durum dişi çiçeklerde de ortaya çıkmış, haploid bitkilerin dişi çiçekleri diploidlere nazaran daha

küçük görünüşlü, çok az gelişmiş bir stigmaya ve yumurtalığa sahip olmuşlardır. Haploid bitkilerin dişi çiçeklerinde diploid bitkilerin polenleri kullanılarak yapılan kontrollü tozlamalarda, hiçbir dişi çiçeğin meyve bağlamadığı tespit edilmiştir.

Haploid kabak bitkilerinin dihaploid duruma getirilmesinde, % 0.5 doz ve 4 saat süreyle kolhisin uygulamasının uygun olacağı belirlenmiştir. Bu sonuç **Sarı (1994)** ve **Sarı ve ark. (1994)**'nın karpuzda, **Çağlar (1995)**'in hıyarda buldukları sonuçlarla da uyum içerisindedir. **Abak ve ark. (1996)** ise kavunda en uygun doz ve sürenin % 0.5 - 2 saat olduğunu belirtmişlerdir.

Kabak türünde partenogenetik haploid bitki eldesinde ışınlama yerine geçebileceği düşünülen türlerarası tozlamalar, polenlere kimyasal uygulamaları ile anter ve ovül kültürleri üzerinde de durulmuştur.

Türlerarası tozlamalarda, genotiplerin, polen kaynağı olarak kullanılan türlere karşı oldukça farklı tepkileri olmuştur. Araştırma süresince Eskenderany F_1 genotipinde farklı türlere ait polenlerle tozlama sonucu 11 adet meyve elde edilmiştir. Bu meyvelerden 1'i karpuz, 3'ü kavun, 2'si hıyar, 2'si kestane kabağı (*Cucurbita maxima* L.) ve 3'ü de bal kabağı (*Cucurbita moschata* L.) ile tozlamalardan gelmiştir. Aceste F_1 genotipinde elde edilen 29 adet meyveden 5'i karpuz, 10'u kavun, 1'i hıyar, 5'i kestane kabağı ve 5'i de bal kabağı ile tozlamalardan, Sakız genotipinde elde edilen 15 adet meyvenin tamamı da bal kabağı ile tozlamalardan gelmiştir. Urfa Yerli genotipi ise türlerarası tozlamalara hiçbir cevap vermemiştir. Sadece Sakız x *C. moschata* tozlamasından elde edilen meyvelerden tamamı kotiledon safhasında bulunan embriyolar elde edilmiş ve bitkiye dönüştürülen embriyolardan tamamı diploid yapıda (melez) bulunmuştur. **Metwally ve ark. (1996)**'da *C. pepo* x *C. martinezii* tozlamasından elde ettikleri olgunlaşmamış dönemdeki embriyolardan diploid yapıda melez bitkiler elde etmişlerdir.

Diğer türlere ait tozlamalardan elde edilen meyvelerin tamamının tohum taşımadığı, sadece iz şeklinde tohum taslaklarına sahip oldukları belirlenmiştir. Türlerarası tozlamalar yoluyla arpa (**Kasha ve Kao, 1970**), kavun (**Dumas de Vaulx, 1979**) ve şikori (**Doré ve ark., 1996**) türlerinde haploid bitkiler oluşurken, karpuz (**Sarı, 1994**) türünde ise başarı sağlanamamıştır.

Türlerarası tozlamalarda, yüksek dozlardaki ısıtılmış polenlerle tozlamalardaki gibi, içleri tamamen boş, yalnızca iz şeklinde tohum taslakları içeren meyvelerin elde edilmesi, kabak türünün partenokarpik meyve bağlama yeteneğinin bulunduğunu ve bunun da genotiplere göre farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Zira kabaklarda partenokarpinin resesif karakter olabileceği, partenokarp gelişen meyvelerin çok hızlı büyümedikleri (Nijs ve Balder, 1983), bitkinin diğer organlarıyla fazla rekabet edemedikleri, hasat programlarının daha seyrek olduğu (Nijs ve Veldhuyzen van Zanten, 1982), kısa gün ve düşük gece sıcaklığının da hıyar ve kabaklarda partenokarpiyi teşvik ettiği (Nitsch ve ark., 1952; Globerson, 1971; Rylski, 1974) bildirilmektedir.

Nitekim, Nijs ve Veldhuyzen van Zanten (1982) 6 farklı kabak genotipi ile yaptıkları partenokarpi denemesi sonucunda, genotiplere göre değişmekle birlikte bitki başına ortalama 365 g ile 1420 g arasında verim almışlardır. Atasayar ve Vural (1995) da 3 hibrit kabak genotipi ile yaptıkları partenokarpi çalışmasında Eskenderany F₁ genotipinden 967 g/bitki, Jedida F₁ genotipinden 1088 g/bitki ve Saray F₁ genotipinden ise 1192 g/bitki verim elde etmişlerdir.

Polenlere uygulanan kimyasallardan ne toluidin mavisi, ne kolhisin, ne de su uyartım sağlamış ve bu yolla hiçbir meyve elde edilememiştir. *Vinca rosea* (Rogers ve Ellis, 1966) polenlerine toluidin mavisi ve *Solanum tuberosum* (Montelongo-Escobedo ve Rowe, 1969) polenlerine kolhisin uygulamaları polen çimlenmesini engellemezken, *Citrullus lanatus* (Sarı, 1994)'da ise polen tüpü gelişimi gözlenmemiştir.

Anter ve ovül kültürü çalışmalarıyla haploid bitki elde edilememiştir. Anter kültürü sonucunda 3 bitki elde edilmiş, ancak bu bitkilerin diploid yapıda olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, kabak türünde, anter ve ovül kültürü çalışmaları haploidi açısından ümitvar bulunmamıştır. Sandı (1998) da, 3 farklı oksin (IAA, NAA ve 2,4-D) ve 1 sitokinin (BA) kombinasyonlarını denediği araştırmasında kabuksuz çerezlik kabak anterlerini MS ortamında kültüre almış, kallus veya embriyo regenerasyonu sağlayamamakla birlikte, 2,4-D'nin 5 mg/l dozunun ümitvar olduğunu belirtmiştir. Metwally ve ark. (1998 a ve b) ise kabak türünde anter ve ovül kültürü neticesinde bitkiler elde ettiklerini ve bu bitkilerden yaklaşık 1/3'ünün haploid yapıda olduğunu

bildirmişlerdir. Anter ve ovül kültürü denemelerimizde **Metwally ve ark. (1998 a ve b)** tarafından önerilen protokol kullanılmasına rağmen, sonuçlar benzer olmamıştır. Yaptığımız sözlü görüşmelerde Hollanda'lı bir tohum firması da aynı çeşitle (Eskenderany F₁) aynı protokolü denediğini, ancak haploid bitki elde edemediğini bildirmiştir.

