

Hıyarda (*Cucumis sativus* L.) Işınlanmış Polenlerle Tozlama Yoluyla *in situ* Haploid Embriyo Uyartımı

Gülat ÇAĞLAR

KSÜ Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Kahramanmaraş-TÜRKİYE

Kazım ABAK

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Adana-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 22.07.1996

Özet: Hıyarda ışınlanmış polenlerle yapılan tozlamalarla meyve tutumu, tohum oluşumu ve partenogenetik embriyo uyartımı üzerine, polenlere uygulanan ışın dozlarının, ana ebeveyn olarak kullanılan genotiplerin ve tozlamaların yapıldığı mevsimin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, 1992-93 ve 1993-94 yıllarında, polenlere 300, 450 ve 600 Gy gama ışını uygulanarak Qamar F1, Seraset F1, Dere ve Çengelköy çeşitlerinde yıl boyunca tozlamalar yapılmıştır.

Polenlere uygulanan ışın dozları, meyve tutumunu ve tohum oluşumunu etkilememiştir. Hibrit çeşitler her zaman açık tozlanan çeşitlere göre daha yüksek meyve tutumu sağlamışlardır. Tohum oluşumu en fazla Qamar F1 çeşidinde bulunmuştur. Tohum oluşumunda en yüksek değerlere haziran ayında ulaşılmıştır. Her iki yılda da en yüksek haploid embriyo uyartımı 300 Gy ışın dozu ile elde edilmiş, ışın dozu yükseldikçe bu uyartım azalmıştır. Haploid embriyo uyartımı için uygun dönemin nisan-ekim ayları arasındaki sıcak devrede başladığı, ancak en yüksek uyartımların haziran ya da temmuz aylarında sağlandığı saptanmıştır. Elde edilen embriyoların çoğunluğunun globüler safhada olduğu görülmüştür. Denemelerden elde edilen embriyoların sadece %25-35'i sert yapıda bulunmuştur. Bitkiye dönüşebilecek yapıda olan bu sert-beyaz embriyolar tüm çeşitlerde çoğunlukla nisan ile ekim ayları arasında elde edilmiştir.

***In situ* Haploid Embryo Induction in Cucumber (*Cucumis sativus* L.) After Pollination By Irradiated Pollen**

Abstract: In this study the effects of irradiation doses, maternal genotypes and season on fruit set, seed production and parthenogenetic embryo induction after pollination by irradiated pollen in cucumber were investigated. Qamar F1, Seraset F1, Dere and Çengelköy cultivars were pollinated throughout the years with the use of pollen exposed to gamma irradiation at 300, 450 and 600 Gy.

The irradiation doses did not affect fruit set or seed production. Hybrid genotypes set more fruits than open pollinated ones. Qamar F1 cultivar had the highest seed production. The highest seed production were realised in June. A 300-Gy dose led the highest haploid embryo induction for two successive years. It appeared that the higher the irradiation doses the lower the haploid induction. The hot period between April and October was found to be the best season for haploid embryo induction. The highest haploid induction, however, was obtained in June or July. Most of the embryos were found in the globular stage. Of the total embryos obtained only 25-35% was the solid ones. In all genotypes the white-solid embryos that could be turned into plantlets were mostly obtained between April and October.

Giriş

Androgenesis ya da gynogenesis yoluyla *in vitro* veya *in situ* uyartımla bir çok bitkide haploid embriyo ve bitkilerin elde edilmesi bitki ıslahında önemli gelişmelere yol açmaktadır. Çünkü haploidler ve bunların kromozom sayılarının katlanmasıyla elde edilen dihaploidler bir bitki materyalinde homolog kromozomlardaki resesiflerin dominant allelleri tarafından maskelenmeden kolayca belirlenmesini sağlar. Bu durum genetik-sitolojik ve fizyolojik analizlerde araştırmacılara ve ıslahçılara büyük kolaylıklar sağlamaktadır (1,2,3,4). Ayrıca, ıslah açısından

daha da önemlisi, genetik yapının durağan hale getirilebilmesi için arka arkaya yapılması gereken ve uzun yıllar alan kendileme ve seleksiyon safhalarına gerek bırakmayarak ıslah sürecini kısaltmasıdır.

Bu güne kadar bir çok türde *in vitro* androgenesis yoluyla haploid eldesi başarıyla uygulanmış (5) ve ıslah programlarına entegre edilmiştir (6,7,8). Ancak, *Cucurbitaceae* familyası türlerinde anter veya ovul kültürleriyle *in vitro* elde edilen haploidler genetik ve ıslah çalışmalarında kullanılacak düzeyde olmamıştır (9,10,11). 1980'li yıllarda gama ışını uygulanmış polenlerle tozlama

yaparak *in situ* uyartımla haploid embriyoların elde edilmesi ve bunların *in vitro* kültüre alınarak bitkiye dönüştürülmesi üzerinde araştırmalar başlamıştır. Bu yöntem tarla, meyve, sebze ve süs bitkilerine ait bir çok türde denenmiştir (12,13,14,15). Aynı yöntemi *Cucumis* türlerinde deneyen araştırmacılar, haploid embriyo uyartımı üzerine polenlere uygulanan ışın dozlarının, genotiplerin, tozlama zamanlarının, hatta tozlamada her dişi çiçek için kullanılan polen miktarının etkili olduğunu bildirmişlerdir (16,17,18,19,20). Kavunda, elde edilen embriyo ve bitki sayısının yeterli düzeye ulaşması sonucunda bu yöntem artık ıslah programlarında rutin olarak kullanılmaya başlanmıştır (21). Öteki *Cucumis* türlerinde henüz ıslah çalışmalarına yetecek düzeyde embriyo verimi ve bitki eldesi sağlanamamış olup, yöntemin verimliliğini artırmaya yönelik çalışmalar devam etmektedir.

