



Karpuz Genetik Kaynaklarında Ovül-Ovaryum Kültürü Yöntemiyle Haploid Bitki Elde Edilmesi*

Çağlar YILDIZ¹, İlknur SOLMAZ^{1,2*}

Öz

Ginogenezis, döllenenmemiş ovaryum, ovül veya dişi gametofitlerin kültüre alınması işlemidir. Bu çalışma, karpuz genetik kaynaklarında ovül-ovaryum kültürü yöntemiyle haploid bitki elde etmek amacıyla yapılmıştır. Çalışmada 4 genotip; Kar 23, Kar 37, Kar 116 ve Kar 147 kullanılmıştır. Besi ortamına farklı dozlarda 2,4-D (2.5 mg/l-5 mg/l) ve TDZ (0.5 mg/l-1 mg/l) hormonları ve poliaminlerin (putresin ve spermidin) 500 µM/l dozu ayrı ayrı ve her ikisi birlikte eklenmiştir. Toplam 16 farklı ortam kombinasyonu kullanılmış ve her bir ortama MS + 8 g/l agar + 30 g/l sakkaroz ilave edilmiştir. Çalışmada iki farklı deneme kurulmuştur. Birinci denemede, dişi çiçekler antezisten 1 gün önce toplanmış, ovaryumlar ve izole edilen ovüller kültüre alındıktan sonra karanlıkta 35 °C'de 3 gün sıcaklık şoku ön uygulaması yapılmış, ardından iklim odalarına (3000-4000 lüks ışık yoğunluğuna sahip) yerleştirilmiştir. İkinci denemede, dişi çiçekler antezisten 2 gün önce toplanmış, ovaryum ve izole edilen ovüller kültüre alındıktan sonra iklimlendirme odalarına transfer edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; genotipler arasında farklı seviyelerde ovül-ovaryum gelişimi ve kallus oluşumu görülmekle birlikte embriyo oluşumu ve bitkicik gelişimi Kar 37 ve Kar 147 genotiplerinde, 2.5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l TDZ + 500 µM SPD, 2.5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l TDZ + 500 µM PUT ve 5 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l TDZ bulunan ortamlarda gözlemlendiği saptanmış, ancak bunlardan tam bir bitki elde edilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Karpuz (*Citrullus lanatus* L.), genetik kaynak, haploid, spermidin, putresin

Obtention of Haploid Plant in Watermelon Genetic Resources by Ovul-Ovary Culture Method

Abstract

This study aimed to obtain haploid plant with the method of ovule-ovary culture using genetic resources of watermelon. In this study, four genotypes Kar 23, Kar 37, Kar 116 and Kar 147 were used. Different doses of 2,4-D (2.5 mg/l-5 mg/l) and TDZ (0.5 mg/l-1 mg/l) hormones and polyamines (500 µM/l of putrescine and spermidine) were added into medium separately and together. Totally 16 different media combinations supplemented with 8 g/l agar and 30 g/l sucrose were used. Two different experiments were established in this study. In the first experiments, female flowers were collected 1 day before anthesis ovaries and excised ovules were cultured after heat shock pre-treatment at 35 °C in dark for 3 days and then they were placed in climate controlled chambers (having 3000-4000 lux light density). In the second experiments, female flowers were collected 2 days before anthesis, ovaries and excised ovules were cultured after and then transferred into climate controlled chambers. According to obtained results, different level of ovule-ovary development and the cülus formation were observed at different ratem among genotypes. Embryo and plantlet developments were observed in the media which contain 2.5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l TDZ + 500 µM SPD, 2.5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l TDZ + 500 µM PUT and 5 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l TDZ for genotypes of Kar 37 and Kar 147 but full plant development from these plantlets have not been obtained.

Keywords: Watermelon (*Citrullus lanatus* L.), genetic resources, haploid, spermidine, putrescine

ORCID ID (Yazar sırasına göre)

0000-0002-2499-5925, 0000-0003-2996-0286

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 20.06.2020

Kabul Tarihi: 25.06.2020

¹Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

²Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Adana, Türkiye

*E-posta: isolz @cu.edu.tr

Karpuz Genetik Kaynaklarında Ovül-Ovaryum Kültürü Yöntemiyle Haploid Bitki Elde Edilmesi

Giriş

Karpuz *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. ve Nakai, kabakgiller (*Cucurbitaceae*) familyasının bir üyesi olup, dünyanın tropikal ve ılıman bölgelerinde ekonomik bakımdan önemli bir sebze türüdür (Ellul ve ark., 2007).