Sonuç olarak, ısıtılmış polen kullanımıyla embriyo uyartımının sağlanmış olması ve toplam 93 adet haploid bitkinin elde edilmesi, kabak türünde haploid bitki eldesi amacıyla ısıtılmış polen yönteminin gelecek için ümit verici olduğunu ve ıslah programlarında kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte haploidi frekansının yükseltilmesi için, tamamen haploid bitki veren, ancak bitkiye dönüşümleri oldukça düşük olan nokta ve globüler safhadaki embriyoların bitkiye dönüşüm oranlarını yükseltmek amacıyla besi ortamının yapısının ve kültür koşullarının daha da iyileştirilmesi üzerinde çalışılmalıdır. Ayrıca, sert-nekrotik embriyo oranı üzerinde önemli etkiye sahip olan ana ebeveynin yetiştirme koşullarının iyileştirilmesi, elde edilen bitkilerde büyük kayıplara yol açan dış koşullara alıştırma sürecinin bir modele oturtulması yöntemin başarısını ve pratikliğini arttıracaktır.

Diğer taraftan, aynı dozda ısıtılmış polenlerle tozlanmalarına rağmen bir meyveden 40'a yakın sayıda embriyo elde edilmesi fakat bir diğerinden hiç embriyo elde edilememesi ya da çok az sayıda embriyo elde edilmesi, elde edilen embriyolardan gelişen bitkilerin ise ploidi düzeylerinin embriyoların gelişim safhalarına göre değişiklik göstermesi henüz bilemediğimiz ve açıklanmayı bekleyen bazı kritik durumların bulunduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- AALDERS, K.E., 1958. Monoploidy in cucumbers. Journal Heredity, 49, 41-44.
- ABAK, K., 1982. Biberlerde kökboğazı yanıklığına dayanıklılığın kalıtımı üzerinde araştırmalar. A.Ü. Ziraat Fak. Doçentlik Tezi, Ankara, 62 s.
- ., 1983. Biberde (*Capsicum annuum* L.) anter kültürü yoluyla bitki elde etme üzerinde araştırmalar. A.Ü.Z.F. Yıllığı, 33, 155-163.
- ., 1985. "Serrano Criollo de Morelos" ve "PM 217" biber çeşitlerindeki *Phytophthora capsici*'ye dayanıklılık özelliklerinin düşük ve yüksek sıcaklıklarda değişimi. 4. Fitopatoloji Kongresi, 8-11 Ekim 1985, İzmir.
- ., 1988. Türkiyede bitki ıslahı çalışmalarında *in vitro* tekniklerden yararlanma. I.Uluslararası Tarım ve Biyoteknoloji Simpozyumu, 1-3 Haziran 1988, Ç.Ü., Adana, 7 s.
- ., İŞBECEREN, A., GÜLER, H.Y., 1992. Bazı dihaploid biber hatları ile bunların F₁ melezlerinin verim, erkencilik ve *Phytophthora capsici*'ye direnç bakımından karşılaştırılması. Türkiye 1.Ulusal Bahçe Bit. Kong. Bild.,13-16 Ekim 1992, İzmir, Doğruluk Mat., Cilt II, 293-296.
- ., 1993. Biber ıslahında anter kültüründen yararlanma. Bitki Islahı Simp. Bildirileri, TÜBİTAK TOAG Yay., 59-66.
- ., SARI, N., PAKSOY, M., YILMAZ, H., AKTAŞ, H., TUNALI, C., 1996. Kavunda ışınlanmış polen tozlamaları ile haploid embriyo uyartımında genotip etkisi, dihaploid hatların oluşturulması, haploid ve diploid bitkilerin değişik yöntemlerle ayrımı. Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi, 20, 425-430.
- ., SARI, N., BÜYÜKALACA, S., DERİN, K., TUNALI, C., 1997. Effects of pollen irradiation on pollen viability and germination in some cucurbit crops. 1st Balkan Botanical Congress, 19-22 September 1997, Thessaloniki – Greece, Abstracts, 137.

- , ÇÖMLEKÇİOĞLU, N., BÜYÜKALACA, S., SARI, N., 1998. Use of stomatal characteristics to estimate ploidy level of haploid and dihaploid pepper plants. Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant, 1998, Avignon-France, 179-182.
- ALISON, A., CASAREFT, P., 1968. Radiation Biology. United States Atomic Energy Commission Washington D.C., 368 p.
- ANONYMOUS, 1996. Türkiye İstatistik Yıllığı. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Matbaası, Yayın No: 2137, Temmuz 1998, Ankara.
- ASSELIN DE BEAUVILLE, M., 1980. Obtention d'haploides in vitro à partir d'ovaires non fécondés de Riz, *Oryza sativa*. L.C.R. Acad.Sci., Paris, 290, 489-492.
- ATASAYAR, A., VURAL, H., 1995. Ticari kabak varyetelerinin partenokarp meyve verme düzeyleri üzerine bir araştırma. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Cilt II, 203-206.
- AYDIN, Ö.A., 1998. Kabakgil türlerinde çiçek tozu muhafaza süresinin belirlenmesi. A.Ü. Ziraat Fakültesi Diploma Tezi, Ankara, 10 s.
- BADEA, E.M., VRINCEANU, V., RANCU, P., 1990. The influence of the genotype and pollinisation with irradiated pollen on the gynogenesis of sunflower. VII. International Congress on Plant Tissue and Cell Culture, IAPTC, June 24-29 1990, Amsterdam, Abst., 193.
- BAILEY, L.H., 1950. *Cucumis*. The Standart Cyclopedia of Horticulture, Vol. 1. The Macmillan Comp., New York, 824-826.
- BAJAJ, Y.P.S., 1983. *In vitro* production of haploids. In: Handbook of Plant Cell Culture (eds: Evans, D.A., Sharp, W.R., Ammirato, P.V., Yamada, Y.). Macmillan Publishing Company, Vol. 1., Chapter 6, 228-287.
- BHOJWANI, S.S., RAZDAN, M.K., 1983. Plant tissue culture. Theory and Practise. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 502 p.
- , 1990. Plant tissue culture: Applications and Limitations. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, 460 p.

- BİLGE, E., 1981.** Genetik. İstanbul Üniv. Yay. No: 2886, Fen Fak. Yay. No: 163, 316 s.
- BLAKESLEE, A.F., BELLING, J., FARNHAM, M.E., BERGNER, A.D., 1922.**
A haploid mutant in the Jimson weed, *Datura stramonium*. Science, 55, 646-647.
- BLANCARD, D., LECOQ, H., PITRAT, M., 1995.** Kabakgiller Hastalıkları. Hasad Yayıncılık, 292 s.
- BORGEL, A., FAVIER, F., BERGOUNIOUX, C., 1990.** Mixoploidy in plants obtained by haplomethod, cytometric DNA quantitative analysis. VII. International Cong. on Plant Tissue and Cell Culture, 24-29 June 1990, Amsterdam, Abst., 174.
- BORNMAN, C.H., 1985.** Haploidization of sugarbeet (*Beta vulgaris*) via gynogenesis. *In vitro*, 21, 36A.
- BOSSOUTROT, D., HOSEMANS, D., 1985.** Gynogenesis in *Beta vulgaris* L. from *in vitro* culture of unpollinated ovules to the production of double haploid plantes in soil. Plant Cell Report, 4, 300-303.
- BOURGIN, J.P., NITSCH, J.P., 1967.** Obtention de *Nicotiana* haploides à partir d'étamines cultivées *in vitro*. Annual Physiol. Végét., 9: 377-382.
- BREWBAKER, J.L., EMERY, G.C., 1962.** Radiation Botany, Vol. 1, 101-105.
- BROWN, S.C., DEVAUX, P., MARIE, D., BERGOUNIOUX, C., PETIT, P.X., 1991.** Cytométrie en flux: application à l'analyse de la ploidie chez les végétaux. Biofutur, 105, 2-16.
- BRUN, P., 1990.** Etude de l'effet génotype sur l'obtention d'haploides par parthénogénèse induite par du pollen irradié chez le melon *Cucumis melo* L. et recherche préliminaire d'une alternative à l'irradiation. Mémoire (D.E.A.) option Sciences Agronomiques: Génétique et Biotechnologies, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires, Nancy, 29 p.
- BRUNNER, M., 1990.** Methods of induction of mutations. Symposium, June 1990, IAEA, Vienna, 62.