Burada sunulan çalışmada, hıyarda ışınlanmış polenlerle yapılan tozlamalarda meyve tutumu, tohum oluşumu ve partenogenetik embriyo uyartımı üzerine polenlere uygulanan ışın dozlarının, ana ebeveyn olarak kullanılan genotiplerin ve tozlamaların yapıldığı mevsimlerin etkileri incelenmiştir.

Materyal ve Metod

Bu araştırma Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsünde (Erdemli-İçel) 1992-94 yılları arasında yürütülmüştür.

Materyal

Çalışmada ikisi partenokarp meyve bağlayan F1 hibrit Qamar ve Seraset çeşitleri, diğerleri ise açık tozlanan yerli Dere ve Çengelköy çeşitleri olmak üzere dört genotip ana ebeveyn olarak kullanılmıştır. İlk iki çeşit ginoik olduğu ve erkek çiçek vermediği için son iki çeşit aynı zamanda polen kaynağı olarak da kullanılmıştır.

Metod

Araştırmanın yapıldığı iki yıl boyunca tohumlar birer ay aralıklarla ekilerek bütün yıl boyu tozlama yapılabilecek durumda bitki bulundurulmaya çalışılmıştır. Bitkiler birinci yıl basit ısıtmalı bir cam serada, ikinci yıl ise iklim kontrollü cam serada yetiştirilmişlerdir. Ancak, bölge koşullarında yüksek sıcaklık ve onun neden olduğu hastalık-zararlı baskısı nedeniyle temmuz-eylül ayları arasında sağlıklı bitki yetiştirmek mümkün olamamıştır. Dikimde, sıralar arasında ve sıra üzerinde bitkiler arasında mesafeler 100+50x40 cm olmak üzere çift sıralı dikim tekniği uygulanmıştır. Bitkiler belirli büyüklüğe ulaştığında askıya alınmışlardır. Hibrit çeşitler tek gövdeli

yetiştirilirken, Dere ve Çengelköy çeşitlerinin dişi çiçeklerini daha çok yan dallarda oluşturması nedeniyle yan dal vermelerine izin verilmiş ve daha sonra bu dallarda 2-3 göz üzerinden budama yapılmıştır (22). Polen kaynağı olarak kullanılacak olan Dere ve Çengelköy çeşitlerine ait polenlerin çimlenme yüzdeleri arasında önemli bir fark görülmediğinden daha sonraki tozlamalarda iki çeşide ait polenler karıştırılarak kullanılmıştır. Erkek çiçek tomurcukları anthesisten bir gün önce toplanmış, taç ve kısmen çanak yapraklarından ayrılarak petrilere konmuş, ışınlamaya hazır duruma getirilmiştir. Işın kaynağına (Cobalt 60) yerleştirilen petrilere toplam 300, 450 ve 600 Gray olmak üzere üç farklı dozda gama ışını uygulanmıştır.

Işınlamalar iki yılda da bitkilerin erkek ve dişi çiçek verme durumuna bağlı olarak yaklaşık 15-30 günlük aralıklarla Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoterapi Anabilim Dalına ait ışın kaynağında yapılmıştır.

Işın uygulanan tomurcuklar, ışın uygulamasını izleyen gece bekletilerek anterlerin olgunlaşması ve patlaması sağlanmıştır. Işınlamanın ertesi günü (0.gün) anterleri açılmış olan bu tomurcukların dişicik tepesine sürtülmesiyle tozlamalar yapılmıştır. Tozlamadan artan tomurcuklar n-pentana bandırılarak çiçek tozlarının dökülmesi sağlanmıştır (23). Bu çiçek tozları buzdolabında saklanarak daha sonraki günlerdeki tozlamalarda kullanılmıştır. Dişi çiçekler, yabancı polen girişinin önlenmesi amacıyla anthesisten bir gün önce ve tozlamadan da hemen arkasından alüminyum bir pensle kapatılmışlardır. Tozlama sonucu oluşan meyveler 3-4 hafta sonra hasat edilmiştir. Meyveler içerisindeki tohumlar çıkarılarak mikroskop altında tek tek açılıp içlerindeki embriyolar incelenmiştir.

Bulgular

1. *Meyve Tutumu:* Tablo 1'de görüldüğü gibi çalışmanın birinci yılında meyve tutumu Qamar F1 ve Seraset F1 çeşitlerinde sırasıyla ortalama % 66.4 ve % 55.5 olmuştur. Dere ve Çengelköy çeşitlerindeki meyve tutumu da sırasıyla ortalama % 33.3 ve % 43.4 olarak gerçekleşmiştir. İkinci yıl Qamar F1 ve Seraset F1 çeşitlerinde yaklaşık % 79 oranında meyve tutumu sağlanırken, Dere ve Çengelköyde yaklaşık % 51-52 olmuştur (Tablo 2). Her iki tablodan anlaşılacağı üzere, meyve tutum oranı açık tozlanan çeşitlerde hiçbir zaman F1 hibritlerin düzeyine ulaşamamıştır. Bu durum ana

Tablo 1. Mevsime bağlı olarak 4 genotipte değişik dozlarda ışınlanmış polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve tutum oranları (1992-93).

