

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**HIYARDA (*Cucumis sativus* L.) GYNOGENESİS YOLU İLE HAPLOİD
EMBRYO VE BİTKİ OLUŞUMUNA DONÖR BİTKİNİN YAŞI VE MEVSİMİN
ETKİSİ**

Esmanur DEMİREL

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

OCAK 2022

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**HIYARDA (*Cucumis sativus* L.) GYNOGENESİS YOLU İLE HAPLOİD
EMBRYO VE BİTKİ OLUŞUMUNA DONÖR BİTKİNİN YAŞI VE MEVSİMİN
ETKİSİ**

Esmanur DEMİREL

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

OCAK 2022

ANTALYA

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

**HIYARDA (*Cucumis sativus* L.) GYNOGENESİS YOLU İLE HAPLOİD
EMBRIYO VE BİTKİ OLUŞUMUNA DONÖR BİTKİNİN YAŞI VE MEVSİMİN
ETKİSİ**

**Esmanur DEMİREL
BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**Bu tez
T.C. Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından FDK-2019-4843 nolu proje ile desteklenmiştir.**

OCAK 2022

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HIYARDA (*Cucumis sativus* L.) GYNOGENESİS YOLU İLE HAPLOİD
EMBRİYO VE BİTKİ OLUŞUMUNA DONÖR BİTKİNİN YAŞI VE MEVSİMİN
ETKİSİ**

Esmanur DEMİREL

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez 28/01/2022 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Ersin POLAT

Prof. Dr. Kenan TURGUT

Prof. Dr. İbrahim DEMİR

Doç. Dr. Halime ÜNLÜ

ÖZET

HIYARDA (*Cucumis sativus* L.) GYNOGENESIS YOLU İLE HAPLOİD EMBRİYO VE BİTKİ OLUŞUMUNA DONÖR BİTKİNİN YAŞI VE MEVSİMİN ETKİSİ

Esmanur DEMİREL

Doktora Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Ocak 2022; 190 sayfa

Hıyar bitkisi, ticari değeri yüksek sebzeler grubunda yer alan gerek sofralık gerekse endüstriyel amaçlı kullanılan en önemli sebzelerdendir. Üstün nitelikli ticari hıyar çeşitlerini geliştirmek amacı ile yürütülen ıslah çalışmalarında, homozigot hıyar hatlarını kısa sürede elde etmek önem arz etmektedir. Bu da haploid bitki eldesi çalışmaları ile gerçekleştirilmektedir. Yürütmüş olduğumuz bu çalışmada donör bitki yaşı, donör bitkinin yetiştirildiği mevsim, ovaryum sera içi sıcaklığı ve donör bitki çeşidi konularının hıyarda gynogenesis yöntemleri üzerine etkisi araştırılmıştır.

Çalışmada Ufuk, Meriç ve Sedir ticari F_1 hibrit çeşitleri donör bitki olarak belirlenmiş olup, MS + 1:10; 2,4- D: Kinetin + 30 g L⁻¹ süktroz içerikli besi ortamında embriyo teşviki sağlanmıştır. Ardından embriyoların bitkiye dönüşmesi için ovaryumlar, MS + 1:4; NAA: BAP + 30 g L⁻¹ içerikli besi ortamına alınmıştır. Donör bitkilerin yaşının etkisini ve ovaryumların sera içi sıcaklığının etkisini belirleyebilmek amacı ile haftalık olarak elde edilen embriyo ve bitki sayıları adet olarak hesaplanmış ve embriyo oluşum, bitki oluşum ve elde edilen embriyo sayılarına göre bitkiye dönüşüm oranları hesaplanmıştır. Bunun yanı sıra donör bitkinin yetiştirilme mevsiminin etkisi ise dört farklı sezonda yetiştirilmiş olan bitkilerden elde edilen toplam sonuçlara göre değerlendirilmiştir.

Çalışma sonunda çeşitlerin donör bitki yaşına bağımlılıklarının çeşitlere göre farklılık gösterdiği ve Sedir çeşidinin bitki yaşı faktöründen en fazla etkilenen çeşit olduğu belirlenmiştir. Tüm çeşitler göz önüne alındığında 7 haftaya kadar embriyo ve bitki eldesinde verimli sonuçlar alındığı görülmüştür. Mevsim açısından değerlendirildiğinde ise, bahar sezonunun güz sezonuna göre haploid embriyo ve bitki eldesi açısından daha etkili olduğu görülmüştür. Ovaryum sera içi sıcaklığının göre bitkiye dönüşüm oranı haploid embriyo ve bitki eldesi için önemli bir faktör olduğu, özellikle Ufuk çeşidinin maksimum ve minimum sıcaklık derecesi farkının artmasından olumlu etkilendiği saptanmıştır. Tüm gözlem kriterlerinin dışında Meriç ve Ufuk çeşitlerinde kısa gün koşullarında embriyo teşviki ve bitki elde oranlarının arttığı tespit edilmiştir. Embriyodan bitkiye dönüşme aşamasında donör bitki yetiştirme koşullarına bağlı faktörlerin etki oranının düşük olduğu bulunmuştur. Çalışmada tüm çeşitlerden ortalama %112,69 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiş olup, bitki oluşum oranı %39,35 olarak kaydedilmiştir. Elde edilen embriyolara göre embriyoların bitkiye dönüşüm oranları ise %34,91'dir. Sadece son sezonda gelişim gösteren 43 adet bitkinin ploidi seviyeleri Flow

sitometri yöntemi ile belirlenmiş ve 17 adet haploid, 21 adet diploid ve 5 adet miksoploid bitki oluşumu tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Bitki Yaşı, Donör bitki, Gynogenesis, Hıyar (*Cucumis sativus* L.), Mevsim etkisi, Yetişme sıcaklığı, Genotip

JÜRİ: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Ersin POLAT

Prof. Dr. Kenan TURGUT

Prof. Dr. İbrahim DEMİR

Doç. Dr. Halime ÜNLÜ



ABSTRACT

THE EFFECT OF THE DONOR PLANT'S AGE AND SEASON EFFECT ON HAPLOID EMBRYO AND PLANT FORMATION IN Cucumber (*Cucumis sativus* L.) via GYNOGENESIS

Esmanur DEMİREL

PhD Thesis in Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. A. Naci ONUS

January 2022; 190 pages

Cucumber is one of the most important vegetables in the group of vegetables with high commercial value, used for both fresh consumption and industrial purposes. It is important to obtain homozygous cucumber lines in a short time in breeding studies carried out to develop high quality commercial cucumber varieties. This is achieved by haploid studies. In this study, the effects of donor plant age, the season in which the donor plant was grown, the ovary growth temperature in the greenhouse and the donor plant genotype on the gynogenesis methods in cucumber were investigated.

Commercial F₁ hybrid cultivars of Ufuk, Meriç and Sedir were used as plant material in the study, and embryo induction was provided in MS + 1: 10; 2,4-D: Kinetin + 30 g L⁻¹ sucrose-containing medium. Then ovaries were taken into MS + 1: 4; NAA: BAP + 30 g L⁻¹ nutrient medium containing for embryo regeneration. To determine the effect of the age of the donor plants and the effect of the growth temperature of the ovaries in the greenhouse, the weekly embryo and plant numbers data were collected. Then the embryo induction rates, plant formation rates, and plant regeneration rate according to the number of embryos were calculated. In addition, the effect of the growing season of the donor plant was evaluated according to the total results obtained from the plants grown in four different seasons.

At the end of the study, it was determined that the dependence of the genotypes on the donor plant age differs according to the genotypes and the Sedir cultivar was the genotype most affected by the plant age factor. Considering all genotypes, it was seen that productive results were obtained in embryo and plant production up to 7 weeks. When evaluated in terms of season, it was seen that the Spring season was more effective in terms of haploid embryo and plant production compared to the Fall season. It has been determined that the ovary greenhouse growth temperature is an important factor for haploid embryo and plant production, and it is positively affected by the increase in the maximum and minimum temperature difference of the Ufuk cultivars. Apart from all observation criteria, it was determined that embryo promotion and plant yield rates increased in Meriç and Ufuk cultivars under short day conditions. It was found that the effect rate of factors related to the donor plant growing conditions was low during the regeneration from embryo to plant. In the study, an average of 112.69% embryo formation was achieved from all genotypes, and the plant formation rate was recorded as 39.35%. According to the embryos obtained, the regeneration rate of embryos into plants is 34.91%.

Ploidy levels of 43 plants that developed only in the last season were determined by flow cytometry method and 17 haploid, 21 diploid and 5 myxoploid plant formations were detected.

KEYWORDS: Plant Age, Donor plant, Gynogenesis, Cucumber (*Cucumis sativus* L.), Season Effect, Growing temperature, Genotype

COMMITTEE: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Ersin POLAT

Prof. Dr. Kenan TURGUT

Prof. Dr. İbrahim DEMİR

Assoc. Prof. Dr. Halime ÜNLÜ



ÖNSÖZ

Doktora tez çalışmamda her zaman gücünü yanımda hissettiğim gerek akademik bilgisi gerekse hoşgörölü tavrı ile desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, verdiği bilgiler ile gelecekteki akademik hayatımda da her daim yol göstericim olacak olan, çok kıymetli danışman hocam Prof. Dr. A. Naci ONUS'a şükranlarımı sunar ve teşekkürü borç bilirim.

Tez İzleme Komitesinde yer alan, doktora çalışmama çok değerli görüşleri ile bilimsel katkı sağlayan saygıdeğer Prof. Dr. İbrahim DEMİR hocama teşekkür ederim.

Yine tez izleme komitemde yer alan, akademik bilgisi ile farklı bakış açıları kazandırarak tez çalışmama yön veren çok kıymetli hocam Prof. Dr. Ersin POLAT'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez Savunma Jürisinde yer almayı kabul eden, kıymetli vaktini ayırarak değerli fikirleri ile çalışmama destekte bulunan Prof. Dr. Kenan TURGUT hocama içtenlikle teşekkürü borç bilirim.

Yine Tez Savunma Jürisinde yer almayı içtenlikle kabul eden, bilimsel fikir ve görüşleri ile çalışmamı destekleyen çok kıymetli hocam Doç Dr. Halime ÜNLÜ'ye şükranlarımı sunuyorum.

Bitki materyali ve akademik bilgi konusunda yardımlarını eksik etmeyen Öğr. Gör. Dr. Buse Özdemir ÇELİK'e, bitki materyalini yetiştirmede şirket imkanlarından faydalanmamı sağlayan Genetika Tohum Tarım San ve Tic. Ltd. Şti firmasının sahibi Dr. Ahmet SEÇİM beyefendiye teşekkürlerimi sunuyorum.

Denemelerimin kurulumunda büyük bir fedakârlık gösterip, dersleri dışında zaman ayırarak yardımcı olan öğrencim ziraat teknikeri Onur ÖZBAŞ'a teşekkür ederim.

Her anlamda olduğu gibi bu akademik çalışmam konusunda da bana özveri ile desteklerini esirgemeyen canım babam Hüsamettin ÇETİNKAYA'ya, tez çalışmam var dediğimde oğlumun bakımını 7/24 üstlenen ve her zaman ilham veren canım annem Azime ÇETİNKAYA'ya, moral motivasyonumu artıran kardeşlerim Hanife UÇAR, Elif ÇETİNKAYA ve Gökhan UÇAR'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Yine tez yazım aşamasında anlayış ve sabırla beni her zaman destekleyen, hangi zorluk karşımıza çıkarsa çıksın hep pozitif bakabilmeyi öğreten büyük DEMİREL aileme minnetlerimi sunuyorum.

Yaptığım seçim ile bana her zaman ne kadar doğru bir karar verdiğimi hissettiren gerek ev hayatımız gerekse akademik çalışmalarında gurur ile arkamda duran, oğlumuz zaman ayıramadığım vakitlerde tek başına sorumluluğu üstlenen ve üstesinden en iyi şekilde gelen, her alanda görüş ve fikirlerini önemseyen, zekâsı ve pratikliğine hayran olduğum çok kıymetli yol arkadaşım, eşim Bayram Çağdaş DEMİREL'e en derin duygular ile teşekkürlerimi sunuyorum.

Son olarak, bu tezimi bana anne olmanın ne kadar güzel bir duygu olduğunu tattıran, duygusal anlamda ona vakit ayıramadığım zamanlarda çok üzüldüğümü hisseder gibi bana hep neşe ve enerji kaynağı olan, bazı deneme kurduğum günlerde benimle

laboratuvarıda anlayışla bekleyip, yeri geldiğinde yardım etmeye çalışan, güzel yürekli, akıllı, duygusal oğlum mer Efe DEMİREL’e ithaf ediyorum.