- CARANTA, C., 1992.** Essai d'induction de la parthénogénèse haploïde par du pollen irradié chez le fraisier cultivé (*Fragaria ananassa* Duch.) et étude du gametophyte femelle. Mémoire (D.E.A.) Option Sciences Agronomiques: Amélioration des Plantes, Faculté des Sciences de Luminy, Marseille, 15 p.
- CHAMBONNET, D., DUMAS DE VAULX, R., 1985.** Obtention of embryos and plants from *in vitro* culture of unfertilized ovules of *Cucurbita pepo*. Cucurbit Genetics Cooperative, 8, 66.
- , **1988.** Production of haploid pepper plants. Bulletin Interne de la Station d'Amélioration des Plantes Maraîchères d'Avignon-Montfavet, 1-10.
- CHEE, P.P., 1991.** Somatic embryogenesis and plant regeneration of squash (*Cucurbita pepo* L. cv. YC60). Plant Cell Rep., 9, 620-622.
- CHEN, F., HAYES, P., 1991.** Effect of exogenous plant growth regulators on *in vitro* seed growth, embryo development and haploid production in a cross between *H. vulgare* (L.) and *H. bulbosum* (L.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 26 (3), 179-184.
- CUNY, F., ROUDOT, A.C., 1991.** Germination et croissance pollinique *in vitro* du pollen de melon (*Cucumis melo* L.) après irradiations gamma. Environmental and Experimental Bot., 31, 277-283.
- , **1992.** Processus d'induction d'embryons haploïdes par du pollen irradié chez le melon (*Cucumis melo* L.) réponses du pollen à l'irradiation gamma. These de Docteur, Spécialité "Biologie et Cytologie Végétales" Univ. d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, 139 p.
- CUSTERS, J.B.M., DEN NIJS, A.P.M., 1983.** Mentor pollen in an interspecific cross in *Cucumis*: Effects of irradiation dose and of order of application of the two types of pollen. Cucurbit Genetics Cooperative, 6, 94-95.
- , **BERGERVOET, J.H.W., 1984.** Embryo size in *Cucumis sativus* x *C. melo* as affected by irradiation of pollen and genotype of the female parent. Cucurbit Genetics Coop., 7, 94-95.

- , BERGERVOET, J.H.W., 1988. *In vitro* culture methods for transferring characters from melon to cucumber. *Prophyta*, 1988, 42 (6), 150.
- ÇAĞLAR, G., 1995. Hıyarda (*Cucumis sativus* L.) ışınlanmış polenlerle tozlama yoluyla *in situ* haploid embriyo uyartımı ve haploid embriyolardan *in vitro* bitki eldesi üzerinde araştırmalar. Ç.Ü Fen Bil. Enst. Doktora Tezi, 227 s.
- ÇAĞLAR, G., ABAK, K., 1995. Farklı hıyar genotiplerinde ışınlanmış polenlerle uyartım yoluyla haploid embriyo ve bitki eldesi. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Cilt II, 159-162.
- ÇAĞLAR, G., ABAK, K., 1999. Hıyarda (*Cucumis sativus* L.) *in situ* uyartım sonucu elde edilen haploid embriyolardan *in vitro* haploid bitki oluşturma. Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi, 23, 28-290.
- ÇELİKTAŞ, N., HATİPOĞLU, R., 1997. Arpa (*Hordeum vulgare* L.) anter kültüründe genotip, soğuk uygulama süresi ve besi ortamı 2,4-D içeriğinin etkisi. Ç.Ü.Z.F. Dergisi, 12 (2), 163-172.
- ÇETİNER, S., 1992. Mikro çoğaltma. Bahçe Bitkileri Yetiştirme Tekniği (ed: M. Yılmaz). Ç.Ü. Basım., Adana, 140-151.
- DALE, P.J., 1975. Pollen diamorphism and anther culture in barley. *Planta* (Berl.), 127, 213-220.
- DARLINGTON, C.D., LA COUR, L.F., 1976. The handling of chromosomes. George Allen & Unwin Ltd., London.
- DEMİR, İ., 1990. Genel Bitki Islahı. E.Ü.Z.F. Yay. No:496, 366 s.
- DEMARLY, Y., SIBI, M., 1989. Amélioration des plantes et biotechnologies. John Libbey and Comp., London, 152 s.
- DENISSEN, C.J.M., DEN NIJS, A.P.M., 1987. Effects of gamma irradiation on *in vitro* pollen germination of different *Cucumis* species. *Euphytica*, 36, 651-658.
- DE WIT, J.C., ESENDAM, H.F., STRAVERS, L.J.M, AAPOLA, A., ELOMAA, P., HONKANEN, H., LJUNBERG, H., SEPPÄNEN, P.,

- TÖRMÄLÄ, T., 1990.** Gynogenesis in *Gerbera* from *in vitro* culture of unpollinated ovules to the production of double haploid plantes. VIIth International Congress on Plant Tissue and Cell Culture, 24-29 June 1990, Amsterdam, Abst., 203.
- DOCTRINAL, M., SANGWAN, R.S., SANGWAN-NORREEL, B.S., 1989.** *In vitro* gynogenesis in *Beta vulgaris* L.; Effects of plant regulators, temperature, genotypes and season. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 17, 1-12.
- DONINI, B., 1991.** Mutagenesis applied for the improvement of vegetatively propagated plant. FAO/IAEA. Interregional training course on the induction and use of mutations in plant breeding. 3 April-16 May 1991, Seibersdorf, 24 p.
- DORE, C., 1976.** Doublement du stock chromosomique d'haploïdes d'asperge (*Asparagus officinalis* L.) par culture *in vitro* des meristèmes en présence de colchicine. Ann. Amélior. Plantes, 26 (4), 647-653.
- , **1986.** Evaluation du niveau de ploidie des plantes d'une population de choux de Bruxelles (*Brassica oleracea* L. ssp. *gemmifera*) d'origine pollinique. Agronomie, 6 (9), 797-801.
- , **BOULIDARD, L., 1988.** Production de plantes androgénétiques de chou à choucroute (*Brassica oleracea* L. ssp. *capitata*) par culture d'anthers *in vitro*: comportement des lignées haploïdes doublées (HD) et leur intérêt comme parents d'hybrides F₁. Agronomie, 8 (10), 851-862.
- , **1989.** Obtention de plantes haploïdes de chou cabus (*Brassica oleracea* L. ssp. *capitata*) après culture *in vitro* d'ovules pollinisés par du pollen irradié. C.R. Acad. Sci., Paris, 309, Série III, 729-734.
- , **PRIGENT, J., DESPREZ, B., 1996.** *In situ* gynogenetic haploid plants of chicory (*Cichorium intybus* L.) after intergenic hybridization with *Cicerbita alpina* Walbr., Plant Cell Reports, 15, 758-761.
- DRYANOVSKA, O.A., ILIEVA, I.N., 1983.** *In vitro* anther and ovule cultures in muskmelon. R. Acad. Bulgar Sci., 36 (8), 1107-1110.