Genotipler		Qamar			Seraset			Dere			Çengelköy		
Aylar	Dozlar	TÇS	TMS	MTO	TÇS	TMS	MTO	TÇS	TMS	MTO	TÇS	TMS	MTO
NİSAN	300	14	6	42.9	27	6	22.2				13	6	46.2
	450	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	600	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MAYIS	300	10	7	70.0	5	1	20.0	23	2	8.7	13	3	23.1
	450	8	5	62.5	2	1	50.0	9	3	33.3	6	4	66.6
	600	5	4	80.0	2	2	100.0	9	7	77.7	5	2	40.0
HAZİRAN	300	14	12	85.7	13	12	92.3	7	4	57.1	10	5	50.0
	450	13	10	76.9	13	10	76.9	8	5	62.5	11	6	54.5
	600	13	11	84.6	14	11	78.6	7	3	42.9	5	2	40.0
EYLÜL	300	5	3	60.0	5	3	60.0	-	-	-	-	-	-
	450	4	3	75.0	6	5	83.0	-	-	-	-	-	-
	600	4	3	75.0	5	2	40.0	-	-	-	-	-	-
EKİM	300	11	9	81.0	11	8	72.7	5	1	20.0	6	1	16.7
	450	11	6	54.6	9	7	77.8	6	1	16.7	5	1	20.0
	600	11	8	72.7	11	7	70.0	1	0	0.0	1	0	0.0
KASIM	300	11	9	81.8	11	6	54.6	12	0	0.0	16	7	43.8
	450	9	9	100.0	12	8	66.7	9	3	33.3	11	6	54.5
	600	10	4	40.0	14	3	21.4	7	0	0.0	15	4	26.7
ARALIK	300	8	4	50.0	9	7	77.8	10	4	40.0	15	8	53.3
	450	13	6	46.2	8	4	50.0	10	6	60.0	15	14	93.3
	600	11	7	63.6	8	3	37.5	10	5	50.0	14	5	35.7
OCAK	300	6	6	100.0	5	2	40.0	8	5	62.5	7	2	28.6
	450	4	3	75.0	6	2	33.3	3	1	33.3	6	3	50.0
	600	2	0	0.0	4	2	50.0	8	3	37.5	7	2	28.6
ŞUBAT	300	4	1	25.0	5	0	0.0	5	0	0.0	2	1	50.0
	450	6	6	100.0	5	4	80.0	4	0	0.0	4	1	25.0
	600	7	5	71.4	6	4	66.7	2	0	0.0	4	2	50.0
MART	300	1	0	0.0	1	0	0.0	1	0	0.0	1	0	0.0
	450	4	1	25.0	2	1	50.0	3	3	100.0	2	0	0.0
	600	7	2	28.6	2	1	50.0	7	2	28.6	2	0	0.0
TOPLAM		226	150	66.4	220	122	55.5	174	58	33.3	196	85	43.4

TÇS: Tozlanan çiçek sayısı (adet); TMS: Tutan meyve sayısı (adet)
MTO: Meyve tutum oranı (%); -: Yeterli dişi çiçek ya da polen olmadığından tozlama yapılmadı.

Tablo 2. Mevsime bağlı olarak 4 genotipte değişik dozlarda ışınlanmış polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları ile meyve tutum oranları (1993-94).

Genotipler		Qamar			Seraset			Dere			Çengelköy		
Aylar	Dozlar	TÇS	TMS	MTO	TÇS	TMS	MTO	TÇS	TMS	MTO	TÇS	TMS	MTO
NİSAN	300	22	17	77.3	21	16	76.2	17	8	47.1	22	14	63.6
	450	21	20	95.2	22	17	77.3	17	8	47.1	21	11	52.4
	600	20	8	40.0	22	15	68.2	16	10	62.5	18	9	50.0
MAYIS	300	8	5	62.5	9	9	100.0	8	8	100.0	8	8	100.0
	450	8	7	87.5	9	9	100.0	8	6	75.0	7	5	71.4
	600	8	5	62.5	8	5	62.5	8	5	62.5	3	0	0.0
HAZİRAN	300	6	5	83.5	6	5	83.3	6	2	33.3	6	1	16.7
	450	6	4	66.7	6	5	83.3	6	2	33.3	6	2	33.3
	600	6	6	100.0	6	5	83.3	6	2	33.3	6	3	50.0
TEMMUZ	300	3	1	33.3	3	1	33.3	3	0	0.0	3	0	0.0
	450	3	3	100.0	3	2	66.7	3	0	0.0	3	0	0.0
	600	3	6	100.0	3	2	66.7	3	0	0.0	3	0	0.0
EYLÜL	300	8	7	87.5	8	7	87.5	-	-	-	-	-	-
	450	8	8	100.0	8	7	87.5	-	-	-	-	-	-
	600	9	9	100.0	8	7	87.5	-	-	-	-	-	-
EKİM	300	4	4	100.0	3	1	33.3	3	0	0.0	3	1	33.3
	450	3	3	100.0	3	1	33.3	3	0	0.0	2	0	0.0
	600	6	4	66.7	5	5	100.0	3	0	0.0	1	1	100.0
KASIM	300	3	1	33.3	3	3	100.0	3	1	33.3	5	1	20.0
	450	3	0	0.0	3	0	0.0	5	0	0.0	3	0	0.0
	600	3	0	0.0	3	1	33.3	3	0	0.0	3	0	0.0
ARALIK	300	4	4	100.0	4	4	100.0	4	4	100.0	4	4	100.0
	450	4	3	75.0	4	4	100.0	4	4	100.0	4	4	100.0
	600	4	4	100.0	4	4	100.0	4	3	75.0	4	4	100.0
OCAK	300	4	4	100.0	4	4	100.0	4	4	100.0	4	4	100.0
	450	4	4	100.0	4	4	100.0	4	4	100.0	4	4	100.0
	600	4	4	100.0	4	4	100.0	4	3	75.0	4	4	100.0
ŞUBAT	300	4	4	100.0	4	4	100.0	4	3	75.0	4	1	25.0
	450	4	4	100.0	4	4	100.0	4	4	100.0	4	0	0.0
	600	4	4	100.0	4	3	75.0	4	2	50.0	4	0	0.0
MART	300	2	1	50.0	2	2	100.0	2	0	0.0	2	1	50.0
	450	2	2	100.0	2	1	50.0	2	0	0.0	2	2	100.0
	600	2	2	100.0	2	1	50.0	2	0	0.0	2	2	100.0
Toplam		203	160	78.8	204	162	79.4	163	83	50.9	165	86	52.1

ebeveyn olarak kullanılan genotipin meyve tutumuna etkisini açıkça ortaya koymaktadır.