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xx
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	9
2.1. <i>Cucurbitaceae</i> Familyasında Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Yapılmış Çalışmalar	9
2.1.1. Androgenesis üzerine yürütülmüş çalışmalar.....	9
2.1.2. Parthenogenesis üzerine yapılmış çalışmalar	14
2.1.3. Gynogenesis üzerine yapılmış çalışmalar.....	20
2.2. Donör Bitkinin Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Etkisinin İncelendiği Çalışmalar	30
3. MATERYAL VE METOD	41
3.1. Materyal	41
3.2. Metod.....	42
3.2.1. Bitkilerin yetiştirilmesi	42
3.2.2. Donör bitki yaşlarının belirlenmesi	43
3.2.3. Ovaryum sera içi sıcaklığının ölçülmesi	43
3.2.4. Dişi çiçeklerin toplanması	44
3.2.5. Besi ortamlarının hazırlanması	45
3.2.6. Ovaryumların sterilizasyonu.....	46
3.2.7. Ovaryumların kültüre alınması	47
3.2.8. Ön sıcaklık stresinin uygulanması ve <i>in vitro</i> kültür koşulları.....	47
3.2.9. Ovaryumların rejenerasyon ortamına aktarılması	48
3.2.10. Bitkilerin sürgün ortamına aktarılması.....	48
3.2.11. Bitkilerin ploidi seviyelerinin belirlenmesi	49

3.2.12. Embriyo ve bitkilerin görüntülenmesi.....	49
3.2.13. Araştırmada üzerinde durulan parametreler	49
3.2.14. Değerlendirme Yöntemi	50
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	51
4.1. 2019 Yılı Bahar Sezonu Hıyarda Ovaryum Kültürü Yöntemi ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Bulgular	51
4.1.1. Donör bitki yaşının hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi	51
4.1.1.1. Donör bitki yaşının embriyo oluşumu üzerine etkisi	51
4.1.1.2. Donör bitki yaşının bitki oluşumu üzerine etkisi	54
4.1.1.3. Donör bitki yaşının elde edilen embriyoya göre bitkiye dönüşüm oranları üzerine etkisi	57
4.1.2. Donör bitkinin yetiştirilme aylarının ovaryum kültürü üzerine etkisi	59
4.1.2.1. Aylara göre embriyo oluşum oranları	59
4.1.2.2. Aylara göre bitki oluşum oranları	60
4.1.2.3. Aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları.....	61
4.1.3. Donör bitki genotipinin hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi	63
4.1.4. Donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların sera içi sıcaklığının hıyarda gynogenesis üzerine etkisi	64
4.1.4.1. Sera içi sıcaklığın embriyo oluşum oranı üzerine etkisi.....	64
4.1.4.2. Sera içi sıcaklığın bitki oluşum oranı üzerine etkisi.....	68
4.1.4.3. Sera içi sıcaklığın embriyodan bitkiye dönüşüm oranı üzerine etkisi	71
4.2. 2019 Yılı Güz Sezonu Hıyarda Ovaryum Kültürü Yöntemi ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Bulgular	73
4.2.1. Donör bitki yaşının hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi	73
4.2.1.1. Donör bitki yaşının embriyo oluşumu üzerine etkisi	74
4.2.1.2. Donör bitki yaşının bitki oluşumu üzerine etkisi	77
4.2.1.3. Donör bitki yaşının elde edilen embriyoya göre bitkiye dönüşüm oranları üzerine etkisi	78
4.2.2. Donör bitkinin yetiştirilme aylarının ovaryum kültürü üzerine etkisi	80
4.2.2.1. Aylara göre embriyo oluşum oranları	80
4.2.2.2. Aylara göre bitki oluşum oranları	81

4.2.2.3. Aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları.....	82
4.2.3. Donör bitki genotipinin hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi	83
4.2.4. Donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların sera içi sıcaklığının hıyarda gynogenesis üzerine etkisi	84
4.2.4.1. Sera içi sıcaklığın embriyo oluşum oranı üzerine etkisi.....	85
4.2.4.2. Sera içi sıcaklığın bitki oluşum oranı üzerine etkisi.....	88
4.2.4.3. Sera içi sıcaklığın embriyodan bitkiye dönüşüm oranı üzerine etkisi	90
4.3. 2020 Yılı Bahar Sezonu Hıyarda Ovaryum Kültürü Yöntemi ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Bulgular	92
4.3.1. Donör bitki yaşının hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi	92
4.3.1.1. Donör bitki yaşının embriyo oluşumu üzerine etkisi	92
4.3.1.2. Donör bitki yaşının bitki oluşumu üzerine etkisi	96
4.3.1.3. Donör bitki yaşının elde edilen embriyoya göre bitkiye dönüşüm oranları üzerine etkisi	98
4.3.2. Donör bitkinin yetiştirilme aylarının ovaryum kültürü üzerine etkisi	100
4.3.2.1. Aylara göre embriyo oluşum oranları	100
4.3.2.2. Aylara göre bitki oluşum oranları	101
4.3.2.3. Aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları.....	102
4.3.3. Donör bitki genotipinin hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi	103
4.3.4. Donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların sera içi sıcaklığının hıyarda gynogenesis üzerine etkisi	104
4.3.4.1. Sera içi sıcaklığın embriyo oluşum oranı üzerine etkisi.....	104
4.3.4.2. Sera içi sıcaklığın bitki oluşum oranı üzerine etkisi.....	108
4.3.4.3. Sera içi sıcaklığın embriyodan bitkiye dönüşüm oranı üzerine etkisi	111
4.4. 2020 Yılı Güz Sezonu Hıyarda Ovaryum Kültürü Yöntemi ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Bulgular	113
4.4.1. Donör bitki yaşının hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi	113
4.4.1.1. Donör bitki yaşının embriyo oluşumu üzerine etkisi	114
4.4.1.2. Donör bitki yaşının bitki oluşumu üzerine etkisi	117

4.4.1.3. Donör bitki yaşının elde edilen embriyoya göre bitkiye dönüşüm oranları üzerine etkisi	119
4.4.2. Donör bitkinin yetiştirilme aylarının ovaryum kültürü üzerine etkisi	121
4.4.2.1. Aylara göre embriyo oluşum oranları	121
4.4.2.2. Aylara göre bitki oluşum oranları	122
4.4.2.3. Aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları.....	123
4.4.3. Donör bitki genotipinin hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi	124
4.4.4. Donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların sera içi sıcaklığının hıyarda gynogenesis üzerine etkisi	125
4.4.4.1. Sera içi sıcaklığın embriyo oluşum oranı üzerine etkisi.....	126
4.4.4.2. Sera içi sıcaklığın bitki oluşum oranı üzerine etkisi.....	129
4.4.4.3. Sera içi sıcaklığın embriyodan bitkiye dönüşüm oranı üzerine etkisi	131
4.5. Tüm Sezonlarda Elde Edilen Embriyo ve Bitki Yapıları	134
4.5.1. Embriyo yapıları	134
4.5.2. Bitki yapıları	135
4.5.3. Elde edilen bitkilerin gelişimi.....	138
4.6. Tüm Sezonlara Göre Donör Bitki Yaşının Hıyarda Ovaryum Kültürü Yöntemi ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Etkisi ve Bulguların Tartışılması.....	139
4.6.1. Donör bitki yaşının embriyo oluşumu üzerine etkisi	139
4.6.2. Donör bitki yaşının bitki oluşumu üzerine etkisi.....	144
4.6.3. Donör bitki yaşının elde edilen embriyoya göre bitkiye dönüşüm oranları üzerine etkisi.....	147
4.7. Donör Bitki Yetiştirilme Mevsiminin Hıyarda Ovaryum Kültürü Yöntemi ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Etkisi ve Bulguların Tartışılması.....	150
4.7.1. 2019-2020 Bahar sezonu aylık embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm bulguları	150
4.7.2. 2019-2020 Güz sezonu aylık embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm bulguları	152
4.7.3. Bahar sezonu ve Güz sezonun genel embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm bulguları ve tartışılması	154

4.8. Tüm Sezonlara Göre Donör Bitki Genotipinin Hıyarda Ovaryum Kültürü Üzerine Etkisi	157
4.9. Donör Bitki Üzerinde Gelişen Ovaryumların Sera içi Sıcaklığının Hıyarda Gynogenesis Yolu ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Etkisi	159
4.10. Gynogenesis Tekniği ile Elde Edilen Gelişmiş Bitkilerin Ploidi Düzeylerinin Belirlenmesi	168
5. SONUÇLAR	171
6. KAYNAKLAR.....	175
ÖZGEÇMİŞ	



AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Hıyarda (*Cucumis sativus* L.) Gynogenesis Yolu ile Haploid Embriyo ve Bitki Oluşumuna Donör Bitkinin Yaşı ve Mevsimin Etkisi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

28/01/2022

Esmanur DEMİREL

İmzası

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	:	santigrat derece
μM	:	mikromolar
cm	:	santimetre
g	:	gram
Gy	:	gray
IU	:	International Unit
kGy	:	kilo gray
klx	:	kilolüks
L	:	litre
M	:	molarite
mg	:	miligram
mL	:	mililitre
mM	:	milimolar
nm	:	nanometre
ppm	:	milyonda bir
sa	:	saat

Kısaltmalar

2,4-D	: 2,4-Diklorofenoksiasetik Asit
2ip	: N6-(2-Izopentenil) Adenine
⁶⁰ Co	: Kobalt 60 Radyoaktif Işın Kaynağı
ABA	: Absisik asit
AgNO ₃	: Gümüş Nitrat
B5	: Gamborg Besin Ortamı
BAP	: Benzilaminopürin
BBD	: Bitki Büyüme Düzenleyici
Cad	: Kadesin
CBM	: Hıyar Temel Besi Ortamı, Gemes-Juhasz vd. Besi Ortamı
CMV	: Hıyar Mozaik Virüsü
CRISPR-Cas9	: Bir Genom Düzenleme Aracı
DH	: Double haploid
DM	: Bitki Mildiyö Hastalığı
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
D-polen	: Ölü Polen
E6	: Kurtar vd. Besin Ortamı
ELS	: Embriyo Benzeri Yapı
EP	: Chée ve Cantliffe Besin Ortamı
F ₁	: 1. Nesil Yavru
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FCA	: Çiçeklenme kontrol geni
GA ₃	: Gibberellik Asit
IAA	: İndol Asetik Asit
IMC	: Domblides vd. Besin Ortamı

Kin	: Kinetin
LD	: Uzun Gün Koşulları
MS	: Murashige ve Skoog Besin Ortamı
N6	: Bing vd. Besin ortamı
NAA	: Naftalen Asetik Asit
NaClO	: Sodyum Hipoklorit
NLN	: <i>Brassica napus</i> Sıvı Besin Ortamı
PM	: Külleme Bitki Hastalığı
P-polen	: Pre-Mitotik Bölünme Evresinde Polen
Put	: Putresin
QTL	: Niceliksel Özellik Lokusu
RAPD Marker	: Rastgele Artırılmış Polimorfik Dna İşaretleyici
Scap	: Bitki Uyuz Hastalığı
SD	: Kısa Gün Koşulları
Spd	: Spermidin
Spm	: Spermin
SSR Marker	: Basit Sıra Tekrarlı işaretleyici
STS	: Gümüş Tiyosülfat
TDZ	: Thidiazuron
TILLING	: Lokal Lezyonların Hedeflenmesi
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
X-ray	: Dalgaboyu 10 ile 0,01 nm aralığında olan Elektromanyetik Işın
ZR	: Zeatin-Riboside
ZYMV	: Kabak Mozaik Virüsü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. a) Ufuk hibrit çeşidi meyve ve bitki yapısı; b) Meriç hibrit çeşidi meyve ve bitki yapısı; c) Sedir hibrit çeşidi meyve ve bitki yapısı	41
Şekil 3.2. Seradaki sağlıklı bitkiler ve bitki üzerinde ilk çiçeklerin görülmesi (en sağda)	43
Şekil 3.3. Hobo marka sıcaklık ölçüm ve kayıt cihazı, cihazın sera içine yerleştirilmesi	43
Şekil 3.4. a. Ufuk çeşidi ovaryum gelişim aşamaları (Kırmızı ok ile işaretli olanlar uygun aşamayı göstermektedir.); b. Meriç çeşidi ovaryum gelişim aşamaları; c. Sedir çeşidi ovaryum gelişim aşamaları	44
Şekil 3.5. Ovaryumların kabin içersinde sterilizasyon solüsyonu içersinde bekletilmesi	46
Şekil 3.6. Ovaryumun kültüre alınma aşamaları.....	46
Şekil 3.7. Kültüre alınan ovaryumların ve gelişen bitkilerin büyüme odası koşullarında bekletilmesi	47
Şekil 3.8. a. Globular aşamada embriyo gelişimi (0.63x); b. Kalp aşamasında embriyo gelişimi (0.80x); c. Embriyonun bitkiciğe dönüşümü (1.00x) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)	47
Şekil 3.9. Sürgün ortamında gelişim göstermiş bitki örnekleri (bar = 1 cm)	48
Şekil 4.1. 2019 Bahar sezonu donör bitki yaşına göre embriyo oluşum oranları (%)	52
Şekil 4.2. 2019 Bahar sezonu donör bitki yaşına göre bitki oluşum oranları (%)	55
Şekil 4.3. 2019 Bahar sezonu donör bitki yaşına göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)	57
Şekil 4.4. 2019 Bahar sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyo oluşum oranları (%)	60
Şekil 4.5. 2019 Bahar sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre bitki oluşum oranları (%)	61
Şekil 4.6. 2019 Bahar sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%).....	62
Şekil 4.7. 2019 Bahar sezonu donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların gelişim sıcaklığı grafiği (°C).....	64
Şekil 4.8. 2019 Güz sezonu donör bitki yaşına göre embriyo oluşum oranları (%)	74
Şekil 4.9. 2019 Güz sezonu donör bitki yaşına göre bitki oluşum oranları (%).....	77
Şekil 4.10. 2019 Güz sezonu donör bitki yaşına göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)	79
Şekil 4.11. 2019 Güz sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyo oluşum oranları (%)	81
Şekil 4.12. 2019 Güz sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre bitki oluşum oranları (%)	82