- DUMAS DE VAULX, R., 1979.** Obtention des plantes-haploides chez le melon (*Cucumis melo* L.) après pollinisation par *Cucumis ficifolius* A. Rich. Comptes Rendus de L'Académie des Sciences. Paris, Série D, 289, 875-878.
- , **CHAMBONNET, D., 1980.** Influence of +35 °C treatments and growth substances concentrations on haploid plant production through anther culture in *Capsicum annuum* L. IV. Congres Eucarpia Capsicum Working Group, 1980/10/14-16, Wageningen, 16-20.
- DUNWELL, J.M., 1985.** Haploid Cell Cultures. In: Plant Cell Culture-A Practical Approach (ed: R.A. Dixon). IRL Press Ltd., Chapter 2, 21-36.
- DÜZGÜNEŞ, O., EKİNGEN, H.R., 1974.** Genetik. A.Ü. Z.F. Yay. No: 555, 329 s.
- ELÇİ, Ş., 1994.** Sitogenetikte araştırma yöntemleri ve gözlemler. 100. Yıl Üniversitesi Yayınları, Yayın No: 18, 238 s.
- EMİROĞLU, Ü., 1980.** Türk tütün çeşitlerinde anter kültürü. Bitki Islahı Simp., (22-25/5/1979). Ege Bölge Zir. Araş. Enst. Yay. No:17/41, 12-18.
- , **1981.** Bitkilerde eşey kalıtımı. E.Ü.Z.F. Yay. No:402, 14.
- , **1982.** Haploidi ve bitki ıslahındaki önemi. E.Ü.Z.F. Yay. No: 450, İzmir, 38 s.
- , **GÜREL, A., 1993 a.** Bitki ıslahında modern biyoteknoloji. Short Course, The Biotechnology Revaluation. February 8-12, 1993. Organized by Ege Univ. Biotech. Cent and Fac. of Agr. Dept. of Crop Sci., İzmir, 103-110.
- , **SEKİN, S., BÜRÜN, B., 1993 b.** Anter kültüründen yararlanarak Ege Bölgesi tütünleri için yeni hatların geliştirilmesi. Bitki Islahı Simp., 15-17 Ekim 1986, İzmir, TÜBİTAK-TOAG Yay., 100-109.
- ETİ, S., STÖSSER, R., 1988.** Fruchtbarkeit der Mandarinensorte "Clemantine" (*Citrus reticulata* Blanco) I. Pollenqualität und Pollenwachstum. Gartenbauwissenschaft, 53(4), 160-166.
- FALQUE, M., KODIÇ, A.A., SOUNIGO, O., ESKES, A.B., CHARRIER, A., 1992.** Gama irradiation of cacao (*Theobroma cacao* L.) pollen: Effect on

pollen grain viability, germination and mitosis and fruit set. *Euphytica*, 64, 167-172.

FICCADENTI, N., VERONESE, P., SESTILI, S., CRINO, P., LUCRETTI, S., SCHIAVI, M., SACCARDO, F., 1995. Influence of genotype on the induction of haploidy in *Cucumis melo* L. by using irradiated pollen. *Journal Genetic and Breeding*, 49, 359-364.

FILEV, K.A., 1981. Utilization of induced mutations and gamma radiation in cross-breeding of durum wheat. In: *Induced Mutations-A Tool in Plant Research*. IAEA, Vienna, 504.

FINNIE, S.J., FORSTER, B.P., DYER, A.F., POWELL, W., 1990. The development and utilisation of anther culture technology in barley breeding. VIIth International Congress on Plant Tissue and Cell Culture, 24-29 June 1990, Amsterdam, Abst., 196.

GALLAIS, A., 1990. Théorie de la sélection en amélioration des plantes. INRA Ed., Paris.

-----, **BANNEROT, H., 1992.** Amélioration des espèces végétales cultivées. INRA Ed., Paris.

GÉMESNÉ JUHASZ A., SAGI, Z.S., SALAMON, P., SOMOGYI, N., ZATYKO, L., VENCZEL, G., 1998. Experiences and results of *in vitro* haploid methods application in pepper breeding programme. Xth EUCARPIA Meet. on Genet. and Breeding of Capsicum & Eggplant, Avignon, France.

GELEBARTH, P., SAN, L.H., 1987. Obtention de plantes haploides par culture *in vitro* d'ovaires et d'ovules non fécondés de tournesol (*Helianthus annuus* L.). *Agronomie*, 7, 81-86.

GLOBERSON, D., 1971. Effects of pollination on set and growth of summer squash (*Cucurbita pepo*) in Israel. *Expl. Agric. J.*, 7, 183-188.

GU, Z.P., CHENG, K.C., 1983. *In vitro* induction of haploid plantlets from unpollinated ovaries of lily and its embryological observations. *Acta. Bot. Sin.* 24, 24-28.

- GUHA, S., MAHESHWARI, S.C., 1964.** In vitro production of embryos from anthers of *Datura*. Nature, 204, 497.
- GUSSAKOVSKAYA, M.A., NAJAR, M.A., 1990.** Induction of haploid plantlets from unfertilized ovaies and ovules of wheat cultured in vitro. VIIth International Cong. on Plant Tissue and Cell Culture, 24-29 June 1990, Amsterdam, Abst., 186.
- GÜNAY, A., 1992.** Özel sebze yetiştiriciliği. A. Ü. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Cilt III.
- GÜRSÖZ, N., 1990.** Kavun (*Cucumis melo* var. *inodorus* ve *reticulatus*) ve karpuzda (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf) ışınlanmış polenle *in situ* partenogenetik embriyolardan *in vitro* kültürü ile haploid bitki eldesi. Ç.Ü. Fen Bil. Enst. Yüksek Lisans Tezi, Adana, 60 s.
- , **ABAK, K., PITRAT, M., RODE, J.C., DUMAS DE VAULX, R., 1991.** Obtention of haploid plants induced by irradiated pollen in watermelon (*Citrullus lanatus*). Cucurbit Genetic Coop., 14, 109-110.
- HATİPOĞLU, R., GENÇ, İ., YAĞBASANLAR, T., 1994.** Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) ıslahında anter kültüründen yararlanma olanakları üzerine araştırmalar. E.Ü.Z.F. Tarla Bit. Böl. Tarla Bit. Bilimi Derneği TÜBİTAK ve ÜSİGEM Bitki Islahı Kong. Bild., 25-29/Nisan/1998, Bornova, İzmir.
- HE, C.P., YANG, H.Y., 1988.** An investigation on the stability of synergid apogamy and its conditions in rice ovary culture. J. Wuhan Bot. Res., 6, 203-208.
- HERMSEN, J.G.T., RAMANNA, M.S., 1981.** Haploidy and plant breeding. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B., Vol. 292, 449-507.
- HONKANEN, J., AAPOLA, H., SEPPÄNEN, P., TÖRMÄLÄ, T., DE WIT, J.C., ESENDAM, H.F., STRAVERS, L.J.M., 1991.** Production of double haploid gerbera clones. Acta Hort., 300, 341-346.
- HOSEMANS, D., BOSSOUTROT, D., 1983.** Induction of haploid plants from *in vitro* culture of unpollinated beet ovules (*Beta vulgaris* L.). Z. Pflanzenzüchtg, Berling, 91, 74-77.