Citrullus lanatus botanik olarak 2 alt türe ayrılmakta olup, *C. lanatus* var. *lanatus* (Thunb.) Matsum. ve Nakai, *Citrullus* cinsi içerisinde kültürü yapılan, Batı Afrika orijinli türdür. *C. lanatus* var. *citroides* (L. H. Bailey) citron ve 'tsamma' cinsi yemeklik, tohum üretimi ve hayvan yemi olarak Doğu ve Güney Afrika'da yaygın biçimde kullanılmaktadır (Jarret ve ark., 1997; Robinson ve Decker-Walters, 1997; Grin, 2012). Bitki genetik kaynakları, doğrudan ya da dolaylı olarak dünyada herkesin geçimini destekler ve gıda güvenliğinin biyolojik bir ilkesidir. Gıda ve tarım için bitki genetik kaynakları, geleneksel ve modern çeşitler, yabancı bitki türleri ve tohumların çeşitliliğinden oluşmaktadır (FAO, 2018). Bitkilerin kültüre alınması yaklaşık 10.000 yıl önce başlamış, daha sonra sistematik olarak toplanarak bilimsel bir şekilde kullanılmaya başlanmış ve bitkisel üretimin en önemli girdisini oluşturmuştur (Gepts ve ark., 2012). Bitki genetik kaynaklarının korunması, sürdürülebilir kullanımı gıda güvenliği ve tarımsal biyoçeşitlilik için önemli bir konudur ve bitki ıslah çalışmaları için kaynak niteliğindedir (Grausgruber ve ark., 2016). Zengin genetik çeşitlilik, bitki ıslah programları açısından önem kazanmaktadır. Yeni çeşitlerin geliştirilmesinde, özellikle yerel çeşitler kullanılmaktadır. Biyoteknolojik yöntemler arasında, haploid ve katlanmış haploid teknolojisi gametik embriyogenezis yoluyla bitki ıslahına yardımcı, yararlı bir araç olarak bilinmektedir. Haploidler, gametofitik kromozom sayısı ile sporofitik bitkiler olmasına karşın, katlanmış haploidler kendiliğinden ya da kromozom duplikasyonu sonucu uyarılmış haploid bitkilerdir. Haploid Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü karpuz genetik kaynak koleksiyonunda yer alan - Kar 23, Kar 37, Kar 116 ve Kar 147 olmak üzere toplamda 4 adet genotip kullanılmıştır. Araştırmada

araştırmalarının temel amacı, ıslah programlarına uygun evrensel olarak diploid hatlar elde etmektir (Dong ve ark., 2016). Diploid bitkiler, genetik bilgi taşıyan gametlerinde yalnızca bir kromozom grubu taşırlar ve bundan dolayı genetik açıdan homozigotik olarak kabul edilmektedir (Juhász ve Jakše, 2005). Haploid bitkilerden, kolhisin uygulamaları sayesinde dihaplodizasyon adı verilen yöntemle homozigot diploid bitkiler elde edilmektedir (Mishra ve Goswami, 2014). Biyoteknolojik ıslah metodları arasında olan *in vitro* katlanmış haploid tekniği, % 100 homozigot hatlar ve kısa sürede homozigotiyi yalnızca bir generasyonda istenilen özellikte sağlamaktadır (Arı ve ark., 2016). Haploid bitkiler *in vitro* kültürde anter ya da izole edilen mikrosporla (androgenezis), ovül (ginogenezis) veya ışınlanmış polenle (partenogenezis) *in situ* tozlamayla oluşan partenogenetik embriyoların *in vitro*'da kurtarılmasıyla elde edilmektedir (Gonzalo ve ark., 2011). Ginogenezis, döllememiş ovaryum, ovül veya dişi gametofitlerin kültüre alınması işlemidir (Zhao ve ark., 2014). Birçok türün ıslahında ginogenezis yöntemi başarılıdır, fakat karpuz ıslahında bu yöntemin etkinliği sınırlı olmuştur (Zou ve ark., 2018). Bu çalışmada, ülkemizde *Cucurbitaceae* familyası içerisinde üretimin en fazla yapıldığı karpuzda genetik kaynaklardan yararlanılarak biyoteknolojik yöntemlerden biri olan ovül-ovaryum kültürüyle haploid bitkiler elde etmek amacıyla kullanılan ortam kombinasyonlarının ovül-ovaryum kültürü üzerine etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Bu araştırma, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama seraları ile Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi-Doku Kültürü Laboratuvarlarında yürütülmüştür. kullanılan 4 genotipe ait tohumlar 21.02.2018 tarihinde her genotipten 40'ar fide elde etmek üzere içerisinde 2:1 oranında torf ve perlit karışımı bulunan viyollere ekilmiştir. Fideler 2-3 gerçek yapraklı dönemde iken,

Karpuz Genetik Kaynaklarında Ovül-Ovaryum Kültürü Yöntemiyle Haploid Bitki Elde Edilmesi