Şekil 4.13. 2019 Güz sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)83	
Şekil 4.14. 2019 Güz sezonu donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların gelişim sıcaklığı grafiği (°C).....	85
Şekil 4.15. 2020 Bahar sezonu donör bitki yaşına göre embriyo oluşum oranları (%) ..	93
Şekil 4.16. 2020 Bahar sezonu donör bitki yaşına göre bitki oluşum oranları (%)	96
Şekil 4.17. 2020 Bahar sezonu donör bitki yaşına göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)	98
Şekil 4.18. 2020 Bahar sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyo oluşum oranları (%).....	100
Şekil 4.19. 2020 Bahar sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre bitki oluşum oranları (%)	101
Şekil 4.20. 2020 Bahar sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyo rejenerasyon oranları (%).....	102
Şekil 4.21. 2020 Bahar sezonu donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların gelişim sıcaklığı grafiği (°C).....	104
Şekil 4.22. 2020 Güz sezonu donör bitki yaşına göre embriyo oluşum oranları (%)...	115
Şekil 4.23. 2020 Güz sezonu donör bitki yaşına göre bitki oluşum oranları (%).....	118
Şekil 4.24. 2020 Güz sezonu donör bitki yaşına göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)	120
Şekil 4.25. 2020 Güz sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyo oluşum oranları (%)	121
Şekil 4.26. 2020 Güz sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre bitki oluşum oranları (%)	122
Şekil 4.27. 2020 Güz sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%).....	123
Şekil 4.28. 2020 Güz sezonu kültüre alınan ovaryumların bir haftalık sera içi sıcaklığı grafiği (°C)	126
Şekil 4.29. Embriyo gelişim aşamaları; a. Globular aşamasında embriyo (1.00x), b. Kalp aşamasında embriyo (1.00x), c. Torpedo aşamasında embriyo (0.80x), d. Kotiledon aşamasında embriyo (0.63x) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)	134
Şekil 4.30. Embriyojenik kallustan gelişen embriyo ve bitkicikler; a. Embriyojenik kallus gelişimi ve embriyoların kallus üzerinde görüntüsü (kırmızı ok ile gösterilmiş ve “e” olarak belirtilmiş yapılar embriyoyu, “ov” olarak belirtilen yapı ise ovaryum duvarını göstermektedir.) (1.00x), b. Embriyojenik kallustan gelişmiş embriyoların rejenerasyon ortamına ekilmesi, c. Embriyojenik kallustan gelişmiş bitkicikler (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)	135
Şekil 4.31. Gelişim göstermeyen embriyolar; a. Belirli bir aşamada durmuş embriyolar (0.63x), b. Albinoembriyo oluşumları (0.80x), c. Globüler aşamada sadece kök	

oluşturmuş anormal embriyolar (1.00x) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)	135
Şekil 4.32. Embriyodan bitkiciğe dönüşüm; a. Embriyoda klorofil oluşumu ve apikal meristem dokusunun oluşumu (Üstten ilk iki resimde kırmızı ok ile gösterilen alanlar apikal meristemi belirtmektedir.) (1.25x), b. Embriyodan yaprakçık formunun oluşumu (Alttan ikinci resimde kırmızı ok ile gösterilen alan bitkicikteki yaprak oluşumunu belirtmektedir.) (0.63x), c. Bitkicikte kök oluşumu (Alttan üçüncü resimde kırmızı ok ile gösterilen alan bitkicikteki kök oluşumunu ifade etmektedir.) (0.80x) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)	136
Şekil 4.33. Ovaryum içerisine gömülü olarak gelişen bitkicikler; a., b. Kök organı önce oluşan bitkicikler (Kırmızı ok ile belirtilen ovaryum içersine gömülü olarak gelişmiş ve ilk kökü oluşmuş anormal yapılar), c. Kök ve yaprakları eş zamanlı gelişen bitkicikler (0.63x) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)	137
Şekil 4.34. Sağlıklı bitki ve bitkiciklerin görünümü; a., b. Bitki formuna dönüşme (0.63x), c. Birden fazla bitkicik oluşumu (0.80x), d., e. Bitkilerde lateral meristem uçlarının görünümü (1.00x), f. Bitkide kazık kök oluşumu ve kılcal köklerin görünümü (1.00x) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)	137
Şekil 4.35. Çoklu bitkicik oluşumları; a., b. Ovaryumların yanından ayrılmamış bitkicikler, c. Embriyojenik kallustan elde edilen embriyoların rejenerasyon ortamına tekrar ekilmesi sonucu oluşmuş bitkicikler (bar = 1 cm)	138
Şekil 4.36. Anormal yapılı bitki oluşumları; a. Albino bitkicikler (1.00x), b, c, d, e, f. Büyüme ucu olmayan bitkicikler (b. 0.80x, c. 0.63x, d., e. 0.80x, f. 0.63x) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)	138
Şekil 4.37. Elde edilen bitkilerin büyüme seyirleri (bar = 1 cm)	139
Şekil 4.38. Tüm sezonlara göre donör bitki yaşının hıyarda gynogenesis yolu ile oluşan embriyo oranı üzerine etkisi (%)	140
Şekil 4.39. Donör bitki yaşının hıyarda gynogenesis yolu ile oluşan bitki oranı üzerine etkisi (%)	145
Şekil 4.40. Donör bitki yaşının hıyarda gynogenesis yolu ile elde edilen embriyoların bitki dönüşüm oranı üzerine etkisi (%)	148
Şekil 4.41. Bahar sezonu embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)	151
Şekil 4.42. Güz sezonu embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyo rejenerasyon oranları (%)	153
Şekil 4.43. Tüm çalışma boyunca elde edilen embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)	157
Şekil 4.44. Tüm çalışma boyunca çeşitlere göre elde edilen embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)	159
Şekil 4.45. Flow sitometri yöntemine göre ploidi düzeyi analiz sonuçları; a. Haploid ploidi düzeyi, b. Diploid ploidi düzeyi	169
Şekil 4.46. Stomada bulunan kloroplast sayısına göre ploidi seviyesi gösterimi; a. Haploid yapıdaki bitki stoması (100x), b. Diploid yapıdaki bitki stoması (100x), c.	

Miksoploid yapıdaki bitki stomaları (40x) (Sarı ok ile işaretlenmiş stoma diploid yapıda, kırmızı ok ile işaretlenmiş stoma haploid yapıdadır.) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar=1 cm) 169



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Sezonlara göre bitkilerin seralara dikim ve söküm tarihleri, çeşitlere göre seraya dikilen bitki sayısı	42
Çizelge 3.2. Sezonlara göre bitki yaşının gösterilmesi	43
Çizelge 3.3. Murashige ve Skoog besi ortamı içeriği (Murashige ve Skoog 1962)	46
Çizelge 4.1. 2019 Bahar sezonu haftalık kültüre alınan ovaryum sayıları, gelişen embriyo ve bitkicik sayıları.....	51
Çizelge 4.2. Donör bitkinin çeşidine göre embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranı (%).....	63
Çizelge 4.3. 2019 Güz sezonu haftalık kültüre alınan ovaryum sayıları, gelişen embriyo ve bitki sayıları.....	74
Çizelge 4.4. Donör bitkinin çeşidine göre embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranı (%).....	84
Çizelge 4.5. 2020 Bahar sezonu haftalık kültüre alınan ovaryum sayıları, gelişen embriyo ve bitki sayıları.....	92
Çizelge 4.6. Donör bitkinin çeşidine göre bitki oluşum, embriyo oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)	103
Çizelge 4.7. 2020 Güz sezonu haftalık kültüre alınan ovaryum sayıları, gelişen embriyo ve bitki sayıları.....	114
Çizelge 4.8. Donör bitki çeşidine göre embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%).....	124
Çizelge 4.9. Güz ve bahar mevsimi embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm bulguları.....	155
Çizelge 4.10. Bahar sezonları ovaryum sera içi sıcaklıkları karşılaştırılması (°C)	160
Çizelge 4.11. Güz sezonları ovaryum sera içi sıcaklıkları karşılaştırılması (°C)	162

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun artması, birtakım sıkıntıları da beraberinde getirmektedir. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin yürüttüğü teknolojik faaliyetlerden kaynaklı radyoaktif ve kimyasal atıklar, doğal kaynakların bilinçsiz kullanımı, endüstriyel ve tarımsal atıklardan kaynaklı toprak ve su kirliliğinin oluşması, inorganik kökenli evsel atıkların doğaya atılması, tarımsal arazilerin tahrip edilmesi bunlardan bazılarıdır. Doğal ekosistemin bozulmasına sebep olan bu olaylar yer küre üzerinde yaşayan tüm canlıların sağlık yapısının bozulmasına, bazı canlıların da neslinin tükenmesine sebep olmaktadır. Özellikle çevre kirliliği, tarım ilaçları, ağır metaller, kimyasal ve radyoaktif maddelerle kontamine olmuş sular insan vücudunda serbest radikallerin oluşmasına sebep olmaktadır (Kasnak ve Palamutoğlu 2015). Serbest radikaller, DNA'nın yapısında bulunan nükleik asitlere, hücre zarı ve hücre yapısında bulunan lipitlere, proteinlere zarar vererek, kanser, diyabet, koroner rahatsızlıklar, katarakt, karaciğer rahatsızlıkları gibi pek çok hastalığa neden olmaktadır (Velioğlu 2000). Serbest radikallerin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için, antioksidan içerikli doğal besin kaynaklarının tüketilmesi gerekmektedir (Kasnak ve Palamutoğlu 2015). Doğal besin kaynakları diye nitelendirdiğimiz gıda maddelerinin başında bitkisel kökenli besinler olan sebzeler gelmektedir.

İnsanoğlu bitkisel kaynaklı ürünleri insanlığın doğuşundan itibaren hayatlarına dahil etmişler ve bu ürünleri gıda, barınma, giyinme gibi temel ihtiyaçlarını giderebilmek için değerlendirmişlerdir. Göçebe düzende ilerleyen hayatlarında bitkisel ürünleri yanlarında götürebilmenin formülünü aramışlar ve yabancı formdaki bitkilerin farklı bölgelerde de yetiştirilebildiğini, sulama, budama gibi kültürel işlemler uygulandığında da bitkiden elde edilen verim ve kalitenin arttığını keşfetmişlerdir (Vavilov vd. 1992). Bu keşif aslında ilerleyen yıllarda artacak olan nüfusun açlık sorunları ile daha az karşılaşmasına neden olmuştur. Kültür bitkisi olarak adlandırdığımız bu bitkiler günümüzde ticari anlamda özel bir ilgi ile yetiştirilen ve yabancılarla göre daha üstün özellikleri olan bitkilerdir. Ancak çeşitli ihtiyaçlardan kaynaklı olarak tüketilen her bitki kültür bitkisi değildir. Yabancı formu bitkiler de gerekli durumlarda değerlendirilebilmektedir. Kültür bitkilerinin pek çoğu göçler, savaşlar, ticaret ve benzeri yollarla yeryüzüne yayılmışlardır (Karaağaç ve Balkaya 2017).