- ILLIES, Z.M., 1974.** Experimentaly induced haploid parthenogenesis in the populus section leuce after late inactivation of the male gamete with Toluidine Blue-O. Fertilization in Higher Plants, ed. H.F. Linskens. North Holland Publishing Company., Amsterdam, 335-340.
- INGRAM, D.S., MACDONALD, M.V., 1980.** *In vitro* selection of mutants. In: Nuclear Techniques and *in vitro* Culture for Plant Improvement. IAEA, Vienna, 241-258.
- JAGANNATHAN, L., MARCOTRIGIANO, M., 1986.** Phenotypic and ploidy status of *Paulownia tomentosa* trees regenerated from cultured hypocotyls. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 7, 227-236.
- JANICK, J., 1963.** HortScience. W.H. Freeman and Comp. USA, 472 p.
- KAMO, K., GRIESBACH, R., 1993.** Ploidy changes in "Mitchell" petunia. Acta Horticulturae, 336, 307-311.
- KARAKULLUKÇU, Ş., ABAK, K., 1992.** Bazı patlıcan çeşitlerinin anter kültürüne tepkileri. A.Ü.Z.F. Yıl., 42 (1-4), 7-12.
- , -----, **1993 a.** Patlıcanda anter kültürü üzerinde araştırmalar. I. Elverişli tomurcuk gelişim döneminin belirlenmesi. Doğa Tr. J. Agric. Forestry, 17, 801-810.
- , -----, **1993 b.** Patlıcanda anter kültürü üzerinde araştırmalar. II. Şeker ve büyümeyi düzenleyicilerin etkileri. Doğa Tr. J. Agric. Fores., 17, 811-820.
- KATOH, N., IWAI, S., 1990.** Effect of starvation treatment on induction of haploid plants from unpollinated ovules of *Nicotiana tabacum* L. VIIth International Cong. on Plant Tissue and Cell Culture, 24-29 June 1990, Amsterdam, Abst., 187.
- KAYNAK, L., PEKMEZCİ, M., BAKTİR, İ., AKILLI, M., UZUN, İ., ONUS, N., 1990.** Akdeniz bölgesinde tohum, fide ve fidan kullanımına ilişkin sorunlar ve çözüm önerileri. Akdeniz Bölgesi Tarımının Verimlilik Sorunları Simp., 7-9/11/1990, Antalya, Milli Prod. Merk. Yay., 433, 96-104.

- KELLER, J., 1990 a.** Culture of unpollinated ovules, ovaries and flower buds in some species of the genus *Allium* and haploid induction via gynogenesis in onion. *Euphytica*, 47, 241-247.
- ., **1990 b.** Haploids from unpollinated ovaries of *Allium cepa*-single plant screening, haploid determination and long term storage. VIIth International Cong. on Plant Tissue and Cell Culture, 24-29 June 1990, Amsterdam, Abst., 193.
- KHO, Y. O., BAER, J., 1970.** Die fluoreszenzmikroskopie in der botanischen Forschung. *Zeiss Inf.*, 18, 54-57.
- KUCKUCK, H., KABABE, G., WENZEL, G., 1991.** Fundamentals of plant breeding. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- KURT, O., EVANS, G.M., AVCIOĞLU, R., 1994.** Anter kültürü tekniği ile haploid bitki elde edilmesini etkileyen faktörler. E.Ü.Z.F. Tarla Bit. Böl. Tarla Bit. Bilimi Derneği TÜBİTAK ve ÜSİGEM Bitki Islahı Kong. Bild., 25-29 Nisan 1994, Bornova, İzmir
- KWACK, S.N., FUJIEDA, K., 1988.** Somatic embryogenesis in cultured unfertilized ovules of *Cucurbita moschata*. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.*, 57 (1), 34-42.
- LACADENA, J.R., 1974.** Spontaneous and induced parthenogenesis and androgenesis. In: Haploids in higher plants advances and potential (ed: Kasha, K.J.). Proceeding of the 1st International Symposium, 10-14/06/1974, 13-32.
- LANAUD, C., 1988.** Origin of haploids and semigamy in *Theobroma cacao* L. *Euphytica*, 38, 211-228.
- LESPINASSE, Y., GODICHEAU, M., DURAN, M., 1983.** Potential value and method of procuding haploids on the apple tree, *Malus pumila* (Mill.) *in vitro* culture. *Acta Horticulturae*, 131, 223-230.
- LETCHAMO, W., 1991.** Alternative methods of ploidy determination in Camomille. *Acta Horticulturae*, 289, 237-238.

- LOWER, R.L., EDWARDS, M.D., 1986.** Cucumber breeding. In: Breeding Vegetable Crops (ed: Basset, M.J.). AVI Publishing Comp. Inc. Connecticut, 173-207.
- LÖSCHENBERGER, E., PFOSSER, M., BORS, E.H., 1990.** Anther culture of wheat (*Triticum aestivum*) and high efficiency ploidy determination by flow cytometry. VIIth International Cong. on Plant Tissue and Cell Culture, 24-29 June 1990, Amsterdam, Abst., 198.
- LUCKETT, D.J., 1989.** Colchicine mutagenesis is associated with substantial heritable variation in cotton. *Euphytica*, 42, 177-182.
- LUCRETTI, S., LISTER, A., CHAPMAN, J.V., MORETTI, F., DE GIACOMETTI, F., PALARCHIO, H.I., 1990.** Flow cytometric assesment of viability and differantion in potato and orange cell suspension protoplasts. *Acta Hort.*, 280, 277-280.
- MACKEY, J., 1961.** Methods of utilizing induced mutation in crop improvement. In: Mutation and Plant Breeding. (ed: Lucket, J.D.), Washington, 336 p.
- MAESTRO-TEJADA, M.C., 1992.** Résistance du melon aux virus. Interaction avec les pucerons vecteurs. Analyse génétique sur les lignées haplodiploides. Thèse de Docteur, Spécialité "Biologie des Organismes et Populations", Univ. de Droit, d'Economie et des Sciences d'Aix-Marseille, 134 p.
- METWALLY, E.I., HAROUN, S.A., EL-FADLY, G.A., 1996.** Interspecific cross between *Cucurbita pepo* L. and *Cucurbita martinezii* through *in vitro* embryo culture. *Euphytica*, 90, 1-7.
- , **MOUSTAFA, S.A., EL-SAWY, B.I., SHALABY, T.A., 1998 a.** Haploid plantlets derived by anther culture of *Cucurbita pepo*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 52, 171-176.
- , -----, -----, **HAROUN, S.A., SHALABY, T.A., 1998 b.** Production of haploid plants from *in vitro* culture of unpollinated ovules of *Cucurbita pepo*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 52, 117-121.