01.04.2018 tarihinde (100-50) x 50 cm aralık mesafeler ile plastik seraya her genotipten 40'ar adet olacak şekilde çift sıralı olarak dikilmiştir. Sulamada damlama sulama sistemi kullanılmış, bitki gelişimi için gübreleme ve ilaçlama işlemleri uygulanmıştır. Bitkiler ipe sardırılarak tek gövdeli olarak yetiştirilmiştir. Çalışmada, MS besi ortamı kullanılmış, 11.36 µM/l ve 22.72 µM/l 2.4-D (Metwally ve ark., 1998; Rakha ve ark., 2012; Tulukoğlu, 2014), 12.5 µM/l ve 25 µM/l TDZ (Gürsoy ve ark., 2012) ile poliaminlerin (putresin ve spermidin) 500 µM/l dozu (Kumar ve ark., 2004) ayrı ayrı ve her ikisi birlikte eklenmiştir. Bütün ortamlarda standart olacak şekilde MS + 8 g/l agar + 30 g/l sakkaroz ilave edilmiş, ortam pH'sı 5.7'ye ayarlanmıştır. Toplamda 16 adet ortam kombinasyonu hazırlanmıştır (Çizelge 1). Ortamlar otoklav cihazında 121 °C'de, 1.2 atm basınç altında, 15 dk. süreyle sterilize edilmiştir. Otoklavlanma işlemi sonrasında çıkarılan ortamlar, oda sıcaklığında soğutulularak steril kabin içerisinde 60 mm'lik steril petri kutularına yaklaşık 10 ml olacak şekilde dökülmüştür. Ovül-ovaryum kültürü için iki deneme kurulmuş, birinci denemede dişi çiçekler antezisten 1 gün önce, ikinci denemede ise antezisten 2 gün önce çiçek saplarından kesilerek toplanmış, yüzey sterilizasyonu için laboratuvara getirilmiştir.

Dişi çiçekler çiçek saplarından ayrılmış (Gürsoy ve ark., 2012) ve ilk olarak steril saf suda yıkanmış ardından steril kabine alınarak % 70'lik etil alkol çözeltisi içerisinde 2 dk. tutulduktan sonra 3-4 kez steril saf suda durulama işlemi yapılmıştır (Gürsoy ve ark., 2012; Tulukoğlu, 2014). Daha sonra ovaryumlar 1-2 damla Tween 20 damlatılan % 15'lik sodyum hipoklorit solüsyonu içerisine 15 dk. boyunca sürekli çalkalanarak bekletilmiştir. Ardından 3-4 kez steril saf su ile durulandıktan sonra yüzey sterilizasyonu tamamlanmıştır. Ovül kültürü için, ovaryumlar pens ve bistüri yardımıyla boyuna kesilerek binoküler stereo mikroskop altında ovüller izole edilmiş ve besi ortamlarına alınmıştır. Her iki denemede, 4 petri kullanılmış ve her petriye 5 adet ovül yerleştirilmiştir. Birinci deneme için (antezisten 1 gün önce), kültüre alınan

ovüller 35 °C'de 3 gün (Diao ve ark., 2009; Moqbeli ve ark., 2013; Tantasawat ve ark., 2015) süreyle sıcaklık şoku uygulamasıyla inkübe edilmiştir. Sıcaklık şokundan sonra petriler, 25-26 °C sıcaklıktaki, 3000-4000 lüks ışık yoğunluğuna sahip 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık ışıklanma sürelerine sahip iklim odalarına alınarak gelişimleri gözlemlenmiştir. İkinci denemede (antezisten 2 gün önce) ovüller sıcaklık şoku uygulaması yapılmadan direkt iklim odalarına transfer edilmiştir.

Ovaryum kültürü için, sterilizasyonu tamamlanmış ıslak haldeki ovaryumlar steril filtre kağıdı üzerinde yeteri kadar kurutulduktan sonra steril penset yardımıyla ovaryumun dış yüzeyi hafifçe sıyrılarak uzaklaştırılmıştır. Yüzeyi sıyrılarak alınan ovaryumlar enine ve boyuna dilimlenerek embriyo teşvik amacıyla hazırlanan ortamlara alınmıştır ve her iki denemede, 4 petri kullanılmış ve her petriye 3 adet ovaryum parçası yerleştirilmiştir.

Birinci denemede (antezisten 1 gün önce), ovaryumlara 35° C'de 3 gün süreyle sıcaklık şoku uygulaması yapılmış, ikinci ovül kültürü (antezisten 2 gün önce) denemesinde, sıcaklık ön uygulaması yapılmadan ovaryumlar direkt iklim odalarına transfer edilmiştir. Kültüre alınan ovül ve ovaryumlar büyüme odalarında 8 hafta süreyle gelişimleri takip edilmiştir.

Ovül ve ovaryumların üzerinde oluşan kallus ya da embriyo benzeri yapılardan embriyonun gelişmesi amacıyla 13.32 µM/l BAP ve 5.36 µM/l NAA (Song ve ark., 2007) ilave edilmiş MS ortamında alt kültüre alındıktan sonra bu embriyoların çimlendirilmesi için MS ortamına 2.22 µM/l BAP, 3 g sükröz ve 8 g agar ilave edilmiştir (Abdollahi ve ark., 2015).

Kültür süresi sonucunda şişerek büyüme gösteren ve renk değiştirerek kallus ya da embriyojenik kallus benzeri yapılar meydana getiren ovül sayısı, kültüre alınan toplam ovül sayısına, kallus oluşturan ovaryum sayısı ise, kültüre alınan toplam ovaryum sayısına oranlanarak yüzdelik olarak değerlendirilmiştir.