Günümüzde antioksidan içeriği yüksek sebzelerin çoğunluğunu kültür çeşitleri oluşturmaktadır (Sarıkamış 2016). Kültür çeşitleri yerli köy popülasyonları olabileceği gibi, ıslah yöntemleri ile geliştirilmiş yeni çeşitler de olabilir. Yerli köy popülasyonlarının veya var olan bir ticari çeşidin özelliklerini iyileştirmek amacı ile bitki ıslah çalışmaları pek çok kurum ve kuruluş tarafından yürütülmektedir. Özellikle son yıllarda hibrit çeşitlerin diğer çeşitlere göre daha üstün niteliklere sahip olması bu alanda çalışmaları hızlandırmış ve bu konuda yeni teknolojiler geliştirilmiştir. Hibrit çeşitlerin üzerinde bu kadar durulmasının aslında başlıca sebebi dünya nüfusunun talebine karşılık verebilecek verim ve kalitenin sağlanabileceği görüşüdür (Demir 1990). Ancak bu çeşitlerin geliştirilmesi önemli bir yatırım ve zaman gerektirmektedir. Islah edilen hatların kısa sürede çeşit adayı olması, yatırım maliyetlerini düşürebilir. Bu da haploid bitki teknolojisi gibi geliştirilmiş teknikler ile mümkün hale gelmiştir.

Dünyada tüketimi en fazla olan hıyar, domates, biber, patlıcan, kavun, kabak gibi sebzelerde daha çok hibrit tohum ile üretim tercih edilmektedir. Bunun açıkça sebepleri

verim, eş zamanlı hasat, kontrollü bitki büyümesi ve diğer kalite unsurlarıdır. Ülkemizde de üretimde büyük bir paya sahip bu sebzelerin hibrit tohumları özellikle son yıllarda Türk firmaları tarafından da üretilmektedir. Özellikle devlet destekli projelerin bu firmalar tarafından yürütülmesi tohumda dışa bağımlılığımızı ciddi anlamda azaltmıştır. Diğer yönlerden ele alındığında ise gelişen bu tohumculuk sektörü bu alanda istihdam oluşturmakta, katma değeri artırmakta, döviz tasarrufuna sebep olmakta ve tohum ihracatı ile döviz geliri sağlayarak ülke ekonomisine büyük katkıda bulunmaktadır (Ayanoglu ve Yalvaç 2002).

Bitki ıslahında dünyada ve ülkemizde en çok geliştirilmeye çalışılan sebzelerden olan hıyar (*Cucumis sativus* L.) bitkisi insan sağlığı ve beslenmesi açısından oldukça önemli bir bitkidir. 100 g hıyar meyvesi sadece 12 kalori içermektedir. Kalorisinin düşük olması diyet programlarında tercih edilmesine neden olmakla birlikte alkali yapısı hayvansal gıdaların insanda oluşturduğu asitliliği giderir. Kalp ve damar rahatsızlıklarına iyi gelir. Su içeriği %96 g olan bu meyvesi tüketilen sebze, 0,6 g protein, 0,1 g yağ, 2,2 g karbonhidrat içerir. Protein, yağ ve karbonhidrat içeriği düşük olmasına rağmen hıyar, vitamin, enzim ve mineral açısından da oldukça zengindir. 100 g meyvede 45 IU A vitamini, 0,03 mg B1 vitamini, 0,02 mg B2 vitamini, 0,3 mg Niacin, 12 mg C vitamini, 12 mg kalsiyum, 0,3 mg demir, 15 mg magnezyum ve 24 mg fosfor bulunmaktadır (Sevgican 1989).

Cucurbitaceae (Kabakgiller) familyası birçok bölgeye uyum sağlayabilen, yaklaşık olarak 118 cins ve 825 türden oluşan geniş bir ailedir (Skalova vd. 2010). Bu familyaya ait ticari anlamda en fazla yetiştiriciliği yapılan türler hıyar, karpuz, kavun ve kabaktır. Sofralık tüketimde, kozmetik ve ilaç sanayisinde ve konserve sanayisinde özellikle turşu yapımında kullanılan hıyar bitkisi bu familyanın en gözde türlerinden birisidir. Dünyada 2 231 402 ha alanda hıyar üretimi yapılmaktadır. 2019 yılı toplam hıyar üretim miktarı ise 87 805 086 tondur. Dünyada en fazla hıyar üreten ülke yaklaşık olarak 70 milyon ton ile Çin'dir. Ülkemiz ise 1 916 645 ton ile en fazla hıyar üreten ikinci ülkedir. Rusya bu sıralamada 3. sırada yer alırken, Ukrayna 2019 yılında üretim miktarı açısından İran'ın önüne geçmiştir (FAO 2019). Ülkemizde üretim miktarı açısından değerlendirildiğinde en fazla üretilen ürünler arasında domates ve karpuzdan sonra hıyar üçüncü sıradadır (TÜİK 2019). Ayrıca en çok sofralık üretim yapan ilk üç il ise sırası ile Antalya, Mersin ve İzmir'dir. Turşuluk üretimde ise bu sıralama Afyonkarahisar, İzmir ve Manisa şeklindedir (Anonim 1; Anonim 2).

Hıyarın (*Cucumis sativus* L.), bilim insanları tarafından birincil gen merkezlerinden Güneydoğu Asya'da bulunan Hindistan'da yaklaşık olarak 5000 yıl önce keşfedildiği düşünülmektedir. Orijin merkezi olan Hindistan'ın Himalaya dağları ile Bengal körfezinin kuzey kısmından Asya'nın batısına, Çin, Kuzey Afrika ve Güney Avrupa'ya yayıldığı düşünülmektedir. Bu yayılmada toplu göçlerin etkili olduğu düşünülmekle birlikte (Günay 1993), M.Ö 3000 yıllarında Hindistan'da, M.Ö. 2000 yıllarında Mısırda yetiştiriciliği yapıldığı tarihi kazılarda bulunan arkeolojik bulgularla görülmüştür. Avrupa'ya geçişi ise M.Ö. 600 yıllarında Anadolu'dan Yunanistan'a yayılarak gerçekleşmiştir. Amerika'ya hıyarın Avrupalılar tarafından dağıtıldığı bilinmektedir (Vural vd. 2000, Shoemaker 1953; Thompson ve Kelly 1957).

Cucurbitaceae (Kabakgiller) familyasına ait *Cucumis* L. cinsinin sıcak bölgelerde yetiştirilen yaklaşık olarak 30 türü vardır. Ülkemizde *Cucumis melo* L. (kavun) ve

Cucumis sativus L. (hıyar) olmak üzere yalnızca iki türünde ticari yetiştiricilik yapılır (Engin 1991). Kromozom sayısı $2n=14$ olarak bilinmektedir (Şeniz vd. 1995).

Hıyar bitkisinin bilimsel sınıflandırılması şöyledir;

Alem : *Plantae*

Sube : *Magnoliophyta*

Sınıf : *Magnoliopsida*

Takım : *Cucurbitales*

Aile : *Cucurbitaceae*

Cins : *Cucumis*

Tür : *sativus*

Binomial adı : *Cucumis sativus* L.

Anatomik açıdan bitkinin kök yapısı ana kök kazık, yan kökler saçak kök görünümündedir. Sürünücü ve tırmanıcı karakterli otsu bir gövdeye sahip olup, tırmanmayı gövde ve yan kollar üzerinde bulunan sülükler vasıtası ile gerçekleştirir. Çiçekleri genelde tek evcikli (monoik). Erselik (hermafrodit), gynoik ve andromonoik çiçekli çeşitlere de rastlanır. Ancak ticari olarak yetiştirilen çeşitler daha çok sadece dişi çiçek veren (gynoik) hatlardan geliştirilir. Bu bitkiler partenokarpik meyve verir. Ticari olarak yetiştiricilikte polinasyona ihtiyaç yoktur. Bitki stres altında ise bu yapıdaki bitkiler erkek çiçek vermeye de başlayabilir. Bu çeşitlerin tercih edilmesi partenokarpik meyve yapısının tüketimi kolaylaştırdığı düşüncesidir. Ancak ıslah çalışmalarında dişi çiçek eğilimine sahip bitkiler ıslah programına dahil edilecekse bitkilere gümüş nitrat veya GA₃ (Gibberallik asit) uygulaması yapılarak erkek çiçek oluşması teşvik edilir. Erkek ve dişi çiçekler sarı renkli olup 5 çanak ve 5 taç yaprağa sahiptir (Aybak ve Kaygısız 2004).

Meyve açısından değerlendirildiğinde pek çok farklı tipte hıyar yetiştiriciliği yapılmaktadır. Çeşitler meyve rengine, meyve şekline, meyve uzunluğuna, bir boğumda bulunan meyve sayısına, meyve dikenliliğine, meyve sapının meyveye bağlanma şekline, meyve gevrekliğine, meyvenin değerlendirilme şekline ve tat ve aroma durumuna göre farklı genetik yapılar içermektedir. Uzunluk açısından değerlendirildiğinde hıyarlar kısa (maksimum 15 cm), orta (16-25 cm) ve uzun (25 cm ve daha üstü) olmak üzere üç farklı şekilde sınıflandırılır. Bir boğumda oluşan meyve sayısı açısından tipler değerlendirildiğinde ise tekli (1 meyve), yarı multi (2-3 meyve) veya multi (3'ten fazla meyve) çeşitler mevcuttur. Meyvenin değerlendirilebilme şekline göre ise sofralık dilimlenebilir, sofralık kokteyl ve turşuluk hıyar çeşitleri mevcuttur (Demirel vd. 2016).

Sağlıklı beslenme, tüketici tercihlerindeki farklılıklar, pazar isteklerinin karşılanması, üretici açısından yetiştiricilikte hem ekonomik hem de pratiklik sağlayacak kriterler, nakliyata uygunluk vb. durumlar günümüz ıslahçıların izleyeceği yolda temel hedefleri belirleme açısından önemli unsurlardır. İyi bir sebze veya meyve çeşidinin

geliştirilmesi için izlenen yolda karşılaşılan engellerin hepsi önemli bir ipucudur. Hıyar (*Cucumis sativus* L.) çeşitlerinin iyileştirilmesinde de bu engellerden yola çıkılarak ıslah programları planlanmaktadır. Kokteyl tip hıyar (kısa) üretiminde özellikle multi ve yarı multi çeşitler tercih edilmektedir. Tüketici tercihleriyle, pazar istekleri doğrultusunda dikenli hıyar çeşidi ıslahında dikenli sık, boyunsuz-yuvarlak meyve yapısına sahip ve meyve ucunda çizgilenme istenmeyen çeşitler geliştirilmektedir. Sofralık dilimlenebilir Beith Alpha tip hıyarlarda acılık hissi olmayan, koyu renkli, boyunsuz meyveye sahip, yarı multi çeşitler tercih edilmektedir. Bunun yanında bu tip hıyarlarda külleme (PM), hıyar mozaik virüsü (CMV), kabak mozaik virüsü (ZYMV) gibi hastalık dayanımlarının mutlaka bulunması istenmektedir. Turşuluk olarak üretilen hıyar tiplerinde uzun meyve saplı, sık dikenli, açık yeşil, kısa tipli morfolojik özellikler istenirken, uyuz hastalığı (Scap), külleme (PM), mildiyö (DM) dayanımlarının olması gerekmektedir. Tipler için istenilen özelliklerin dışında da geliştirilen çeşidin hitap edeceği pazar ıslah hedeflerini belirlemede de belirleyici bir unsurdur. Örneğin; iç piyasada Beith-Alpha tip diye adlandırılan orta boyda meyve yapısındaki sofralık hıyar çeşitleri daha çok tercih edilirken, Asya ülkelerinde ise daha çok uzun tipli meyve yapısına sahip hıyar çeşitleri tercih edilmektedir. Rusya pazarının isteği ise dikenli hıyar çeşitlerinden yana olmaktadır. Avrupa ülkeleri daha çok meyve kabuğu rengi koyu yeşil olan çeşitleri talep etmektedir. Tüm bu farklı istek ve taleplere yanıt verilebilmesi F₁ hibrit ıslahı çalışmaları ile mümkündür (Demirel vd. 2016).