- MEYNET, J., SIBI, M., 1984.** Haploid plants from *in vitro* culture of unfertilized ovules in *Gerbera jamesonii*. Z. Pflanzenzüchtg, 93, 78-85.
- MONTELONGO-ESCOBEDO, H., ROWE, P.R., 1969.** Haploid induction in potato: Cytological basis for the pollinator effect. Euphytica, 18, 116-123.
- MURASHIGE and SKOOG, 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Phys., 15, 473-497.
- NIEMIROWICZ-SZCZYTT, K., DUMAS DE VAULX, R., 1989.** Preliminary data on haploid cucumber (*Cucumis sativus* L.) induction. Cucurbit Genetic Coop., 12, 24-25.
- NIJS, A.P.M., VELDHUYZEN VAN ZANTEN, N.J.D., 1982.** Parthenocarpic fruit set in glasshouse grown zucchini squash. Wageningen The Netherlands, Cucurbit Genetic Coop., 5, 44-45.
-, **BALDER, J., 1983.** Growth of parthenocarpic and seedbearing fruits of zucchini squash. Cucurbit Genetics Coop., No:6, 84-85.
- NITSCH, J.P., KURTZ, E.B., LIVERMAN, J.L., WENT, F.W., 1952.** The development of sex expression in cucurbit flowers. Amer. J. Bot., 39, 32-43.
- NORSTOG, K., 1973.** New synthetic medium for the culture of premature barley embryos. *In vitro*, 3 (8), 307-308.
- NORTON, J.D., 1966.** Testing of plum pollen viability with tetrazolium salts. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 89, 132-134.
- OINUMA, T., 1977.** Tobacco breeding by anther culture. Proc. Symp. on Trop. Agric. Res., 11, 43-53.
- OLLITRAULT-SAMMARCELLI, F., LEGAVE, J.M., MICHAUX-FERRIERE, N., HIRSCH, A.M., 1994.** Use of flow cytometry for rapid determination of ploidy level in the genus *Actinidia*. Scientia Horticulturae, 57, 303-313.
- ÖZZAMBAK, E., 1992.** Pırasada ovaryum ve polen kültürü. Türkiye I. Ulusal Bahçe Bit. Kong. Bild., 13-16 Ekim 1992, İzmir, Cilt:II, 223-236.

- PANDEY, K.K., PRZYWARA, L., SANDERS, P.M., 1990.** Induced parthenogenesis in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) through the use of lethally irradiated pollen. *Euphytica*, 51, 1-9.
- PICARD, E., 1984.** Contribution à l'étude de l'hérédité et de l'utilisation en sélection de l'haplodiploidisation par androgénèse *in vitro* chez une céréale autogame: *Triticum aestivum* L. Thèse de Docteur d'Etat, option Sciences Naturelles, Univ. PARIS-SUD centre ORSAY, 269 p.
- PIERIK, R.L.M., 1989.** *In vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff Publ., Dordrecht, 344 p.
- POINCELOT, R.P., 1980.** Horticulture: principles and practical applications. Perentice-Hall Inc., New Jersey, 652 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.
- PREIL, W., REIMANN-PHILIPP, 1969.** Untersuchungen über die Einflüsse verschiedener Umweltfaktoren auf die Funktionsfähigkeit der Pollen von Tomateon (*Lycopersicon esculentum* Mill.), insbesondere solcher mit erheblicher Neigung zur Parthenokarpie. *Angew. Bot.*, 43, 175-193.
- PRZYBOROWSKI, J., NIEMIROWICZ-SZCZYTT, K., 1994.** Main factors affecting cucumber (*Cucumis sativus* L.) haploid embryo development and haploid plant characteristics. *Plant Breeding*, 112 (1), 70-75.
- QUARTO, R., NATI, D., PAOLONI, F.M., 1991.** Strawberry anther culture. *Acta Horticulturae*, 300, 337.
- QIN, X., ROTINO, G. L., 1993.** Anther culture of several sweet and hot pepper genotypes. *Capsicum and Eggplant Newsletter*, 12, 59-62.
- RAQUIN, C., 1986.** Etude des conditions d'obtention de petunias haploïdes gynogénétiques par culture *in vitro* d'ovaires de plantes pollinisées par du pollen irradié. In: Nuclear Techniques and *in vitro* culture for plant Improvement. IAEA, Vienna, 207-211.

- REINERT, J., BAJAJ, Y.P.S., 1977.** Anther culture: haploid production and its significance. In: Plant Cell, Tissue and Organ Culture (eds: Reinert, J., Bajaj, Y.P.S.). Springer-Verlag, New York, 251-264.
- RISSER, G., RODE, J.C., 1984.** Use of n-pentane for mixing melon pollen. Cucurbit Genetic Coop., 7, 54.
- RODE, J.C., DUMAS DE VAULX, R., 1987.** Obtention de plantes haploïdes de carotte (*Daucus carota* L.) issues de parthénogénèse induite *in situ* par du pollen irradié et culture *in vitro* de graines immatures. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris, Série III, 305, 225-229.
- ROGERS, O.M., ELLIS, J.H., 1966.** Pollen nuclear division prevented with toluidine blue in *Vinca rosea* L. HortScience, 1(2), 62-63.
- ROSATI, P., DEVREUX, M., LANERI, U., 1975.** Anther culture of strawberry. HortScience, 10 (2), 119-120.
- ROULUND, N., HANSTET, L., ANDERSEN, S.B., FARESTVEIT, B., 1990.** Effect of genotype and environment and carbohydrate on anther culture response in head cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* (L.) Alef.). Euphytica, 49, 237-242.
- ROUSSELLE, F., 1992.** Techniques d'estimation nombre de chloroplastes. In: Techniques de cytogénétique végétale (eds: Jahier et al.). INRA Publ., Paris.
- RYLSKI, I., 1974.** Effects of season on parthenocarpic and fertilized summer squash (*Cucurbita pepo* L.) Expl. Agric. J., 10, 399-440.
- SANDI, B., 1998.** Kabuksuz çerezlik kabakta (*Cucurbita pepo* L.) haploid bitki elde etme olanakları. A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 66 s.
- SAN NOEUM, L.H., 1976.** Haploïdes d'*Hordeum vulgare* L. par culture *in vitro* d'ovaires non fécondés. Ann. Amélioration Plantes, 26 (4), 751-754.
- , 1979. In vitro induction of gynogenesis in higher plants. Proc. Conf. Broadening Genetic Base of Crops, 1978, Wageningen, PUDDOC, Wagen., 327-329.