Karpuz Genetik Kaynaklarında Ovül-Ovaryum Kültürü Yöntemiyle Haploid Bitki Elde Edilmesi

Çizelge 1. Kullanılan besi ortamı kombinasyonları

Ortam No	MS + 30 g/l sakkaroz + 8 g/l agar + pH 5.7 standart olmak üzere			
	2,4-D (µM/l)	TDZ (µM/l)	Putresin (µM/l)	Spermidin (µM/l)
1	11.36	12.5	-	-
2	11.36	12.5	-	500
3	11.36	12.5	500	-
4	11.36	12.5	500	500
5	11.36	25	-	-
6	11.36	25	-	500
7	11.36	25	500	-
8	11.36	25	500	500
9	22.72	12.5	-	-
10	22.72	12.5	-	500
11	22.72	12.5	500	-
12	22.72	12.5	500	500
13	22.72	25	-	-
14	22.72	25	-	500
15	22.72	25	500	-
16	22.72	25	500	500

Bulgular ve Tartışma

Kar 23 genotipi birinci denemeye ait ovüllerde en yüksek ovül gelişimi 14 no'lu ortamda % 75 oranında, en yüksek kallus oluşumu % 10 oranı ile 4 ve 8 no'lu ortamlarda elde edilmiştir. Kar 23 genotipi ikinci denemeye ait ovüllerde en yüksek ovül gelişimi % 95 oranı ile 3 ve 10 no'lu ortamlarda gözlenmiştir. Birinci denemeye ait ovaryumlarda en yüksek ovaryum gelişimi % 77 oranında 4 no'lu ve 15 no'lu ortamlarda görülürken, kallus oluşumunda herhangi bir gelişme olmamıştır. İkinci denemeye ait ovaryumlarda en yüksek ovaryum gelişimi % 41 oranı ile 12 ve 16 no'lu ortamlarda gözlenmiş, kallus oluşumu

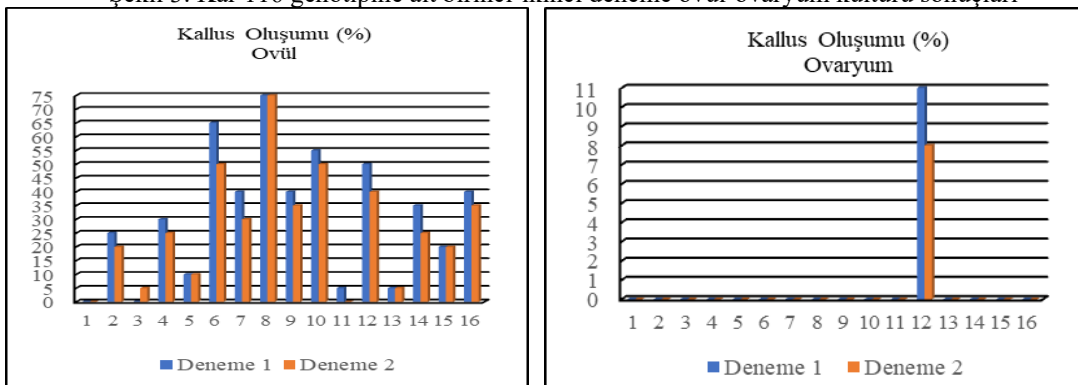
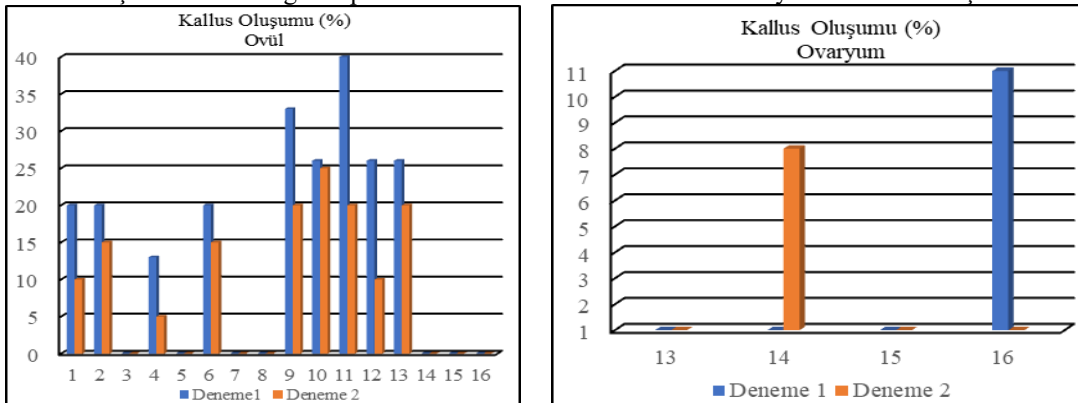
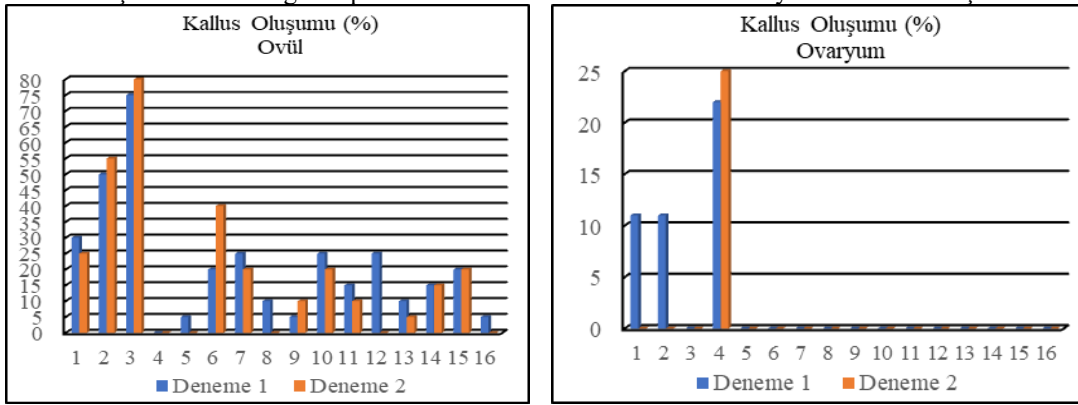
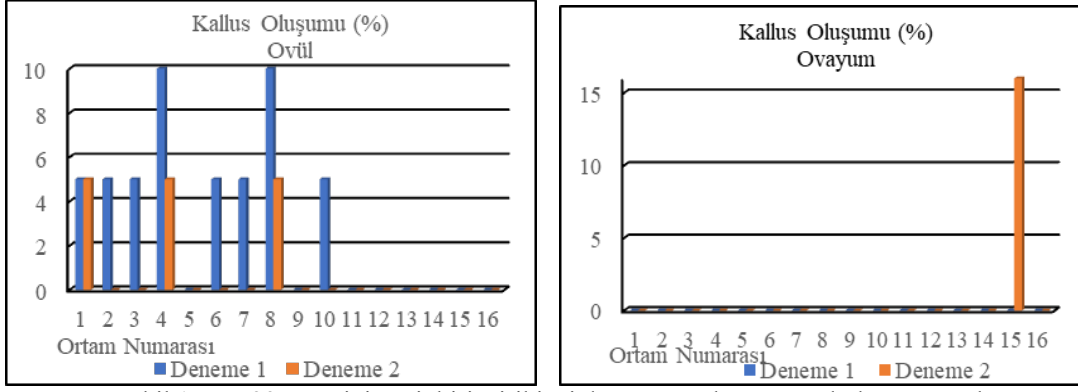
ise, % 16 oranında 15 no'lu ortamda gerçekleşmiştir (Şekil 1.)