Hibrit tohum ıslahı, kendilenerek homozigotlaşmış iki bireyin melezlenmesi sonucu ebeveynlerden daha üstün özelliklerde bireylerin elde edilmesi temeline dayanır. Hibrit tohum teknolojisi, özellikle bitki verimine katkısı sebebi ile bitki genetik çalışmalarında yapılmış en büyük başarı olarak görülmektedir. Hibrit tohum ıslahı çalışmaları klasik ıslah metodları ve modern ıslah metodları ile birlikte yürütülmektedir. Sadece klasik ıslah yöntemleri kullanılarak yürütülen ıslah çalışmaları uzun yıllar alabilmektedir. Modern ıslah tekniklerinin gelişmesi özellikle yeni geliştirilen çeşidin piyasa ile çabuk buluşmasına olanak sağlamakla birlikte, ıslah firmalarının maliyetlerinin düşürülmesinde de fayda sağlamaktadır. Ancak modern ıslah yöntemleri bitki ıslahı çalışmalarında tek başına yeterli değildir. Klasik ıslah teknikleri uygularken yapılan fenotipik gözlemler, hatların özelliklerinin ayırt edilmesinde, dolayısı ile seleksiyon çalışmalarının kolay yürütülmesinde önemli bir araç olarak kabul edilmektedir (Demir 1990).

Modern ıslah yöntemleri teknoloji ile desteklenerek yürütülmektedir. Bitki üzerinde yürütülen bu çalışmalar bitki biyoteknolojisi bilimi olarak adlandırılmaktadır. Bitki biyoteknolojisi, DNA markörler, polimeraz zincir tepkimesi, somatik melezlemeler, gen transferleri, gen klonlaması, CRISPR-Cas9 gen düzenlemesi, kallus kültürü, süspansiyon kültürü, meristem ve sürgün ucu kültürü, embriyo kültürü, haploid bitki üretimi gibi tekniklerle genetik bilimine ve bitki ıslahına büyük katkı sağlamaktadır (Demir vd. 2010, Açar ve Kaçar 2021). Özellikle haploid bitki üretimi ve double haploid (DH) bitkilerin elde edilmesi kendileme ile homozigotlaştırılmaya çalışılan çeşitlerin daha kısa sürede elde edilmesine imkân sağlar. Bu sebeple haploid embriyo ve bitki eldesi çalışmaları son yıllarda bahçe bitkileri ve tarla bitkileri alanlarında, üzerinde oldukça fazla durulan konular arasındadır. Farklı bitkilerde geliştirilen uygun protokoller, bu alanda çalışma yapan ticari firmalara da kolaylık sağlayarak ticari çeşit geliştirmelerine yardımcı olmaktadır.

Mayoz bölünme sonucu ($2n=2x$) diploid eşey ana hücrelerinden oluşan haploid yapıdaki eşey hücrelerinden, *in vitro* ortamda farklı teknikler uygulanarak monoploid hücre yapısına sahip bitkilerin elde edilmesi haploid bitki teknolojisi olarak adlandırılmaktadır. Bu yolla oluşmuş bitkilere de haploid bitki adı verilir. Bu bitkiler somatik dokularında n sayıda kromozom bulundurur. Eşey ana hücrelerinin gamet hücrelerini oluşturabilmesi için $2n$ ve $2n$ 'in katlarında kromozom sayısına sahip olması, yani homolog kromozom setlerini bulundurması gerekir. Ancak eşey ana hücrelerinde homolog kromozomlar bulunmadığından mayoz bölünmenin metafaz I evresinde homolog kromozom eşleşmesi gerçekleşmez. Polen veya yumurta hücreleri oluşmaz. Dolayısıyla bu bitkiler kısırdırlar. Tek gen setine sahip bu bitkileri genetik alanında bilimsel bir araç olarak kullanabilmek için $2n$ yapısına dönüştürmek gerekir. Kromozom sayısını iki katına çıkarmak var olan tek gen setinin kopyalanması ile mümkündür (Germana 2011).

Bitki somatik dokularına uygulanan bazı kimyasallar vasıtası ile günümüzde haploid bitki yapısına sahip bitkiler double haploid ($2n=2x$) bitkilere dönüştürülebilmektedir. Mitoz bölünme geçiren n sayıda kromozom bulunduran somatik dokular bölünme esnasında replikasyon yaparak DNA varlığını iki katına çıkarır. Profaz I aşamasında bu kimyasallar iğ ipliklerinin oluşmasını engelleyerek, ilerleyen evrelerde ekvatorial düzleme dizilmiş kromozomların Anafaz I'de iki farklı hücreye ayrılmasını engeller ve tek bir hücrede başlangıçta n sayıda kromozom içeren yapının $2n$ sayıya dönüşmesini sağlar. Aynı DNA'nın kopyalanması sonucu oluşmuş bu yeni hücreler homozigot yapıdadır. Bu nedenle homozigot yapıdaki saf hatlar oluşur. Saf hatlar klasik ıslah yöntemleri ile yıllarca süren homozigotlaştırma işleminin kısa sürede yapılmasına olanak sağlar. Ayrıca resesif karakterlerin bireylerde görünme sıklığını artırır (Rao ve Suprasanna 1996).

Double haploid bitkilerin genetik bilimine sağladığı avantajlar Bal ve Pal (2020) ve Abak (1993) tarafından aşağıdaki gibi bildirilmiştir.

1. Haploid bitkiler genetik varyasyonun artmasına neden olurlar. Populasyonda bulunan resesif karakterler dominant genler tarafından baskılanamadığı için bu bitkilerin DH'e dönüşmesi sonucunda resesif genler baskın konumuna geçer. Dolayısıyla fenotipik açıdan ilk generasyonlarda gözlemlenebilirler.
2. Sitogenetik çalışmalara yardımcı olurlar. Hastalık dayanımı çalışmalarında kısa sürede sonuca ulaştırmayı sağlarlar.
3. Kısa sürede homozigot hatlar geliştirilerek bitki ıslah çalışmalarına katkı sağlamaktadırlar. Özellikle yabancı döllenene ve vejetasyon süresi uzun olan bitkilerde daha kısa sürede homozigot hatlar üretilebilir.
4. DH popülasyonları, araştırılan genlerin moleküler markerlar vasıtası ile hızlı tanımlanmasında etkilidir.
5. Kendileme ile saflaştırma yapılamayan dioik türlerde saf erkek bitkiler elde edilebilir.

6. Kantitatif özelliklerin kalıtımına, QTL haritalamasına, gen tanımlamasına yardımcı olur. DH popülasyon ayrıca Genomlarda Hedeflenen Lokal Lezyonların Hedeflenmesi (TILLING) için iyi bir deney materyalidir.

7. Ayrıca, sitoplazmik erkek kısırlığı olan bitkilerde birçok defa geriye melezleme yapmadan steril sitoplazmalarının istenen bir yere tek bir adımda transfer edilmesini sağlar.

8. Kendi kendine uyumsuz, dioecious ve kendileme depresyonu gösteren türlerde, kendilenmiş hatlar üretmeye olanak sağlayabilir.

9. Mutasyon ıslahında resesif yündeki mutasyonların çabuk fark edilmesine olanak sağlar.

Haploid bitkilerin organ yapıları diploid ve poliploid yapıdaki bitkilere göre daha küçüktür. Haploid bitkiler diploidlere göre daha küçük hücre hacmine sahiptir. Hücre hacmi küçüklüğünün bitki ploid seviyesi ile doğrudan ilişkisi vardır. Dolayısı ile ploid seviyesi düştükçe genel olarak bitki doku ve organlarında küçülme gözlemlenir. Bitkilerin ploid seviyesi farklı yöntemler ile belirlenebilir. Bunlarda en yaygın olarak kullanılan yöntemler, DNA içeriğinin ölçülmesine dayalı bir teknik olan flow sitometri yöntemi ve stoma bekçi hücrelerinin kloroplast sayımıdır (Dunwell 1976).

Doğada haploid bitkilerin kendiliğinden oluşabildiği de bilinmektedir. İlk haploid bitkiler 1922 yılında Blakeslee vd. tarafından *Datura stramonium* bitkisinde tespit edilmiştir. Ardından 1964, 1966 yıllarında yayımlanan çalışmada, Guha ve Maheshwari'nin anter kültürü tekniği ile *Datura innoxia* bitkisinde haploid bitki elde ettikleri bildirilmektedir. Doğal haploid bitkilerin genellikle poliembriyoni şeklinde oluştuğu, tohumda bulunan embriyoların diploid ve haploid olarak birlikte bulunduğu düşünülmektedir (Abak 1983).

Haploid bitki elde etme amaçlı yürütölen çalışmalarda farklı teknikler uygulanmaktadır. Bunlar ilk olarak *in vitro* (laboratuvar ortamında) ve *in vivo* (arazi ortamında) yöntemler olmak üzere iki ana başlıkta incelenir (Mishra ve Goswami 2014).

In vivo yöntemler Spontan oluşum, Hibridizasyon ve Parthenogenesis teknikleridir. Parthenogenesis teknikleri *in vivo* teknikler arasında en fazla uygulanan haploid üretim yöntemlerini içerir. Bu yöntemde amaç arazi koşullarında farklı tetikleyiciler ile yumurta hücrelerini döllenme olmuş gibi yanıltarak embriyonik bölünmesini başlatmaktır. Bu tetikleyici unsurlar, polenin döllenme yeteneğini kaybettikten sonra polünasyonunun sağlanması, değişik kimyasal ve hormon uygulamaları, sıcaklık şokları ve X ve Gama ışınları vasıtası ile döllenme yeteneğini kaybetmiş polenlerle tozlamadır (Işınlanmış polen tekniği). Özellikle ışınlanmış polen tekniği kabakgiller familyasına ait bazı türlerde oldukça başarılı sonuçlar vermektedir. Bu teknikte kısır polenlerle tetiklenen ovaryum büyümeye başlar ve belirli bir süre sonra laboratuvar koşullarında tohumları çıkarılarak besi ortamında kültüre alınır. Tohumun içerisinde bulunan embriyoların gelişimi gözlemlenir ve kalp aşamasında olduğu tespit edilen embriyolar tohum içerisinden *in vitro* koşullarda alınır ve embriyoların besi ortamında büyüme ve gelişmesi teşvik edilir (Mishra ve Goswami 2014).

Işınlanmış polen tekniği uygulaması ile karpuzda (Gürsöz vd. 1991; Sari vd. 1994; Taskin vd. 2013), kavunda (Sauton ve De Vault 1987; Lotfi vd. 2003; Baktemur vd. 2013), hıyarda (Truong-Andre 1988; Niemirowicz-Szczytt ve Dumas de Vault 1989; Sauton 1989; Çağlar ve Abak 1997; Lotfi vd. 1997; Dolcet-Sanjuan vd. 2004; Erol 2018), kabakta (Kurtar vd. 2002; Baktemur vd. 2014), ve balkabağında (Kurtar vd. 2009) haploid yapıda embriyo ve bitki elde edilmiştir.

In vitro yöntemler ise Androgenesis (erkek gametten haploid üretimi) ve Gynogenesis (dişi gametten haploid üretimi) şeklinde iki farklı şekilde uygulanır. Haploid embriyo ve bitki eldesine dayalı çalışmalarda bu teknikler daha başarılı sonuçlar vermektedir. Androgenesis yöntemi, içerisinde embriyoya dönüşebilecek nitelikte mikrospor ihtiva eden anterlerin laboratuvar ortamında ve özel besin ortamında kültüre alınması (anter kültürü) veya bu nitelikteki anterlerin içerisinde mikrosporların izole edilerek sıvı fazlı besin ortamında kültüre alınması şeklinde uygulanmaktadır. *Cucurbitaceae* familyasında androgenesis tekniklerinin her türde etkili olmadığını savunan araştırmacılar, genel olarak embriyo ve bitki oluşumunun sınırlı olduğunu bildirmektedirler (Galazka ve Niemirowicz-Szczytt 2013). Bu teknikle *Cucurbitaceae* familyasında haploid embriyo oluşumu ve bitki üzerine çalışma yapılan türler kavun (Dryanovska ve Ilieva 1983), hıyar (Lazarte ve Sasser 1982; Kumar vd. 2003; Kumar ve Murthy 2004; Mohamed ve Refaei 2004; Suprunova ve Shmykova 2008; Hamidvand vd. 2013; Amirian vd. 2020), kabak (Metwally vd. 1998) olmuştur. *Cucurbitaceae* familyasında mikrospor kültürü yöntemi yoluyla haploid bitki eldesine dair oldukça sınırlı araştırma bulunmaktadır (Çetinkaya 2015).