SANFORD, J.C., 1983. Ploidy manipulations. In: Methods in Fruit Breeding (eds: Moore, J.N., Janick, J.). Purdue Univ. Press. West Lafayette, Indiana, 100-124.

-----., **CHYI, Y.S., REISCH, I.S., 1984.** Attempted "egg transformation" in *Zea mays* L., using irradiated pollen. Theoretical and Appl. Gen., 68, 269-275.

-----., **1979.** *In vitro* induction of gynogenesis in higher plants. Proc. Conf. Broadening Genetic Base of Crops, 1978, Wageningen, PUDOC Wagen., 327-329.

SANGWAN, R.S., SANGWAN-NORREL, B.S., 1990. Anther and pollen culture. In: Plant Tissue Culture: Appl. and Limit. (ed: Bhojwani, S.S.). Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, The Netherlands, Chapter 9, 220-242.

SARI, N., ABAK, K., PITRAT, M., DUMAS DE VAULX, R., 1992a. Kavunlarda (*Cucumis melo* L. var. *inodorus* Naud ve *C. melo* L. var. *reticulatus* Naud) partenogenetik haploid embriyo uyartımı ve bitki eldesi. Doğa Tr. J. Agric. Forestry, 16, 302-314.

-----., -----., -----., **RODE, J.C., DUMAS DE VAULX, R., 1992b.** Karpuzda (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf) ışınlanmış polenle haploid bitki eldesi: Işınlanmış polenlerde çimlenme yeteneğinin değişimi. Kükem Dergisi, 15 (2), 15-21.

-----., **1994.** Karpuzlarda ışınlanmış polen uyartımıyla haploid bitki eldesi üzerine genotipin ve mevsimin etkisi ile ışınlama yerine geçebilecek uygulamalar üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi, Ç.Ü. Fen Bil. Ens., Adana, 244 s.

-----., **ABAK, K., PITRAT, M., RODE, J.C., DUMAS DE VAULX, R., 1994.** Induction of parthenogenetic haploid embryos after pollination by irradiated pollen in watermelon. HortScience, 29 (10), 1189-1190.

-----., -----., **1995.** Farklı ışın dozlarının ve ışınlamaya alternatif uygulamaların karpuzda haploid embriyo uyartımına etkileri. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Cilt II, 212-215.

- ., -----., **1996.** Haploid karpuzda in vitro kromozom katlanması amacıyla değişik doz ve sürelerde uygulanan kolhisinin etkisi. Tr. J. of Agriculture and Forestry 20 (1996) 555-559.
- ., -----., -----., **1998.** Comparison of ploidy level screening methods in watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. and Nakai). Scientia Horticulturae (in press)
- SAUTON, A., 1987.** Recherche d' haploïdes chez le melon (*Cucumis melo* L.): étude et application à la sélection de la parthénogenèse induite par du pollen irradié. Thèse (Docteur nouveau régime), spécialité: Biologie et Physiologie Végétales, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 123 p.
- ., **DUMAS DE VAULX, R., 1987.** Obtention de plantes haploïdes chez le melon (*Cucumis melo* L.) par gynogénèse induite par du pollen irradié. Agronomie, 7, 141-148.
- ., **1988.** Effect of season and genotype on gynogenetic haploid production in muskmelon, *Cucumis melo* L.. Scientia Hort., 35, 71-75.
- ., **1989.** Haploid gynogenesis in *Cucumis sativus* induced by irradiated pollen. Cucurbit Genetic Coop., 12, 22-23.
- ., **OLIVER, C., CHAVAGNAT, A., 1989.** Use of soft X-ray technique to detect haploid embryos in immature seeds of melon. Acta Hort., 253, 131-135.
- SAVIN, F., DECOMBLE, V., LE COUVIOIR, M., HALLARD, J., 1988.** The X-ray detection of haploid embryos arisen in muskmelon (*Cucumis melo* L.) seeds and resulting from a parthenogenetic development induced by irradiated pollen. Cucurbit Genetic Coop., 11, 39-42.
- SEMAN, I., FARAGO, J., 1990.** Production of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) haploid by cultivation of unfertilized ovules. VIIth International Cong. on Plant Tissue and Cell Culture, 24-29 June 1990, Amsterdam, Abst., 200.
- SHAIL, J.W., ROBINSON, R.W., 1987.** Anther and ovule culture of *Cucurbita*. Cucurbit Genetic Coop., 10, 92.

- SHCHERBAKOV, V.K., 1991.** Mutagenesis in growing plants. In: Induced Mutations-A Toll in Plant Research. IAEA, Vienna, 505-506.
- SHRIDHAR, 1992.** Pollen grains of cultivated Cucurbits. Proc. 5th Eucarpia *Cucurbitaceae* Simp., July 27-31, 1992, Warsaw, Poland.
- SIBI, M., DUMAS DE VAULX, R., CHAMBONNET, D., 1979.** Obtention de plantes haploides par androgénèse in vitro chez le piment (*C. annuum* L.). Ann. Amelioration Plantes, 29 (5), 583-606.
- SITBON, M., 1981.** Production of haploid *Gerbera jamesonii* plants by *in vitro* culture of unfertilized ovules. Agronomie, 91, 807-812.
- SNEEP, J., HENDRIKSEN, A.J.T., 1979.** Plant breeding perspectives. Center for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, 330-341.
- SPARROW, A.H., 1961.** Types of ionizing radiation and their cytogenetic effects. In: Mutation and Plant Breeding (ed: Luckett, J.D.). Washington, 55-120.
- SUBRAHMANYAN, N.C., KASHA, K.J., 1973.** Selective chromosomal elimination during haploid formation in barley following interspecific hybridization. Chromosoma, 42, 111-125.
- ŞALK, A., 1979.** Kerevizlerde tetraploidinin kök ve yaprak sapı iriliği ile meiotik bölünmeye etkisi ve kerevizlerin karyotipi üzerinde araştırmalar. E.Ü.Z.F. Yay. No:344, 159 s.
- ŞEHİRALI, S., ÖZGEN, M., 1988.** Bitki ıslahı. A.Ü.Z.F. No:1059, 261 s.
- THORPE, T.A., 1990.** The current status of plant tissue culture. In: Plant Tissue Culture: Applications and Limitations (ed: Bhojwani, S.S.). Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Chapter 9, 220-242.
- TISSERAT, B., ESAN, E.B., MURASHIGE, T., 1979.** Somatic embryogenesis in angiosperms. In: Hort. Rev. (ed: Janick, J.). AVI Publ. Comp. Westport, Conn. Vol:1, 1-78.
- TRUONG-ANDRE, I., DEMARLY, 1983.** Obtaining plants by *in vitro* culture of unfertilized maize ovaires (*Zea mays* L.) and preliminary studies on the progeny of a gynogenetic plant. Z. Pflanzenzuchtg, 92, 309-320.