Kar 37 genotipi birinci denemeye ait ovüllerde en yüksek ovül gelişimi % 100 oranında 1, 2, 3 ve 15 no'lu ortamlarda, kallus oluşumu ise % 75 oranında 3 no'lu ortamda görülmüştür. Şişen, renk değiştiren ovüllerden embriyojenik kallusun meydana geldiği 6 no'lu ortamda bitkicik formasyonu gözlenmiştir. İkinci denemeye ait ovüllerde en yüksek ovül gelişimi % 95 oranında 3 ve 10 no'lu ortamlarda görülürken, kallus oluşumu % 5 oranında olup 1, 4 ve 8 no'lu ortamlarda gerçekleşmiştir. Kar 37 genotipi birinci denemeye ait ovaryumlarda en yüksek ovaryum gelişimi % 88 oranı ile 10 no'lu ortamda gerçekleşmiştir. Kallus oluşumu % 22 oranında 4 no'lu ortamda görülmüştür. İkinci denemeye ait ovaryumlarda en yüksek ovaryum gelişimi % 75 oranında 3 ve 11 no'lu ortamlarda kaydedilmiştir. Kallus oluşumu % 25 oranında 4 no'lu ortamda gerçekleşmiştir (Şekil 2.).

Kar 116 genotipi birinci denemeye ait ovüllerde en yüksek ovül gelişimi % 66 oranı ile 3 ve 6 no'lu ortamlarda gözlenirken, kallus oluşumu en yüksek % 40 oranı ile 11 no'lu ortamda elde edilmiştir. İkinci denemede en yüksek ovül gelişimi % 95 oranı ile 14 no'lu ortamda gözlenirken, kallus oluşumu en yüksek % 25 oranında 10 no'lu ortamda kaydedilmiştir. Birinci denemeye ait ovaryumlarda en yüksek ovaryum gelişimi % 33 ve kallus oluşumu % 11 oranında görülmüştür. İkinci denemeye ait ovaryumlarda en yüksek ovaryum gelişimi % 25 oranında 14 no'lu ortamda görülürken, kallus oluşumu % 8 oranı ile 14 no'lu ortamda gerçekleşmiştir (Şekil 3.).