Dişi gametler kullanılarak *in vitro* koşullarda uygun besi ortamında kültüre alınıp, haploid embriyo ve bitki elde edilmesine gynogenesis adı verilmektedir. Bu teknik içerisinde ovül bulunduran ovaryumun doğrudan kültüre alınması (ovaryum kültürü) veya ovaryumdan izole edilen ovülün kültüre alınması (ovül kültürü) şeklinde uygulanır. Kabakgiller familyasında dişi gamet kültürünün oldukça olumlu sonuçlar verdiği görülmüştür. Olgun aşamada iken donör bitkiden alınan ovaryumların içerisinde bulunan ovülün döllenme yeteneğinde veya döllenme yeteneğine ulaşmaya yakın olması istenir (Gemes-Juhász vd. 2002). Gelişen embriyo veya embriyojenik kallusun orijininin yumurta hücresi, sinerjit ve antipodal hücrelerden kaynaklı olabileceği savunulmaktadır (Mukhambetzhonov 1997).

Androgenesise tepki vermeyen türlerin, albino rejenerasyonu yüksek bitkilerin, erkek kısır bitkilerin ve monoik, dioik çiçek yapısına sahip bitkilerin haploid olarak üretilmesine gynogenesis teknikleri iyi bir alternatif çözüm olarak görülmektedir (Pavlova 1987; Campion ve Alloni 1990; Choob vd. 1994; Mukhambetzhonov 1997; Thomas vd. 1999; Bhat ve Murthy 2007). Bu sebeple *Cucurbitaceae* familyası gibi monoik çiçek yapısına sahip bitkilerde gynogenesis teknikleri daha başarılı sonuçlar vermektedir. Özellikle partenokarpik dişi çiçek eğilimli ticari hıyar çeşitlerinin ıslah materyali olarak kullanılması ve bu bitkilerden haploid bitki elde edilmesi oldukça kolaylaşır. *Cucurbitaceae* familyasında ovül ve ovaryum kültürü çalışmaları kavun (Dryanovska ve Ilieva 1983; Sauton ve De Vault 1987; Ficcadenti vd. 1999; Lotfi vd. 2003) kabak (Chambonnet ve De Vault. 1985; Shail ve Robinson 1987; Kwack ve Fujieda 1988; Gemes-Juhász vd. 1996; Metwally vd. 1996; Shalaby 2007) ve hıyar (Dirks 1996; Gemes-Juhász vd. 2002; Chen vd. 2005; Diao vd. 2009; Wei vd. 2010; Xiaoli 2011;

Li vd. 2013; Moqbeli vd. 2013; Çetinkaya 2015; Sorntip vd. 2017; Özdemir Çelik vd. 2019; Erol 2018) türleri üzerine yürütülmüştür.

Bitki ıslah çalışmalarında bir araç olan haploid bitkiler kolay elde edilememektedir. Uygulanan protokollere, bitki türlerinin, hatta aynı tür içerisinde bulunan farklı çeşitteki bitkilerin yanıtları farklılık gösterebilir. Bu bitkilerin elde edilmesi büyük başarı olarak kabul edilmektedir. Double haploid bitkilerin üretimini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunlar uygun donör bitki seçimi, uygun eksplant seçimi, uygun gamet evresinin belirlenmesi, uygun sterilizasyon protokolü, belirlenen eksplanttaki embriyo oluşumunu başlatacak uygun besi ortamı içeriği, oluşan embriyoların bitkiye dönüşümünü sağlayacak uygun rejenerasyon ortamı içeriği, embriyo oluşumu için eksplanta uygulanabilecek ön uygulama protokollerinin belirlenmesi, bitki büyüme odası iklim koşulları (ışık, sıcaklık, nem) gibi faktörlerdir. Yürütülen çalışmalarda uygun protokollerin oluşturulması için genellikle besin ortamı içeriğinde bulunan makro-mikro elementler, vitaminler, şeker ve bitki büyüme düzenleyicilerin (BBD) doz ve kombinasyonları, ön uygulama teknikleri ve embriyo oluşumu için uygun gamet evresinin tespiti üzerinde durulmaktadır. Ancak diğer faktörlerin de oldukça önemli olduğu yapılan çalışmalarda görülmüştür. Özellikle donör bitkinin haploid bitki oluşumunu etkilediği kuvvetle muhtemeldir (Honkanen vd. 1990; Mukhambetzhonov 1997; Ata vd. 2019; Rivas-Sendra vd. 2020).

Donör bitki faktörü ele alındığında karşımıza birçok dikkat edilmesi gereken husus çıkmaktadır. Bunların en başında donör bitkinin genotipidir. Genotip DH'lerin üretiminde en sınırlayıcı faktörlerin başında gelmektedir. Bir protokol aynı türün içerisinde bulunan farklı genetik yapıya sahip bitkilerde farklı sonuçlar verebilir. Haploid çalışmalarına başarı oranının genotipe bağlı olduğu hıyar (Çetinkaya 2015), kabak (Shalaby 2007), biber (Şensoy 2011), tatlı patates (Kobayashi vd. 1993) ve soğan gibi türlerde kanıtlanmıştır (Alan vd. 2004). Ancak genotip dışında donör bitkinin yaşı, bitkinin yetiştirildiği mevsim, yetiştirilme ortamı (sera, açık arazi vb.), donör bitkinin sağlık durumu, yetiştirilme ortamının toprak yapısı, yetiştirilme ortamının ışığı (ışık şiddeti, fotoperiyot vb.), yetiştirilme ortamının sıcaklığı ve nemi, donör bitkiye uygulanan kültürel işlemler (sulama, gübreleme, hasad vb.) haploid embriyo ve bitki oluşumunu doğrudan veya dolaylı olarak etkileyen etmenlerdir. Ancak bu konularda oldukça sınırlı çalışmalar yürütülmüş, hatta bazı türlerde hiç araştırılma yapılmamıştır. Hıyarda haploid bitki eldesinde uygun besi ortamı protokolünün belirlenmesi üzerine yürüttüğümüz çalışmada bitki yaşının sonuçları etkilediği tarafımızca görülmüştür. Genotip başarı oranları da donör bitki faktörünün üzerinde durulması gereken bir konu olduğu düşüncesini uyandırmıştır (Çetinkaya 2015). Bir takım araştırmacının çalışmasında da donör bitkinin yaşının, yetiştirildiği çevresel koşulların, döllenmemiş yumurtalık kültüründe etkili olduğu yapılan çalışmalarda savunulmaktadır (Gibson 1987; Tyrnov ve Alatorceva 1990).

Bu sebeple haploid bitki eldesi çalışmalarına fayda sağlamak amaçlı yürüttüğümüz bu çalışmada, hıyarda gynogenesis tekniği ile embriyo ve bitki elde edilerek, donör bitkinin yaşı, eksplant olarak kullanılacak olan ovaryumun gelişimi esnasında maruz kaldığı sıcaklık, genotip etkisi, donör bitkinin yetiştigi mevsimin etkisi, farklı yıllarda yetiştirilen donör bitkilerin etkinliği üzerinde durulmuştur.

2. KAYNAK TARAMASI

Haploid bitki üretiminde uygun protokol tekniklerinin belirlenmesi üzerine şu ana kadar yaklaşık olarak 250 türde başarılı sonuçlar alındığını belirten araştırmacılar, double haploid teknolojisinin kullanılmasının ıslah sürecini kısaltmanın dışında DNA metilasyonun azaltılmasında, istenmeyen allellerin uzaklaştırılmasında ve özellik ve mutasyon analizlerinin kolay tespit edilmesinde etkili bir araç olarak görülebileceğini savunmaktadırlar (Maluszynski vd. 2003; Ren vd. 2017; Khan vd. 2020). Ayrıca bitki hastalıklarına karşı dayanım çalışmalarında dayanım geninin kolay tanımlanmasında da çok etkili bir yöntemdir (Hussain vd. 2012).

Kabakgillerde ilk haploid bitki çalışmaları Swaminathan ve Singh (1958) tarafından X-ray ışınları uygulanmış diploid karpuz tohumlarından geliştirilmiş haploid sürgünlerin elde edilmesi ve Aalders (1958)'in hıyar bitkilerinde spontan parthenogenesis yolu ile gelişmiş haploid tohumları tespiti üzerine olmuştur. İlerleyen yıllarda farklı bir teknik uygulayan Dumas de Vaulx (1979) *Cucumis melo*'yu *Cucumis ficifolius* poleni ile tozlaştırarak türler arası polinasyon tekniği uygulamış ve ovül içerisinde bulunan çekirdeklerin döllenmiş gibi bölünmesine sebep olmuştur. Böylelikle haploid embriyolar geliştirmiştir. Ancak yürütülen bu çalışmaların haploid embriyo ve bitki oluşturma frekansı oldukça sınırlı kalmış ve araştırmacılar *Cucurbitaceae* familyasında etkili olabilecek farklı teknikler aramaya başlamıştır. Gamet hücrelerinin indüksiyonunu sağlayan farklı teknikler kabakgiller familyasında da uygulanmış ve başarılı sonuçlara ulaşılmıştır. Bu familyada etkili olan protokoller genel olarak ışınlanmış polen tekniği (parthenogenesis), androgenesis ve gynogenesis olarak belirlenmiştir. Ancak tür ve genotipe göre hangi yöntemin daha etkili olduğu henüz netlik kazanmamıştır.

Yapılan çalışmalarda genel olarak donör bitkinin genotipi ve büyüme ortamı, ışınlama tekniği uygulamalarında uygun radyasyon dozu ve türünün belirlenmesi, eksplant türünün tespit edilmesi; embriyo oluşum besin ortamının ve bitki rejenerasyon besin ortamının optimize edilmesi, kromozom katlama ve ploidi seviyesinin belirlenmesi konuları üzerine yürütülmektedir (Sauton 1988; Sari vd. 1994; Claveria vd. 2005; Li vd. 2013; El-Maksoud vd. 2009; Taskin vd. 2013; Baktemur vd. 2014; Çetinkaya 2015; Hazem ve Golabadi, 2018)

2.1. *Cucurbitaceae* Familyasında Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Yapılmış Çalışmalar

2.1.1. Androgenesis üzerine yürütülmüş çalışmalar

Androgenesis tekniği çoğu türde anterlerden indüksiyona uğrayacak gamet sayısının fazla olması sebebi ile daha fazla tercih edilen bir yöntemdir. Böylelikle oluşacak embriyo ve bitki sayısının yüksek olması beklenir (Asadi vd. 2018). Birçok önemli ticari türde olumlu yanıt verse de kabakgiller ailesi üyelerinde farklı sonuçlar doğurabilmektedir.

Hıyar anterlerini *in vitro* kültüründe haploid bitki üretmek üzere kullanan Lazarte ve Sasser (1982), kallus gelişimini müteakip embriyo geliştiğini, fakat haploid bitki elde edilemediğini bildirmişlerdir.

Abdollahi vd. (2015)'nin karpuzun (*Citrullus lanatus* L.) anter kültürü tepkisini incelemek amacı ile yürüttükleri çalışmada, Charleston Grey ve Crimson Sweet genotiplerini kültüre almışlardır. Çalışmanın bir kolunda farklı hormon dozları ve besi ortamında buğday ovaryumlarının bulunmasının Charleston Grey genotipi üzerinde etkisini inceleyen araştırmacılar, 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) oksin hormonu ile kombine ettiği N6-benzilaminopurin (BAP) veya Kinetin (Kin) içerikli MS besi ortamlarına (Murashige ve Skoog 1962) eksplantları dikmişlerdir. Ayrıca farklı konsantrasyonlarda hormon içeren besi ortamlarına kontrol grubu da içerecek şekilde buğday ovaryumu aktarmışlardır. Çalışmada sonucunda 2,0 μM (Mikromolar) 2,4-D, 1,5 μM BAP içeren MS besin ortamına 10 adet buğday tohumu eklemenin anter başına embriyo verimini 2,5-3 kat artırdığı bildirilmektedir. Çalışmanın diğer bir kolunda ise farklı ön soğutma ve ön ısıtma derece ve sürelerinin Crimson Sweet çeşidi anterleri üzerinde denendiği söylenmektedir. Çiçek tomurcuklarını 4 °C'de 2-5 gün, kültüre alınmış anterleri 4 °C'de 4-8 gün ve kültüre alınmış anterleri 30 °C'de 7 gün, 32 °C'de 2 gün ön uygulamaya tabi tutan araştırmacılar, en yüksek embriyo yüzdesinin 32 °C'de 2 gün ön uygulamasına tabi tutulan anterlerden elde edildiğini bildirmektedir. Oluşan embriyoların ise 2,22 μM BAP, %3 sükröz ve %0,8 agar içeren MS ortamında rejenerasyonunun sağlandığı ve toplamda elde edilen 12 adet bitkiden 10 tanesinin haploid olduğu bildirilmektedir.