- ., 1988. *In vitro* haploid plants derived from pollinisation by irradiated pollen on cucumber. In: Proceedings of the Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding. May 31-June 2, 1988, Avignon-Montfavet, 143-144.
- TULECKE, W., 1964.** A haploid tissue culture from the female gametophyte of *Ginglo biloba* L.. Nature, 203, 94-95.
- TURCOTTE, E.L., FEASTER, C.V., 1969.** Semigametic production of haploids on Pima cotton. Crop. Sci., 9, 653-655.
- ., **FEASTER, C.V. 1982.** Doubled haploids of American Pima cotton. Agricultural Research Service. Agricultural Review and Manuals. Western series No:32. U.S. Dep. of Agr., Oakland. Calif., No: 92612, 22 p.
- UCHIMIYA, H., KAMEYA, T., TAKANASHI, N., 1971.** *In vitro* culture of unfertilized ovules in *Solanum melongena* and ovaries of *Zea mays*. Jpn. J. Breed., 21, 247-250.
- VAN DEN BOOM, J.M.A., DEN NIJS, A.P.M., 1983.** Effects of gama radiation on vitality and competitive ability of *Cucumis* pollen. Euphytica, 32, 677-684.
- VISSER, T., OOST, E.H., 1981.** Pollen and pollination experiments. The viability of apple and pear pollen as affected by irradiation and storage. Euphytica, 30, 65-70.
- VURAL, H., 1981.** Kuşkonmazın (*Asparagus officinalis* L.) aseptik ortamda doku kültürü yoluyla üretilmesi üzerinde araştırmalar. E.Ü.Z.F. Yay. No:262, 92 s.
- WALTHER, F., PREIL, W., 1981.** Mutants tolerant to low temperature conditions induced in suspension culture as a source for improvement of *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch. In: Induced Mutations-A Toll in Plant Research. IAEA, Vienna, 399-405.
- WANG, C.C., KUANG, B.J., 1981.** Induction of haploid plants from the female gametophyte of *Hordeum vulgare* L.. Acta Bot. Sin., 23, 329-330.
- WELSH, J.R., 1981.** Fundamentals of plant genetics and breeding. John Wiley and Sons Inc., New York, 290 p.

- WENZEL, G., THOMAS, E., 1974.** Observations on growth in culture of anthers of *Secale cereale*. Z. Pflanzenzüchtung, 72, 89-94.
- , **1985.** Strategies in unconventional breeding for disease resistance. Ann. Rev. Phytopat., 23, 149-172.
- WERRY, P.S.Th.J., 1981.** Induction by ionising radiation of genetic markers for the development of *in vitro* genetic manipulation as a tool in crop plant improvement. In: Induced Mutations-A Toll in Plant Research. IAEA, Vienna, 373-382.
- WU, B., CHENG, K., 1982.** Cytological and embryological studies on haploid plant production from cultured unpollinated ovaries of *Nicotiana tabacum*. Acta Bot. Sin., 24, 125-129.
- YAN, H., ZHOU, C., YANG, H.Y., 1988.** Experimental studies on several factors affecting unfertilized ovule culture in sunflower. J. Wuhan Bot. Res., 6, 319-326.
- YANG, H.Y., ZHOU, C., 1990.** *In vitro* gynogenesis. In: Plant Tissue Culture: Applications and Limitations (ed: Bhojwani, S.S.). Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Chapter 10, 242-259.
- YANMAZ, R., TANER, Y., 1996.** *In vitro* partenogenetik haploid bitki elde etme yönteminin kavun ıslah programında kullanılabilirliği üzerinde araştırmalar. TÜBİTAK-TBGAG – Kesin Proje Raporu, 38 s.
- YANMAZ, R., ELLİALTIOĞLU, Ş., TANER, Y., 1997.** The effects of gamma irradiation on pollen viability and haploid plant formation in snake cucumber. Abstract Book 1st International ISHS Symposium on Cucurbits, 20-23 May 1997, Adana.
- YEUNG, E.C., THORPE, A.T., 1981.** *In vitro* fertilization and embryo culture. In: Plant Tissue Culture. Methods and Applications in Agriculture (ed: Thorpe, A.T.), Academic Press Inc. New York, 253-271.
- YILDIRIM, M.B., 1981.** Selection studies in certain mutant populations of Wheat. In: Induced Mutations-A Tool in Plant Research. IAEA, Vienna, 154-155.

- , YILDIRIM, Z., ÇAYLAK, Ö., 1990. Patateste anter kültürü yoluyla haploid bitki elde edilmesi. Doğa Tr. J. of Agric. and Forestry, 14, 543-554.
- ZAGORCHEVA, L., ALEXANDROVA, M., KICHUKOVA, C., 1987. Pollen mother cell meiosis in the haploid of *Cucumis ficifolius* A. Rich. Cucurbit Genetic Coop., 10, 37-38.
- ZHANG, Y.X., LESPINASSE, Y., 1988. Culture *in vitro* d'ovules non fécondés et d'embryons prélevés 8 jours après pollinisation chez le pommier cultivé (*Malus x domestica* Borkh.). Agronomie, 8, 837-842.
- , -----, CHEVREAU, E., 1990. Induction of haploid in fruit trees. In: *In vitro* Culture and Horticultural Breeding. (eds: Janicks, J., Zimmerman, R.H.). Acta Horticulturae, 280, 293-305.
- , -----, 1991. Pollinisation with gamma-irradiated pollen and developpment of fruits, seeds and parthenogenetic plants in apple. Euphytica, 54, 101-109.
- ZHOU, C., YANG, H.Y., 1980. *In vitro* induction of haploid plantlets from unpollinated young ovaries of *Oryza sativa* L.. Acta Genet. Sin., 7, 287-288.
- ZHU, Z.C., WU, H.S., 1979. *In vitro* production of haploid plantlets from the unpollinated ovaries of *Triticum aestivum* and *N. tabacum*. Acta Genet. Sin., 6, 181-183.
- , -----, AN, Q.K., LIU, Z.Y., 1980. *In vitro* induction of haploid plantlets by tissue culture from the unpollinated ovaries of male-sterile line of *Nicotiana*. Hereditas, 2, 36.
- , -----, -----, -----, 1981. Induction of haploid plantlets from unpollinated ovaries of *Triticum aestivum* cultured *in vitro*. Acta Genet. Sin., 8, 386-390.
- , -----, 1981. Induction of haploid plantlets from unpollinated ovaries of *Nicotiana tabacum* cultured *in vitro*. Acta Genet. Sin., 8, 63-65.

ÖZGEÇMİŞ

1968 yılında Adana'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Adana'da tamamladım. 1986 yılında girdiğim Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünden 1990 yılında mezun oldum. Aynı yıl başladığım Yüksek Lisans öğrenimimi 1993 yılında tamamladım. Halen 1994 yılı şubat ayında başladığım Doktora öğrenimime devam etmekteyim. Aynı zamanda, 1994 yılından bu yana Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bafra Meslek Yüksekokulunda Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım.

Evli ve 1 çocuk babasıyım.