Yine Tablo 1 ve 2'de görüldüğü gibi, iki yıl boyunca yapılan tozlamalarda, kullanılan her üç ışın dozunda da meyve tutumu sağlanabilmiştir. Özellikle, ikinci yılın hemen bütün dönemlerinde üç ışın dozunda da, tozlanan çiçekler % 100'e varan oranlarda meyve bağlamışlardır. Buna göre ışınlanmış polenlerle tozlanan çiçeklerin meyve bağlamasında, polenlere uygulanan 600 Gray'e kadar olan ışın dozları önemli bir farklılık yaratmamıştır.

Işınlanmış polenlerin kaç gün süreyle tozlamalarda kullanılabileceğinin saptanması da yeterli sayıda meyve tutumunun sağlanabilmesi bakımından önemlidir. Tablo 3'den de anlaşılacağı üzere, ışınlanmış polenlerle yapılacak tozlamalarda yeterli oranda meyve tutumunun

sağlanabilmesi için, polenlerin ışınlama işleminden hemen sonraki üç gün süre ile kullanılabileceği belirlenmiştir. Üç günden fazla bekletilen polenlerle yapılan tozlamalarda meyve bağlayan çiçek sayısı hızla düşmektedir.

2. Tohum Oluşumu: Işınlanmamış (kontrol) polenlerle tozlama sonucu oluşan ve yaklaşık 3-4 hafta sonra hasat edilen meyvelerdeki tohumların içleri normal embriyolar tarafından doldurulmuş, tohum kabuğu hafif sertleşmişken, ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu oluşanlarda tohum kabuklarının daha yumuşak ve hemen hepsinin içlerinin boş olduğu görülmüştür. Yapılan istatistiksel analizlerde, her iki yılda da meyve başına ortalama tohum sayısı üzerine, polenlere uygulanan farklı ışın dozlarının etkisi önemsiz olurken, çeşitlerin ve uygulamaların yapıldığı ayların etkisi önemli bulunmuştur (Tablo 4 ve 5).

Tablo 3. 4 genotipte ışınlanmış değişik yaştaki polenlerle tozlanan ve meyve bağlayan çiçek sayıları.

Çeşit	0. gün			1. Gün			2. Gün			3. Gün		
	TÇS	TMS	MTO	TÇS	TMS	MTO	TÇS	TMS	MTO	TÇS	TMS	MTO
Qamar	129	94	72.9	71	44	61.9	20	12	60.0	6	0	0.0
Seraset	136	80	58.8	61	28	45.9	18	13	72.2	5	1	20.0
Dere	93	35	37.6	68	17	25.0	11	6	54.5	2	0	0.0
Çengelköy	138	72	52.2	46	11	23.9	10	2	20.0	2	0	0.0
Toplam	496	281	56.7	246	100	40.7	59	33	55.9	15	1	6.7

TÇS: Tozlanan çiçek sayısı (adet)

TMS: Tutan meyve sayısı (adet)

MTO: Meyve tutum oranı (%)

Tablo 4. Mevsime bağlı olarak ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu 4 genotipte elde edilen meyve başına ortalama tohum sayısı (adet) (1992-93)

Aylar	Çeşitler				Ortalama
	Qamar	Seraset	Dere	Çengelköy	
Mayıs	438.73	234.50	202.93	245.93	280.52 ab
Haziran	312.20	298.06	335.40	297.96	310.90 a
Ekim	253.70	74.55	123.33	14.33	116.48 cd
Kasım	66.23	14.13	10.90	88.30	44.89 cd
Aralık	369.20	87.43	81.00	129.16	166.70 bc
Ocak	37.56	6.50	24.63	88.73	39.35 cd
Şubat	10.80	1.93	0.00	17.83	7.64 d
Mart	1.17	4.70	34.60	0.00	10.12 d
Ortalama	186.19 a	90.25 b	101.60 b	110.28 ab	

D%1 (Çeşit): 81.28; D%1 (Aylar): 125.25

Tablo 5. Mevsime bağlı olarak ışınlanmış polenlerle tozlama sonucu 4 genotipte elde edilen meyve başına ortalama tohum sayısı (adet) (1993-94)

Aylar	Çeşitler				Ortalama
	Qamar	Seraset	Dere	Çengelköy	
Nisan	195.83	111.83	194.23	177.57	169.87 abc
Mayıs	275.10	111.77	245.00	231.47	217.34 ab
Haziran	293.93	157.93	300.33	239.23	247.86 a
Temmuz	259.67	144.67	0.00	0.00	101.09 cd
Ekim	222.37	54.07	0.00	108.33	96.19 cd
Kasım	8.67	16.77	53.67	11.67	22.70 d
Aralık	325.60	119.20	146.27	151.77	185.71 abc
Ocak	256.93	68.03	101.83	95.26	130.51 bcd
Şubat	198.87	56.73	83.50	7.00	86.53 cd
Mart	227.50	96.67	0.0	0.00	81.04 cd
Ortalama	226.50 a	94.36 b	112.47 b	102.20 b	

D%1 (Çeşit): 81.28; D%1 (Aylar): 125.25

Tablo 4 ve 5'den de izlenebileceği gibi, meyve başına en fazla tohum 1. yıl 186 adet, 2. yıl 226 adet olmak üzere Qamar F1 çeşidinden alınmıştır. Öteki çeşitlerde bu sayı 90-112 adet arasında değişmiştir. Seraset F1 çeşidi meyve başına en az sayıda tohum içeren genotip olmuştur.

Tozlamaların yapıldığı mevsimin tohum oluşumu üzerine etkisi incelendiğinde en yüksek değerlerin haziran ayında elde edildiği görülmektedir (meyve başına 1. yıl ortalama 310.9, 2. yıl 247.9 adet tohum). En düşük tohum verimi kış aylarında olurken, kasım aylarındaki düşük tohum verimi de dikkat çekmiştir (Tablo 4 ve 5).