Farklı karpuz genotip ve alt türleri üzerinde anter kültürü etkinliğinin incelendiği bir çalışmada, 2 mg L⁻¹ 2,4-D + 90 g L⁻¹ sükröz takviyeli MS ortamı kullanılmış ve farklı dozlarda (1 ve 1,5 mg L⁻¹) BAP konsantrasyonları denenmiştir. Ayrıca poliaminlerin etkisini araştırmak için farklı dozlarda (500 ve 1000 μM L⁻¹) ortam içeriklerine spermidin (Spd) ve putresin (Put) ayrı ayrı ve birlikte eklenmiştir. Sadece hormon dozu etkinliğinin incelendiği ilk çalışmada anterlerin anthesisten 2 gün önce toplandığını ve karanlık koşullarda 32 °C'de 2 gün bekletildikten sonra kültüre alındığını bildirmişlerdir. Poliamin etkinliğinin incelendiği diğer çalışmada ise anterleri anthesisten 2 gün önce toplanarak ön işleme tabi tutulmadığı belirtilmektedir. Çalışmada araştırmacılar, genotipe göre farklı sonuçlar elde ettiklerini, poliamin kullanımının anter kültürü üzerine olumlu bir etkisi olduğu, ön sıcaklık uygulamasının genotipe bağlı olarak tepki verdiği ve kallus oluşumunu olumlu yönde etkilediği sonucuna varmışlardır (Akbaş ve Solmaz 2019).

Kurtar vd. (2016), kış kabağı (*Cucurbita maxima* Duch.) ve balkabağında (*Cucurbita moschata* Duch.) ışınlanmış polen tekniğinin başarılı bir şekilde çalışmasına rağmen büyük ölçekli bir üretim için yeterli frekansı oluşturmadığı düşüncesi ile bu türlerde anter kültürü çalışması yürütmüşlerdir. Çalışmada, farklı oranlarda 2,4-D, BAP, Kin, NAA (1-Naphthaleneacetic acid) kullanarak modifiye ettikleri MS besi ortamını kullanan araştırmacılar, en yüksek tepkiyi 2,0 mg L⁻¹ veya 4,0 mg L⁻¹ BAP + 0,05 mg L⁻¹ NAA (E6 besi yeri) kombinasyonu ile 57Sİ21 ve G9 hatlarından aldıklarını bildirmektedir. Ayrıca rejenere edilen bitkilerin 0,01 mg L⁻¹ IAA (İndol-3-Asetik Asit) ile desteklenen MS ortamında köklendirildiği ve elde edilen 74 bitkinin mikro çoğaltım ile çoğaltıldığı, ploidi analizleri sonucunda 35 bitkinin (%47,3) haploid (n = 20), diğerlerinin (%52,7) diploid (2n = 40) olduğu söylenmektedir.

Kumar vd. (2003), Calypso ve Green Long hıyar genotiplerinde anter kültürü çalışması yürütmüş ve hıyar tomurcuklarını 0-10 gün arasında değişen 4 °C ön soğutma ve ayrıca 1 gün 32 °C'de ön ısıtma uygulamasına tabi tutmuştur. B5 besi ortamına (Gamborg 1984) 2,4-D ve NAA ile modifiye ettikleri BAP, Kin ve TDZ (Thidiazuron)

sitokinin hormonlarını ilave etmişler ve kültür çeşitlerinin anterlerini dikmişlerdir. Optimum embriyojenik kallus / embriyoların, 2,0 μ M 2,4-D ve 1,0 μ M BAP ile desteklenen B5 ortamında ve çiçek tomurcuklarının 4 °C'de 2 gün boyunca ön soğutma uygulamasında elde edildiği bildirilmektedir. Elde edilen bitkilerin Calypso çeşidinde 21 adedi ve Green Long çeşidinde 17 adedi haploid olduğu saptanmıştır.

Hıyarda androgenesis yolu ile haploid embriyo ve bitki üretme üzerine uygun protokol oluşturmayı hedefleyen Kumar ve Murthy (2004), farklı oranlardaki şekerlerle (sükroz, maltoz, glikoz ve früktoz) ve aminoasitlerle (glutamin, glisin, arginin, asparagin ve sistin) modifiye ettikleri B5 besi ortamında hıyar anterlerini kültüre almıştır. Calypso ve Green Long çeşitlerini çalışmalarında donör bitki olarak belirleyen araştırmacılar, şeker ve aminoasidin türü ve konsantrasyonunun embriyogenesi etkilediğini, 0,25 M sükrozun embriyo oluşumu için en iyi olduğunu, 2,0 μ M 2,4-D ve 1,0 μ M BAP içerikli B5 ortamının iki çeşitte de en yüksek embriyo oluşumuna neden olduğunu bildirmektedir. Ayrıca araştırmacılar, glutamin, glisin, arginin, asparagin ve sistin aminoasitlerinden her birinin 1,0 mM (milimolar) oranında 25 μ M NAA, 0,25 μ M Kin ve 0,09 M sükroz ile modifiye edilmiş B5 besi ortamına eklenmesinin embriyo oluşumunu en yüksek seviyeye ulaştırdığını iddia etmektedir.

Kumar vd. (2004), "Calypso" ve "Green Long" hıyar çeşitlerinde androgenesis tekniği üzerine poliaminlerin etkisini (putresin ve spermidin; 5-1000 μ M) incelemişler, hıyar anterlerini, 2,0 μ M 2,4-D, 1,0 μ M BA ve farklı dozlarda putresin veya spermidine içeren B5 embriyo oluşum ortamına dikmişlerdir. Putresin ve spermidinin 5-200 μ M oranında eklenmesinin anterlerde embriyogenesi artırdığını, spermidinin her iki çeşitte de en yüksek embriyo oluşumuna (kültüre alınan 60 adet antere göre Calypso'da 90,66 ve Green Long 100,33 embriyo), neden olduğunu saptamışlardır. Ayrıca 500 veya 1000 μ M putresin ve spermidin kullanılmasının embriyo oluşumunu olumsuz etkilediğini bildirilmiştir. Elde edilen embriyoların rejenere olması için 25 μ M NAA, 0,25 μ M Kin ve 0,09 M sükroz ile modifiye edilmiş B5 besi ortamına dikildiğini bildiren araştırmacılar en yüksek embriyo oluşumu için 200 μ M spermidin içerikli besi ortamının kullanılmasını tavsiye etmektedir.

Uygun hıyar anter kültürü protokollerini geliştirmeye çalışan araştırmacılar, uygun mikrospor aşaması, ön uygulama sıcaklığı, genotip etkisi konuları üzerinde durmuştur (Xie vd. 2005). Araştırmaya göre genotiplere göre uygun mikrospor aşamasındaki tomurcuk uzunluklarının değiştiği, hıyar mikrospor kültürü için en uygun tomurcuk alım aşamasının, orta ve geç tek çekirdekli aşamada mikrospor ihtiva eden tomurcuk aşaması olduğu saptanmıştır. Genel olarak anter kültüründe, uygun mikrospor gelişim aşamasının morfolojik açıdan uygun zamanının, tomurcukların 0,90-1,5 cm (santimetre) uzunluğunda ve yeşil renkte, taç yaprakların üst uçlarının kapalı ve anterlerin beyaz yeşil veya açık yeşil olduğu zaman olarak belirtilmektedir. Ayrıca araştırmacılar, düşük sıcaklıkta ön işlem uygulamanın mikrospor canlılığını artırdığını, anterleri karanlıkta 48-72 saat boyunca 4 °C düşük sıcaklıkta bekletmenin kallus oluşumunu tetikleyen en elverişli ön uygulama tekniği olduğunu savunmaktadırlar.

Etkili bir hıyar (*Cucumis sativus* L.) anter kültürü protokolü geliştirmek için altı farklı başlık altında inceleme (ön işlem, embriyojenik kallus indüksiyon ortamı, ön kültür koşulları, embriyo oluşum ortamı, embriyo rejenerasyon ortamı ve genotip etkisi) yapan Song vd. (2007), donör bitkinin yetiştirildiği normal ekolojiye uygun bir ön sıcaklık

stresine maruz kaldığında iyi yanıt verebileceğini saptamışlardır. Denemelerinde kullandıkları soğuk bölgeye adapte bir hıyar genotipinin soğuk şoka iyi yanıt verdiğini, ılıman bölgelerden seçilen bir genotipin ısı işleme daha iyi yanıt verdiğini bildirmektedirler. Embriyojenik kallus indüksiyonu için en iyi ortamın, 4,44 μM BAP, 2,26 μM 2, 4-D, 4,64 μM KIN, %3 sakaroz ve %0,8 agar ile desteklenen MS ortamı olduğu, embriyo oluşumu için, 0,54 μM NAA, 13,32 μM BAP, %3 sükroz ve %0,8 agar ile desteklenen MS ortamı olduğu söylenmektedir. Embriyonun bitkiye dönüşmesi için ise, 2,22 μM BAP, %6 sukroz ve %1,2 agar içeren MS ortamı önerilmektedir. Denemede kültüre aldıkları 20 genotipten 16'sından kallus elde edildiği, 3 tanesinden de bitki rejenerasyonu gerçekleştiği ve denemede %93 oranında embriyo oluşumu kaydedildiği belirtilmektedir.

Suprunova ve Shmykova (2008), hıyar anterlerini, döllenmemiş ovaryumlarını ve mikrosporları embriyo gelişimi için, farklı hormon konsantrasyonları ile desteklenmiş besi ortamlarında kültüre almışlardır. Ovaryumlar %5 sükroz içeren farklı hormonlar ile modifiye edilmiş MS (Masuda vd. 1981) ortamında kültüre alınırken, anterler %8 sükroz içerikli MS + 100 mg L^{-1} serine, 800 mg L^{-1} glutamine ve farklı bitkisel hormonlar (2,0 mg L^{-1} 2,4- D ve 1,0 mg L^{-1} BA; 1,0 mg L^{-1} 2,4-D ve 0,5 mg L^{-1} BAP; 0,4 mg L^{-1} 2,4-D ve 0,2 mg L^{-1} BAP) ile modifiye edilmiş besin ortamına ve mikrosporlar 2,0 mg L^{-1} 2,4-D, %10 sükroz içeren NLN (Lichter 1982) sıvı besin ortamına aktarılmıştır. Mikrospor kültürünün anter kültürüne göre daha etkili olduğunu, ovaryum kültüründe en iyi embriyo ve bitki frekansının 0,2 mg L^{-1} thidiazuron (TDZ) ve 0,2 mg L^{-1} BAP içeren MS besi ortamından alındığını savunmaktadırlar. Gynogenesis yolu ile kültüre aldıkları 10 genotipten sadece 'Gordion' genotipinden haploid bitki elde ettiklerini, anterin en iyi yanıt verdiği aşamanın, geç tek çekirdekli mikrospor ve erken çift hücreli polen taneleri olduğunu bildirmektedirler.

Altı farklı genotipin kullanıldığı hıyar androgenesis çalışmasında uygun hormon dozu ve uygun hormon içeriği üzerinde çalışma yürüten araştırmacılar (El- Maksoud vd. 2009), üç farklı hormon konsantrasyonu ile zenginleştirdikleri MS besi ortamında hıyar anterlerini kültüre almışlardır. Çalışma sonunda genotipler arasında çok büyük farkların tespit edildiği, genotip ve hormon seviyesi arasındaki ilişkinin kallus oluşturma ve yeşil doku oluşturma açısından etkili bir faktör olduğu ve en iyi yanıtın üç farklı hormon seviyesinde de Speed Way çeşidinden alındığını bildirmişlerdir.