Kar 147 genotipi birinci denemeye ait ovüllerde en yüksek ovül gelişimi % 100 oranında beş farklı ortamda kaydedilmiş, kallus oluşumu en yüksek % 75 oranında 8 no'lu ortamda tespit edilmiştir. İkinci denemeye ait ovüllerde en yüksek ovül gelişimi % 95 oranında 3 ve 10 no'lu ortamlarda görülmüştür. Birinci denemeye ait ovaryumlarda en yüksek ovaryum gelişimi % 100 oranında 13 no'lu ortamda görülürken, kallus oluşumu % 11 oranında 12 no'lu ortamda gözlenmiştir.

Karpuz Genetik Kaynaklarında Ovül-Ovaryum Kültürü Yöntemiyle Haploid Bitki Elde Edilmesi



Karpuz Genetik Kaynaklarında Ovül-Ovaryum Kültürü Yöntemiyle Haploid Bitki Elde Edilmesi

İkinci denemeye ait ovaryumlarda en yüksek ovaryum gelişimi % 91 oranında 12 no'lu ortamda görülürken, kallus oluşumu ise % 8 oranı ile yine 12 no'lu ortamda gerçekleşmiştir (Şekil 4.)

Haploid ve double haploidlerin elde edilmesinde ovül-ovaryum kültürünün başarısının; donör bitkinin genotipi, düşük/yüksek sıcaklık ön uygulamaları, dişi gametofitin gelişim dönemi, büyüme düzenleyiciler ya da diğer ortam kompozisyonları ve kültür koşulları gibi birçok faktöre bağlı olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmektedir (Dong ve ark., 2016). Gürsoy ve ark., (2012) tarafından karpuzda antezisten 1 gün sonra aldıkları dişi çiçekleri izole ederek yaptıkları ovül kültüründe kallus oluşumunda en iyi sonucu MS+1 mg/l TDZ, CBM+1 mg/l TDZ, CBM+1 mg/l TDZ + 1 mg/l SPM içeren ortamlarda almışlardır. Tulukoğlu, (2014) ovüllerin şişip yeşil renk alması sonucunda elde ettiği bitkicik formasyonunun en yüksek olduğu 5 mg/l 2.4-D + 0.04 mg/l TDZ ortamında gerçekleştiğini bildirmiştir. Kullandığımız kombinasyonlardan TDZ'nin her iki dozunun poliaminlerle birlikte olduğu ortamlarda kallus oluşumunu olumlu yönde etkilediği gözlenmiştir. Martínez ve ark., (2000) donör bitki genotipinin döllenenmiş ovül-ovaryum kültüründe şüphesiz belirleyici bir rol oynadığını ve ginogenezisin etkinliği kullanılan çeşide, bitkinin büyüme koşullarına ve donör materyalin kalitesine büyük oranda bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Elde edilen veriler doğrultusunda özellikle Kar 23 genotipinde oksin ve sitokininin düşük ve yüksek dozlarına karşılık kallus oluşum oranları çok düşük gerçekleşmiştir.

Kabakgillerde ovül kültürüyle ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, Metwally ve ark., (1998) kabakta yaptıkları ovül kültüründe ortama eklenen 5 mg/l 2.4-D'nin diğer konsantrasyonlara göre daha yüksek kallus ve bitkicik oluşturduğu sonucuna varmışlardır. Çalışmamızda ikinci deneme ovül kültüründe 9 no'lu ortamda 5 mg/l 2.4-D'nin bitkicik formasyonu gerçekleştirdiğini doğrulayabiliriz. Erol, (2018) hıyarda yaptığı ovül kültüründe 0.04 mg/l TDZ'yi sabit

tutarak putresin ve spermidinin ayrı ayrı ve her ikisinin aynı dozlarda birlikte kombinasyonu, 2.4-D'nin 5 mg/l 'lık dozunun belirlenen ortamlardaki kullanımının haploid embriyo uyartımına etkisini incelemiş ve elde ettiği sonuçlara göre, TDZ'nin tek başına ovül gelişimi üzerine etkisinin oldukça yetersiz kaldığını bildirmiştir. Ovül kültürü denememizde kullandığımız 2.4-D ve TDZ'nin kallus oluşumunu olumlu yönde etkileyerek, poliaminlerle birlikte iş birliği içerisinde olduğunu göstermektedir. Zou ve ark., (2018) karpuzda yaptıkları ovaryum kültürü çalışmalarına göre, elde edilen sonuçlarda donör bitki genotipinin ginogeneziste kilit unsur olduğunu bildirmişlerdir. Kültüre aldıkları ovaryumları 35 °C'de 4 gün sıcaklık uygulamasının ardından ovaryum parçaları üzerindeki ovüllerin yeşil renge dönüştüğünü, belirli bir süre sonra ovaryumları olgunlaşma ortamına transfer ettiklerini ve sonrasında embriyo benzeri yapıların görüldüğünü rapor etmişlerdir. Çalışmamızda sıcaklık ön uygulamasından sonra kültür süresi boyunca ovaryumlar üzerindeki ovüllerde şişme gözlenmiş fakat embriyo ya da embriyo benzeri yapılar oluşmamıştır. Sıcaklık uygulaması yapılmayan ikinci denemeye ait sonuçlarda da aynı durumla karşılaşmıştır. Kabakgillerde yapılan ovaryum kültürü çalışmalarını değerlendirdiğimizde Diao ve ark., (2009) hıyarda embriyogenezisin başarısının yüksek sıcaklık uygulamasının embriyo oluşumu üzerine pozitif etkisi olduğunu tespit etmişler, Özsan ve ark., (2017) ise embriyo oluşumu ve bitkicik rejenerasyonunun genotip ve sıcaklık şoku uygulaması arasında bir ilişki olabileceğini bildirmişlerdir.