3. Embriyo uyartımı: Denemede kullanılan tüm genotiplerde, her ışın dozunda ve yılın tozlama yapılabilen tüm aylarında embriyo uyartımı sağlanmıştır. Tohumlar içerisindeki embriyoların normalden daha küçük olduğu ve embriyo taşıyan tohumların hiçbirisinin endosperm bulundurmadığı görülmüştür. Bu nedenle, elde edilen embriyoların döllene olmaksızın sadece bir uyartım sonucu meydana geldiği ve dolayısıyla haploid olduğu düşünülmüştür. İki yıl süresince yapılan tozlamalar sonucu 4 genotipte elde edilen embriyo sayıları ile meyve başına düşen embriyo miktarları Tablo 6'da verilmiştir. Her iki yılda da embriyo uyartımı üzerine genotiplerin etkisi istatistiksel olarak önemli çıkmazken, ışın dozları ile uygulamaların yapıldığı ayların etkileri % 1 düzeyinde önemli olmuştur (Tablo 7 ve 8). Polenlere uygulanan 300 Gy ışın dozu meyve başına 1. yılda 1.66 adet, 2. yılda ise 2.66 adet haploid embriyo uyartımı yaparak en başarılı sonucu vermiştir. Işın dozu yükseldikçe embriyo uyartımı düşmüştür. 600 Gy ışın dozu meyve başına 1. yılda 0.58 ve 2. yılda 0.73 adet embriyo oluşumu ile en düşük uyartımı yapmıştır. Tüm çeşitlerde meyve başına ortalama embriyo sayıları yıl içerisinde aylara göre büyük değişim

Tablo 6. Toplam embriyo sayıları ile meyve başına ortalama embriyo miktarları

Çeşitler	Toplam embriyo (adet)		Meyve başına embriyo (adet)	
	1992-93	1993-94	1992-93	1993-94
Qamar	282	422	1.88	2.64
Seraset	198	405	1.62	2.50
Dere	90	165	1.55	2.16
Çengelköy	179	186	2.11	1.99
Toplam	749	1178		
Ortalama			1.82	2.32

göstermiştir. Özellikle nisan-ekim ayları arasında haploid embriyo sayısı oldukça yüksek bulunmuştur. 1. yılda meyve başına 3.10 adet embriyo ile haziran ayı, 2. yılda ise meyve başına 4.28 adet embriyo ile temmuz ayı en başarılı dönemler olarak belirlenmiştir (Tablo 7 ve 8). İkinci yılda nisan-temmuz ayları arasında elde edilen meyve başına haploid embriyo sayılarının istatistiksel olarak aynı gruba girdiği görülmüştür. Soğuk aylarda ise her iki yılda da meyve başına ortalama embriyo sayısı 1.00'ın altına düşmüştür.

Eylül ayında yerli çeşitlerde sağlıklı bitkiler yetiştirilemediğinden sadece hibrit çeşitlerde tozlamalar

Tablo 7. Farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle uyartım sonucu mevsime bağlı olarak meyve başına elde edilen ortalama embriyo sayısı (adet) (1992-93)

Aylar	Işın Dozları			Ortalama
	300 Gy	450 Gy	600 Gy	
Mayıs	2.24	0.66	1.05	1.32 b
Haziran	4.52	3.12	1.65	3.10 a
Ekim	2.07	1.44	0.29	1.27 b
Kasım	0.52	0.42	0.11	0.34 b
Aralık	1.96	0.82	0.86	1.21 b
Ocak	0.78	0.46	0.58	0.60 b
Şubat	1.00	0.08	0.13	0.40 b
Mart	0.00	0.25	0.00	0.08 b
Ortalama	1.66	0.91	0.58	
	a	ab	b	

D%1 (Dozlar): 0.77; D%1 (Aylar): 1.59

Tablo 8. Farklı dozlarda ışınlanmış polenlerle uyartım sonucu mevsime bağlı olarak meyve başına elde edilen ortalama embriyo sayısı (adet) (1993-94)

Aylar	Işın Dozları			Ortalama
	300 Gy	450 Gy	600 Gy	
Nisan	4.90	2.95	2.32	3.39 ab
Mayıs	3.91	2.04	0.90	2.28 ab
Haziran	5.48	2.63	1.33	3.15 ab
Temmuz	8.00	3.54	1.29	4.28 a
Ekim	0.13	0.08	0.06	0.09 b
Kasım	1.33	0.00	0.00	0.44 b
Aralık	1.81	0.42	0.73	0.99 ab
Ocak	0.19	0.25	0.08	0.18 b
Şubat	0.15	0.06	0.58	0.27 b
Mart	0.75	1.12	1.12	0.62 b
Ortalama	2.66	1.30	0.73	
	a	ab	b	

D%1 (Dozlar): 1.46; D%1 (Aylar): 3.39

yapılabilmektedir. Bu nedenle istatistiksel olarak değerlendirilmeyen ve tablolarda gösterilemeyen bu dönemde, özellikle 300 Gy ışın dozuyla hibrit çeşitlerde meyve başına 1 . yılda 3.30 adet 2. yılda ise 6.57 adet olmak üzere oldukça yüksek oranda haploid embriyo uyartımı sağlandığı görülmüştür.

4. Embriyoların değişik gelişme safhalarında bulunma durumu: Hıyar embriyolarının gelişme dönemleri olan globüler, yürek, torpedo ve kotiledon safhalarının her birinde çok sayıda embriyoya rastlanmıştır. Ancak, bu embriyolardan globüler ve yürek safhasında olanların bazıları sert-beyaz ve bitkiye dönüşebilecek bir yapıda olurken, bazıları bitkiye dönüşme yeteneğinde olmayan yumuşak bir yapıya sahip olmuştur. Embriyoların sert ya da yumuşak olması veya gelişme döneminin başlangıcında ya da ileri gelişme safhalarında bulunması, genotiplere ve uyartımda kullanılan ışın dozlarına göre önemli bir farklılık göstermemiştir. Dört genotipe ait değişik gelişme safhalarında bulunan embriyo sayıları yıllara göre Tablo 9 ve 10'da verilmiştir.

Embriyoların çoğu globüler safhada bulunurken, yürek ya da daha ileri gelişme dönemindeki embriyo sayıları daha az olmuştur. Az sayıda da olsa iyi gelişmiş torpedo ya da bazıları klorofil içeren kotiledon safhasına ulaşmış embriyolar yanında, sert-beyaz anormal şekilli embriyolarla yumuşak-renksiz endosperm benzeri yapılar da rastlanmıştır. Bitkiye dönüşebilecek yapıdaki sert embriyoların oranı birinci yıl % 34.1, ikinci yıl % 21.0 olmuştur. İkinci yıl özellikle nisan ayında tüm çeşitlerde bir önceki yıla göre çok sayıda embriyo elde edilmiş, ancak bunların % 80'den fazlasının yumuşak

Tablo 9. Gelişme dönemlerine göre haploid embriyo sayıları (1992-93)

Embriyolar	Qamar	Seraset	Dere	Çengelköy	Topl.-ort.
Toplam embriyo	282	199	90	179	750
sert globüler	37	41	19	31	128
sert yürek	37	25	9	21	92
torpedo	11	-	-	-	11
kotiledon	5	6	5	7	23
sert anormal şekilli	-	1	-	1	2
yumuşak globüler	87	51	29	44	211
yumuşak yürek	91	57	24	63	235
yumuşak endosperm benzeri	14	18	4	12	48
sert embriyo oranı %	31.9	36.7	36.7	33.5	34.1
yumuşak embriyo oranı %	68.1	63.3	63.3	66.5	65.9

Tablo 10. Gelişme dönemlerine göre haploid embriyo sayıları (1993-94)

Embriyolar	Qamar	Seraset	Dere	Çengelköy	Topl.-ort.
Toplam embriyo	422	405	165	186	1178
sert globüler	50	38	28	12	117
sert yürek	50	22	7	13	92
torpedo	2	-	1	2	5
kotiledon	8	6	4	5	23
sert anormal şekilli	4	3	1	2	10
yumuşak globüler	188	221	95	95	599
yumuşak yürek	106	104	28	46	284
yumuşak endosperm benzeri	14	11	1	11	37
sert embriyo oranı %	27.0	17.0	24.8	18.3	21.0
yumuşak embriyo oranı %	73.0	83.0	75.2	81.7	79.0

olduğu görülmüştür. Bu durum, ikinci yıldaki sert embriyo oranının genel olarak birinci yıla göre çok düşük çıkmasına neden olmuştur.

Embriyoların çoğunun yumuşak olması ve bu yüzden bitkiye dönüşmemesi üzerine, meyvelerin daha geç hasat edilerek bitki üzerinde uzun süre kalmasının bitkiye dönüşebilecek yetenekte sağlıklı embriyo oluşumunun artırılmasına etkisi araştırılmıştır. Ancak, hasat süresinin 5-6 hafta kadar uzatılması bu açıdan herhangi bir olumlu etki yapmadığı gibi özellikle sıcaklıkların yüksek olduğu dönemlerde nekroze embriyoların sayısının artmasına da yol açmıştır.

Tartışma

Bu çalışmada ana ebeveyn olarak kullanılan genotipler ile mevsimlerin hıyarda meyve tutumu üzerine etkili oldukları bulunmuştur. Hibrit çeşitler her dönemde açık tozlanan yerli çeşitlerden daha fazla meyve bağlamışlardır. Bu durum hibrit çeşitlerin açık tozlanan çeşitlere göre olumsuz koşullardan (düşük-yüksek sıcaklıklar ile hastalık-zararlılar gibi) daha az etkilenmesinden kaynaklanmıştır. İkinci yıl bitkilerin iklim kontrollü cam serada yetiştirilmesi özellikle kış aylarındaki meyve tutum oranını arttırmış ve tüm genotiplerde % 100'e varan oranlara ulaşılmıştır. Buna karşın bölgemiz koşullarında yaz ve sonbahar aylarındaki aşırı nem ve sıcaklar ile hastalıkların yoğun baskısı nedeniyle, özellikle yerli çeşitlerde 0 (sıfır) gün yaşlı polenler kullanılmasına rağmen, bazı tozlamalarda meyve tutumu sağlanamamıştır. Önceki çalışmalarda da mevsim ve

genotipin meyve tutumu üzerine benzer şekilde etkili olduğu bildirilmiştir (24). İki yıllık uygulama sonuçlarına göre, meyve tutum oranlarının polenlere uygulanan farklı ışın dozlarından etkilenmemesi, araştırmada kullanılan ışın dozlarının fazla yüksek olmamasından kaynaklanmıştır. Nitekim, önceki çalışmalarda da 500-700 Gy'e kadar olan ışın dozlarının meyve tutumunu önemli ölçüde etkilemediği bildirilmiştir (25,26). Van Den Boom ve Den Nijs (27) hıyarda 2 kGy dozda bile % 50 meyve tutumunu sağlanabileceğini ve lethal etkinin 4 kGy'de başladığını vurgulamışlardır.

Tozlamada kullanılan polenlerin muhafaza süresi arttıkça meyve tutumu azalmıştır. Taze polenler (0 gün yaşlı) kullanıldığında % 100'e varan oranda meyve tutumu sağlanabilmiştir. Bu oran polen yaşıyla ters orantılı olarak değişmiş ve genellikle 2 günden daha yaşlı polenler meyve tutumu için gerekli uyartımı sağlayamamışlardır. Bu durum karpuzda yapılan önceki çalışmalarda da belirlenmiştir (28,29).