Sonuç

Yapılan çalışmada ovül-ovaryum kültüründe elde edilen sonuçlara göre genotip bazında farklı oranlarda ovül/ovaryum gelişimleri ve kallus oluşum yüzdeleri elde edilmiştir. Poliaminlerin ayrı ayrı kullanıldığı ortamlarda embriyo oluşumu ile birlikte bitkicik formasyonu gözlenmiş ve poliaminlerin embriyogenezis üzerinde etkili olduğu düşünülmüştür. Embriyo oluşumu ve

Karpuz Genetik Kaynaklarında Ovül-Ovaryum Kültürü Yöntemiyle Haploid Bitki Elde Edilmesi

bitki gelişimi Kar 37 ve Kar 147 genotiplerinde, 2.5 mg/l 2.4-D + 1 mg/l TDZ + 500 µM SPD, 2.5 mg/l 2.4-D + 1 mg/l TDZ + 500 µM PUT ve 5 mg/l 2.4-D + 0.5 mg/l TDZ bulunan ortamlarda gözlemlendiği saptanmış ancak bunlardan tam bir bitki elde edilememiştir. Birçok türün ıslahında ginogenezis yöntemi başarılıdır, fakat karpuz ıslahında bu yöntem sınırlı olmaktadır. Ginogenezisin başarısının karpuzda düşük olmasına yönelik olarak, bu konuda uygun protokol geliştirip haploid bitki elde edilmesinde daha iyi bir alternatif yöntem haline getirmek amacıyla yeni çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Teşekkür

*Bu çalışma Çağlar YILDIZ'ın Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir. Araştırma, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklemiştir. (Proje No: FYL-2018-10623).

Kaynaklar

- Abdollahi, M.R., Darbandi, M., Hamidvand, Y., Majdi, M. (2015). The Influence Of Phytohormones, Wheat Ovary Co-Culture, And Temperature Stress On Anther Culture Response Of Watermelon (*Citrullus lanatus* L.). *Botanical Society Of Sao Paulo, Braz. J. Bot.* 38 (3):447-456.
- Ari, E., Bedir, H., Yıldırım, S., Yıldırım, T. (2016) Androgenic Responses Of 64 Ornamental Pepper (*Capsicum Annuum* L.) Genotypes To Shed-Microspore Culture In The Autumn Season. *Turkish Journal Of Biology.* 40:706-717.
- Diao, W.P., Jia, Y.Y., Song, H., Zhang, X.Q., Lou, Q.F., Chen, J.F. (2009) Efficient Embryo Induction in Cucumber Ovary Culture and Homozygous Identification of The Regenerants Using Ssr Markers. *Scientia Horticulturae*, 119 (3), 246-251.
- Dong, Y.Q., Zhao, W.X., Li, X.H., Liu, X.C., Gao, N.N., Huang, J.H., Wang, W.Y., Xu, X.L., Tang, Z.H. (2016) Androgenesis, gynogenesis, and parthenogenesis haploids in cucurbit species. *Plant Cell Rep.* 35:1991–2019.
- Ellul, P.L.C., Naval, M.M., Nogueral, F.J., Sanchez, S., Atare 'S, A., Moreno, V., Corella, P., Dirks, R. (2007) Watermelon Biotechnology. *Agriculture And Forestry, Transgenic Crops*, Pp. 129-165.
- Erol, M. H. (2018) Hıyarlarda Ovül-Ovaryum Kültürleri ve Işınlanmış Polen Tekniği ile Spermidin ve Putresin Uygulamalarının Haploid Embriyo Uyarımına Etkileri. (Yüksek Lisans Tezi), Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 99 s.
- Grausgruber, H., Hochhauser, F., Naderer, L. (2016) Utilisation Of Plant Genetic Resources For Food And Feed: Case Studies Of Spelt Wheat And Barley. In: Daniela B. (Eds.) *International Scientific Conference On Sustainable Utilisation Of Plant Genetic Resources For Agriculture And Food.* 18-20. Piešťany, Slovak Republic.
- Gepts, P., Bettinger, R., Brush, S. (2012) Biodiversity in agriculture: domestication, evolution and sustainability. In: Bettinger R. (Eds.) *Early steps in agricultural domestication.* Cambridge University Press, Cambridge, pp 19–20.
- Gonzalo, M.J., Claveria, E., Monforte, A.J., Dolcet-Sanjuan, R. (2011) Parthenogenic haploids in melon: generation and molecular characterization of a doubled haploid line population. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 136(2):145–154.
- Grin, (2012) Usda, Ars, National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network - (GRIN). National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/tax_search.pl/ Erişim Tarihi 14.07.2012.
- Gürsoy, I. Solmaz, I., Deliboran, S., Sarı, N. (2012) *In vitro* Ovule and Ovarium Culture in Watermelon. In *Cucurbitaceae 2012. Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae*, Antalya, Turkey, 15-18 October, 2012, 799-804.
- Gürsöz (Sarı), N. (1990) Kavun (*Cucumis melo* var. *inodorus* ve *reticulatus*) ve Karpuzda (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf) Işınlanmış Polenle *In Situ* Partenogenetik Embriyolardan *In Vitro* Kültürü İle Haploid Bitki Eldesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri

Karpuz Genetik Kaynaklarında Ovül-Ovaryum Kültürü Yöntemiyle Haploid Bitki Elde Edilmesi

- Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi), Adana, 60 S.
- Jarret, R.L., Merrick, L.C., Holms, T., Evans, J., Aradhya, M.K. (1997) Simple sequence repeats in watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai). *Genome* 40: 433-441.
- Juhász, A.G., Jakše, M. (2005) Haploids in the improvement of miscellaneous crop species (*Cucurbitaceae*, *Liliaceae*, *Asparagaceae*, *Chenopodiaceae*, *Araceae* and *Umbelliferae*). Haploids in Crop Improvement II, 259-276.
- Fao, (2018) Faostat Statistic Database. <http://www.fao.org/> Erişim Tarihi: 24.11.2018.
- Kumar, H.G.A., Ravishankar, B.V., Murthy, H.N. (2004) The Influence of Polyamines On Androgenesis of *Cucumis Sativus* L. *Europ. J. Hort. Sci.*, 69 (5): 201-205.
- Martinez, L.E., Agüero, C.B., Lopez, M.E., Galmarini, C.R. (2000) Improvement of *In Vitro* Gynogenesis Induction in Onion (*Allium cepa* L.) Using Polyamines. *Plant Sci.*, 156: 221-226.
- Metwally, E.I., Moustafa, S.A., El-Sawy, B.I., Haroun, S.A., Shalaby, T.A. (1998) Production Of Haploid Plants From *In Vitro* Culture Of Unpollinated Ovules of *Cucurbita pepo*. *Plant Cell, Tissue And Organ Culture*, 52 (3), 117-121.
- Mishra, V. K., Goswami, R. (2014) Haploid Production in Higher Plant. *Int. J. Chem. Biol. Sci.*, 1, 26-45.
- Moqbeli, E., Peyvast, G., Hamidoghli, Y., Olfati, J. (2013) *In Vitro* Cucumber Haploid Line Generation In Several New Cultivars. *As. Pac. J. Mol. Biol. Biotechnol.*, 21 (1), 18-25.
- Özsan, T., Gözen, V., Onus A.N. (2017) Cucumber Gynogenesis: Effects of 8 Different Media on Embryo and Plant Formation. *International Journal of Agriculture Innovations and Research* 6 (2), ISSN (Online) 2319-1473.
- Rakha, M.T., Metwally, E.I., Moustafa, S.A., Etman, A.A., Dewir, Y.H. (2012) Evaluation of Regenerated Strains From Six Cucurbita Interspecific Hybrids Obtained through Anther and Ovule *in Vitro* Cultures. *Australian Journal of Crop Science*, 6 (1), 23-30.
- Robinson, R.W., Decker-Walters, D.S. (1997) *Cucurbits*. Cab International, Wallingford, UK, P. 226.
- Song, H., Lou, Q. F., Luo, X. D., Wolukau, J. N., Diao, W. P., Qian, C. T., Chen, J. F. (2007) Regeneration of Doubled Haploid Plants By Androgenesis of Cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 90 (3): 245-254.
- Tantasawat, P. A., Sorntip, A., Poolsawat, O., Chaowiset, W., Pornbungkerd, P. (2015) Evaluation of Factors Affecting Embryo-Like Structure and Callus Formation in Unpollinated Ovary Culture of Cucumber (*Cucumis sativus*). *Intl. J. Agr. Biol.*, 17: 613-618.
- Tulukoğlu, K.S. (2014) Karpuzlarda Anter ve Ovül Kültüründe Soğuk Uygulaması, Thidiazuron (TdZ) ve 2,4-D Uygulamalarının Haploid Embriyo Uyarımına Etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. (Yüksek Lisans Tezi), 78 S.
- Zhao, H., Wang, X.X., D, Y.C., Zhu, D.W., Guo, Y.M., Gao, J.C., Li, F., John, C.S. (2014) Haploid Induction Via *in Vitro* Gynogenesis in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) *Journal of Integrative Agriculture*, 13 (10), 2122-2131.
- Zou, T., Su, H.N., Wu, Q., Sun, X.W. (2018) Haploid Induction Via Unfertilized Ovary Culture in Watermelon. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 135: 179-18.