Bu çalışmada kullanılan ışın dozları meyvelerin içerdiği tohum sayısı üzerine önemli bir etki yapmamıştır. Halbuki, hıyarda 300-900 Gy dozlarında ışınlanan polenlerle yapılan tozlamalarda (30) ve karpuzda 400 Gy'e doğru yükselen ışın dozlarıyla yapılan tozlamalarda elde edilen tohum sayısının azaldığı bildirilmektedir (29). Bizim sonuçlarımızla önceki çalışmaların sonuçları arasında görülen bu farklılığın, tozlamada kullanılan polen miktarı ve kalitesi ile ilgili olması kuvvetle olasıdır. Nitekim, hıyarda aynı familyadan olan kavunda yapılan çalışmalarda tozlamada bir dişi çiçek için daha fazla sayıda erkek çiçek tomurcuğu kullanılmasının tohum sayısını önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir (16). Meyve başına tohum sayıları her iki yılda da ilkbahar ve erken yaz aylarında (en fazla haziran ayında) yüksek olmuştur. Bu durum, ilkbahar ve erken yaz aylarının hıyarın yetiştirme koşullarına en uygun iklimsel özelliklere sahip dönemler olmasından kaynaklanmıştır. Ayrıca, kış aylarındaki düşük sıcaklıklar ile yaz aylarındaki yüksek sıcaklıklar tozlamada kullanılan polenlerin canlılığını ve çimlenme yeteneğini olumsuz etkilemektedir (22). Meyve başına en fazla tohumun iki yılda da Qamar F1 çeşidinden elde edilmesi ana ebeveyn olarak kullanılan genotiplerin etkili olduğunu göstermektedir. Polenlere uygulanan ışın dozları meyve tutumu ve tohum oluşumunu etkilemezken, embriyo uyartımında çok önemli rol oynamıştır. Nitekim, 300 Gy ışın dozu ortalama 2.66 adet/meyve ile en yüksek

embriyo uyartımını sağlarken, en yüksek doz olan 600 Gy'de bunun yaklaşık 1 /3'ü düzeyinde bir uyartım sağlanmıştır. Bu bulgu çeşitli bitkilerde ışın dozu yükseldikçe embriyo uyartımının azaldığını bildiren daha önceki çalışmaların bulgularıyla benzerdir (12,14,15,30,31). Bazı araştırmacılar haploid embriyo uyartımında ana ebeveyn olarak kullanılan genotipin bazı türlerde önemli olduğunu bildirmişlerdir (12,18,19,20). Bizim çalışmamızda ise, kullanılan her 3 ışın dozuyla 4 genotipte de haploid embriyolar elde edilmiş ve çeşitler arasında meyve başına haploid embriyo sayısı bakımından önemli bir fark bulunmamıştır. Bu sonuç oldukça önemli olup çalışmada izlenen ve başarılı sonuç veren bu tekniğin genotip seçici olmadığını gösteren bir işarettir. Nitekim, daha sonra yerli ve yabancı birçok genotip kullanarak yaptığımız çalışmalarda da yöntemin genotip seçici olmadığı doğrulanmıştır (32,33).

Nisan-ekim ayları arasındaki dönemde tüm çeşitlerde oldukça yüksek oranda embriyo elde edilmiştir. Örneğin temmuz ayında Qamar F1 çeşidinde meyve başına 20.0 adet embriyo gibi oldukça iyi bir düzeye ulaşılabilmiştir. Bu durum sıcak ayların embriyo uyartımındaki olumlu etkisini göstermektedir. Hıyarda, haploid embriyo uyartımının sıcak dönemlerde artmasına ilişkin bu bulgular kavunda elde edilen önceki bulgularla paralellik göstermektedir (20,24)

Embriyoların gelişmelerini tamamlamış olması ya da ileri gelişme dönemlerinde bulunmaları, bunların bitkiye dönüşmelerinin kolay olması bakımından çok önemlidir. Bu çalışmada çok sayıda embriyo elde edilmesine karşın bunlardan çoğu globüler safhada bulunmuştur. Yürek ve kotiledon gibi ileri gelişim safhalarındaki embriyolara daha az sayıda rastlanmıştır. Bu durum tohum içinde embriyo ve endospermin hiç bir zaman birarada bulunmamasından kaynaklanabilir (24). Yine, bu çalışmada çok sayıda yumuşak embriyolara rastlanılmıştır. Bu yumuşak embriyolar hiçbir zaman bitkiye dönüşmemektedir. Embriyoların gelişme dönemleriyle sert-yumuşak embriyo oranlarını mevsim ile birlikte bitkilerin yetiştirme koşullarının da etkileyebileceği dikkate alınmalıdır (24). Bundan sonraki çalışmalarda bu durumu dikkate alan denemelere yönelmesinde yarar görülmektedir. Çünkü, bitkiye dönüşebilecek sert-beyaz embriyoların çoğunluğu tüm çeşitlerde nisan-ekim ayları arasındaki dönemde elde edilmiştir.

Kaynaklar

1. Lespinasse, Y., Godicheau, M., Duran, M., Potential Value and Method of Producing Haploids on the Apple Tree, *Malus pumila* (Mill.). In *Vitro Culture*. Acta Horticulturae, 131, 223-230, 1983.
2. Abak, K., Biberde (*Capsicum annum* L.) Anter Kültürü Yoluyla Haploid Bitki Elde Etme Üzerinde Araştırma. Ank. Üniv. Zir. Fak. Yil., 1983. Cilt: 33. Fasikül 1,2, 3, 4'den ayrı basım, 155-163. 1983b.
3. Dunwell, J. M., Haploid Cell Cultures. In: *Plant Cell Culture-A Practical Approach* (ed: R.A. Dixon). IRL Press Ltd. Chapter 2, 21-36. 1985.
4. Zhang, Y. X., Lespinasse, Y., Chevreau, E., Induction of Haploidy in Fruit Trees. In: *In vitro Culture and Horticultural Breeding*. (eds: J Janicks, R.H Zimmerman). Acta Horticulturae. 280, 293-305. 1990.
5. Bajaj, Y.P.S., In Vitro Production of Haploids. In: *Handbook of Plant Cell Culture* (eds: D.A. Evans, W.R. Sharp, P. V. Ammirato, Y. Yamada). Macmillan Publishing Company. Vol. 1, Chapter 6, 228-287, 1983.
6. Abak, K., Biberde (*Capsicum annum* L.) stomatal diffüzyon direnci ile *Phytophthora capsici*'ye dayanıklılık arasındaki ilişki. Ank. Üniv. Zir. Fak Yill., 33. 7682, 1983.
7. Wenzel, G., Strategies in Unconventional Breeding For Disease Resistance. *Ann. Rev. Phytopat.*, 23, 149-172, 1985.
8. Kuckuck, H., Kahabe, G., Wenzel G., *Fundamentals of Plant Breeding*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1991.
9. Xue, G.R., Yu, W.Y., Fei, KW., Watermelon plants derived by in vitro anther culture. *Plant Physiology Commun.* (CHN), 4, 40-42, 1983.
10. Ragnet, MA., Etudes préliminaires de l'obtention d'haploides de melon, par cultures d'anthers in vitro. Mémoire (Ingénieur ENITAH), option cultures légumières et grainières, Angers. 64 p. 1984.
11. Chambonnet, D., Dumas De Vaulx, R., Obtention of embryos and plants from in vitro culture of unfertilized ovules of *Cucurbita pepo*. *Cucurbit Genetic Cooperative*, 8, 66, 1985.
12. Badea, E.M., Vrinceanu, V., Rancu, P., The influence of the genotype and of pollenisation 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, 1990.
13. Dore, C., Obtention de plantes haploides 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, 1989.
14. Zhang, Y.X., Lespinasse, Y., Pollination with gamma-irradiated pollen and development of fruits, seeds and parthenogenetic plants in apple. *Euphytica*, 54, 101-109, 1991.
15. Raquin, C., Etude Des Conditions D'obtention de *Petunias* Haploides Gynogenétiques Par Culture in vitro D'ovaries de Plantes Pollinisees Par du Pollen Irradié. In: *Nuclear Techniques and in vitro Culture for Plant Improvement*. IAEA. Vienna, 207-211, 1986.
16. Sauton, A., Dumas De Vaulx, R., Obtention de plantes haploides chez le melon (*Cucumis melo* L.) par gynogenese induite par du pollen irradié. *Agronomie*, 7, 141-148, 1987.
17. Truong-Andre, I., 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 1-2, 1988. Avignon-Montfavet, 143-144, 1988.
18. Gürsöz, N., Abak, K., Pitrat, M., Rode, J.C., Dumas De Vaulx, R., Obtention of haploid plants induced by irradiated pollen in watermelon (*Citrullus lanatus*). *Cucurbit Genetic Cooperative*, 14, 109-110, 1991.
19. Sarı, N., Abak, K., Pitrat, M., Dumas De Vaulx, R., 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. Foresty*, 16, 302-314, 1992a.
20. Pryozowski, J., Niemirowicz-szczytt K., Main factors affecting Cucumber (*Cucumis sativus* L.) haploid embryo development and haploid plant characteristics. *Plant Breeding* 112 (1) 70-75, 1994.
21. Sauton, A., Haploid Gynogenesis in *Cucumis sativus* Induced by Irradiated Pollen. *Cucurbit Genetic Cooperative*, 12, 22-23, 1989.
22. Günay, A., Özel Sebze Yetiştiriciliği, Çağ Matbaası. Cilt II, 323 s., 1981.
23. Risser, G., Rode, J.C., Use of n-pentane for mixing melon pollen. *Cucurbit Genetic Cooperative*, 7, 54, 1984.
24. Sauton, A., Effect of Season and Genotype on Gynogenetic Haploid Production in Muskmelon, *Cucumis melo* L. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, 35, 71-75, 1988.
25. Pandey, K.K., Przywara, L., Sander, P.M., Induced parthenogenesis in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) through the use of lethally irradiated pollen. *Euphytica*, 51, 1-9, 1990.
26. Cuny F., Processus d'induction d'embryons haploides par du pollen irradié chez le melon (*Cucumis melo* L.). Responses du pollen à l'irradiation gamma. Thèse de Docteur, Spécialité "Biologie et Cytologie végétales". Univ. d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avig., 139 p. 1992.
27. Van Den Boom, J.M.A., Den Nijs, A.P.M., Effects of Gama Radiation on Vitality and Competitive Ability of *Cucumis* Pollen. *Euphytica*, 32, 677-684, 1983.
28. Sarı, N., Abak, K., Pitrat, M., Rode, J.C., Dumas De Vaulx, R., Karpuzda (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf.) ışınlanmış polenle haploid bitki eldesi: Işınlanmış polenlerde çimlenme yeteneğinin değişimi. *Kökem Dergisi*, 15(2), 15-21, 1992b.

29. Sarı, N., Karpuzlarda Işınlanmış Polen Uyarımıyla Haploid Bitki Eldesi Üzerine Genotipin ve Mevsimin Etkisi ile Işınlama Yeri Geçebilecek Uygulamalar Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi. Çukurova Üniv. Fen Bil. Enst., Adana 244 s., 1994.
30. Niemirowicz-Szczytt, K., Dumas De Vaulx, R., Preliminary Data on Haploid Cucumber (*Cucumis sativus* L.) induction. Cucurbit Genetic Cooperative, 12, 24-25, 1989.
31. Gürsoz, N., Kavun (*Cucumis melo* var. *inodorus* ve *reticulatus*) ve karpuzda (*Citrullus lanatus* (Thunb) Mansf) ışınlanmış polenle uyarılan *in situ* partenogenetik embriyolardan *in vitro* kültürü ile haploid bitki eldesi. Çukurova Univ. Fen Bil. Enst. Yüksek Lisans Tezi, Adana, 60 s., 1990.
32. Çağlar, G., Abak, K., Farklı hıyar genotiplerinde ışınlanmış polenlerle uyarım yoluyla haploid embriyo ve bitki eldesi üzerinde bir araştırma. Türkiye 2. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 3-6 Ekim 1995, Adana. Cilt II, 159-162, 1995.
33. Çağlar, G., Abak, K., Haploid Production Efficiency in Cucumber. Cucurbit Genetic Coop., 19, 36-37, 1996.