Zhan vd. (2009)'nin hıyarda mikrospor kültürü üzerine yürüttükleri çalışmada, 10 farklı hıyar genotipi kullanmış olup, farklı hormon konstrasyonları içeren besi ortamları denemiştir. "7447" ve "Poinsett97" genotiplerinden kotiledon aşamasında embriyo ve bitkicik elde ettiklerini bildiren araştırmacılar, uygun mikrospor aşamasının belirlenmesinin ve genotipin embriyogenesis için anahtar faktör olduğunu bildirmişlerdir. Geç aşamada olan çok çekirdekli mikrosporum en iyi aşama olduğunu belirten araştırmacılar, 2-4 gün boyunca 4 °C sıcaklığa maruz kalmış mikrospordan daha iyi yanıt alındığını savunmaktadırlar. Ayrıca düşük konsantrasyonlarda hormonların (0,5 mg L^{-1} 2, 4-D ve 0,2 mg L^{-1} BA) embriyo oluşumu için etkili olduğunu, kullanılan NLN ve B5 besi ortamları arasında embriyo etkinliği üzerine anlamlı bir farklılık olmadığı, rejenere olmuş bitkiciklerin sadece kotiledon aşamasındaki embriyolardan elde edildiğini ve diğer gelişim aşamasındaki embriyolardan hiçbir bitki gelişmediğini bildirmektedirler.

Nguyen ve Chen (2012)'in Kumar vd. (2003), Song vd. (2007) ve Zhan vd. (2009) tarafından hazırlanan protokollere dayanarak yürüttükleri çalışmada, Kaluoer, HH1-8-57 ve Jinlu Nongjiale adlı üç hıyar genotipinin anterlerini, en uygun ön uygulama tekniklerini (sıcaklık ve süre) araştırmak üzere deney materyali olarak kullandıklarını bildirmektedirler. Ayrıca etkili ortam bileşenlerinin de araştırıldığı çalışmada, anterlerin 4 °C'de 2 gün ön işlemden geçirilmesinin embriyojenik kallus indüksiyon oranını önemli ölçüde artırdığı, en yüksek embriyojenik kallus oranının (%81,3) Zhan ortamından (MS + 1,0 mg L⁻¹ 2,4-D + 0,5 mg L⁻¹ 6-BAP + %3 sukroz + %0,8 agar) elde edildiği belirtilmektedir. Bunun yanı sıra en yüksek embriyo oluşum oranı ise (%40,0) Song vd. (2007)'nin embriyo oluşum ortamından (MS + 0,1 mg L⁻¹ NAA + 3,0 mg L⁻¹ BAP + %3 sakaroz + %0,8 agar) elde edildiği bildirilmektedir. Genotipin etkisinin de açıkça görüldüğünü belirten araştırmacılar, en yüksek embriyojenik kallus indüksiyon oranının Jinlu Nongjiale genotipinde (%81,1), en yüksek embriyo oluşum oranının ise HH1-8-57 (%40,0) genotipinde olduğunu söylemektedirler.

Hamidvand vd. (2013)'nin farklı genotip ve bitkisel hormon kombinasyonlarının hıyar (*Cucumis sativus* L.) anter kültüründe kallogenesis ve embriyogenesis oluşumu üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, iki farklı hıyar genotipi (Beta Alfa ve Esfahani) kullanmışlardır. 2,4-D, NAA, BAP ve Kin hormonlarının farklı dozları ile oluşturdukları besi ortamına aldıkları anterlerden, en yüksek embriyo oluşumunu 2 µM 2,4-D ile 1,0 µM BAP hormonlarının kombinasyonunda, en yüksek kallus oluşumunu ise 1,5 µM Kin ile 2 µM 2,4-D hormonlarının kombinasyonunda elde ettiklerini bildirmektedirler.

Bir hıyar tipinin (Beith alpha) ve üç yerel İran hıyarının (Basmenj, Isfahani ve Korki) donör bitki olarak belirlendiği bir çalışmada, hıyar anterleri farklı kuvvetlerde MS besi ortamına (yarı güçte, tam güçte, 1,5 kat gücünde, 2 kat gücünde) aktarılmış olup, bu besi ortamları farklı konsantrasyonlarda agar (0, 3,5, 7 ve 14 g L⁻¹) ile desteklenmiştir (Abdollahi vd. 2016). Gelişen kallusların embriyo oluşturma durumlarına göre değerlendirme yapan bilim insanları, farklı güçlerde uygulanmış makro besinlerin ve agar konsantrasyonlarının androgenesis büyük ölçüde etkilediğini bildirmektedir. Bunun yanı sıra 2 kat gücünde MS besi ortamında gelişmiş Isfahani genotipinde en yüksek oranda (%100) kallus oluştuğu, tam ve yarı güçlü MS ortamında ise bu yerel çeşitte maksimum (1,26 ve 1,23 embriyo/anter) anter başına embriyo geliştiği görülmüştür. İkinci deneme olan uygun agar dozunun belirmesine yönelik çalışmada ise; en yüksek kallus oluşumunun Basmenj yerel çeşidinde 14 g L⁻¹ ve 7 g L⁻¹ agar dozunda, Isfahani çeşidinde 3,5 g L⁻¹ agar dozunda veya sıvı kültürde, Beith alpha tipinde 7 g L⁻¹ agar dozunda ve Korki yerel çeşidinde 14 g L⁻¹ agar dozunda elde edildiğini bildirmektedirler. Tüm genotiplere bakıldığında en yüksek embriyo oranının Korki çeşidinde 14 g L⁻¹ agar kullanımında elde edildiği savunulmaktadır.

Asadi vd. (2018), hıyar anter ve mikrospor kültürü protokollerinin uygulandığı çalışmalarda çok yüksek oranlarda haploid embriyo ve bitki elde edilmemesinden dolayı, daha verimli bir protokol oluşturmayı hedeflemiştir. Bu sebeple yürüttükleri çalışmada, iki hıyar genotipinin tomurcuklarını 4 °C ön sıcaklık uygulamasına tabi tutmuşlar, ardından sterilize ettikleri tomurcukların anterlerini BAP ve 2,4-D ile destekledikleri besi ortamında kültüre almışlardır. Kallus oluşumunun teşviki için, ilk olarak sıvı kültürde karanlıkta 35 °C beklettikleri anterleri daha sonra katı ortama aktarmış ve aydınlık ortamda gelişimi sağlamıştır. Çalışma sonunda genotipin, anter dokularının farklılaşmasının, besi ortamı bileşenlerinin, indüksiyon ortamı hormon içeriğinin hıyar

anter kültürü çalışmalarında önemli bir etkisi olduğunu savunan araştırmacılar, hıyarda androgenesis çalışmalarının hala geliştirilmesi gerektiğini, gynogenesis veya parthenogenesis kadar yüksek oranda haploid embriyo ve bitki elde edemediklerini bildirmiştir.

Amirian vd. (2020) iki Beith alpha F₁ hıyar (*Cucumis sativus*) hibridinde (BT1 ve BT2, gynoecious) ve Dastgerdi hıyar (DTG, monoecious) genotipinde, erkek çiçek indüksiyonunu ve bu genotiplerin androgenesis yeteneklerini değerlendirmek üzere bir çalışma yürütmüşlerdir. Araştırmacılar gynoecious hıyar genotiplerinde erkek çiçeklerin indüksiyonu için ilk gerçek yaprak oluşumundan sonra AgNO₃ (3 mM), GA₃ (1,5 mM) ve CoCl₂ (3 mM) ile oluşturulmuş kombinasyonlu solüsyonların birer hafta ara ile 3 defa püskürtülmesi işlemini uyguladıklarını belirtmektedir. Uygulamadan 6 hafta sonra genotiplerde sırasıyla erkek çiçek sayısı 42, 14,5 ve 0 adet olduğunu hesaplayan araştırmacılar, erkek çiçek oluşumu için sadece gynogecious yapısındaki çeşitlerde erkek çiçek indüksiyonu uygulamıştır. Çok çekirdekli geç aşamada aldıkları anterleri Song vd. (2007) besin ortamı protokolüne göre kültüre alan araştırmacılar, anterleri kallus gelişimi için 4 hafta boyunca 25°C sıcaklıkta muhafaza etmişlerdir. Gelişen embriyojenik kalluslar 2,22 µM BAP ve %6 süktroz içerikli MS besi ortamında, 3 hafta boyunca, aynı sıcaklık derecesinde, aydınlık koşullarda bekletilmiştir. Kotiledon aşamasına ulaşan embriyolar hormonsuz besi ortamına aktarılmış ve bitkiye dönüşümü teşvik edilmiştir. Sonuçta; üç genotip arasında en yüksek embriyojenik kallus oluşum oranının (%62,2) DTG genotipinde gerçekleştiği, en düşük ise (%3,3) AgNO₃ ile erkek çiçek oluşumu teşvik edilmiş BT1 genotipinde tespit edildiği bildirilmektedir. DTG genotipinden 11 adet, BT2-AgNO₃'ten 2 adet ve BT2-GA₃'ten 3 adet double haploid bitki elde edildiği bildirilmektedir.

2.1.2. Parthenogenesis üzerine yapılmış çalışmalar

Cucurbitaceae familyası üyelerinde türlere ve genotiplere göre tepkiler değişmekle birlikte en olumlu yanıtlar *În situ* tekniği ve gynogenesis tekniklerinden alınmaktadır. Anter kültürü üzerinde yürütülen çalışmalarda genellikle embriyojenik kallus üretme ve indirekt embriyo oluşumunu tetiklemek üzerine olmuştur. Ancak yapılan çalışmalarda, *in vitro* androgenesis yöntemi uygulanmış *Cucurbitaceae* familyası üyelerinden elde edilen kallustan da oldukça sınırlı sayıda haploid bitki üretimi gerçekleştiği bildirilmektedir (Shail ve Robinson 1987; Galazka ve Niemirowicz-Szczytt 2013; Asadi vd. 2018).

Partenogenesis tekniği, *in vivo* koşullarda farklı tetikleyiciler (türler arası tozlama, farklı kimyasal ve hormon uygulamaları, sıcaklık şokları ve X ve Gama ışınları) vasıtası ile yumurta hücrelerini döllenme olmuş gibi yanıltarak embriyonik bölünmesini başlatma mantığı ile yönetilir. Araştırmacılar tarafından daha çok ışınlanmış polen tekniği (*in situ*) çalışmaları yürütülmektedir. *În situ* çalışmalarının bir bölümü *in vivo*, bir bölümü de (embriyo kurtarma) *in vitro* olarak yürütülür (Vijverberg vd. 2019).

İki farklı türde türler arası tozlama tekniğini kullanarak partenogenik haploid embriyo ve bitki oluşturmaya hedefleyen Dumas de Vaultx (1979), türlerden birini *Cucumis melo* L. (2n=24), diğerini *Cucumis ficifolius* (2n=4x=48) olarak belirlemiştir. Ovaryumu uyarılacak olan kavun dişi çiçeklerinin stigmalarını yüzeysel olarak keserek, *Cucumis ficifolius* polenleri ile tozlamış ve meyveler elde etmiştir. Kavun meyvelerinden

çıkan tohumları çimlendiren araştırmacı, gelişen bitkilerin daha küçük boyutlu olduğunu görmüş ve bu bitkilerde yaptığı kromozom sayımları sonucu, bitkilerin haploid yapıda olduklarını; mevsime göre haploid bitki oluşma oranının değiştiğini, ilkbahar aylarında %0,284, sonbaharda ise %0,07 olduğunu saptamıştır.

Karpuzda ışınlanmış polen kültürü ile uyartım üzerine çalışma yürüten Gürsöz vd. (1991) bitki materyali olarak bir adet F₁ hibrit çeşidi (Panonia), üç adet açıkta tozlanan çeşit (Crimson sweet, Sugar baby ve Halep Karası) belirlemiştir. Çalışmalarında Sauton ve De Vault (1987) protokolünü uygulayarak polenler 300 Gy (Gray) ışınla denatüre edilmiştir. Bu protokolün donör bitkinin yetiştirme mevsimine ve genotipe olan etkisini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada tozlaşma döneminin bitki gelişiminin aktif olduğu dönemde yapılması gerektiği önerilirken, kendi çalışmalarında en uygun tozlaşma döneminin 31 Mayıs-13 Haziran tarihleri arasındaki dönem olduğunu bildirmektedirler. Ayrıca toplamda %72'si globüler, %28'i kalp aşamada olan, 761 adet embriyo elde edildiği, bu embriyolarda sadece 17 adedinin bitkiye dönüştüğü ve bunların da hepsinin haploid olduğu bildirilmektedir.

Işınlanmış polen tekniği ile hıyarda haploid embriyo ve bitki elde etmeyi amaçlayan Przyborowski ve Niemirowicz-Szczytt (1994), 300 Gy gama ışınıyla kısırlaştırdıkları "B" kendilenmiş hattının polenleriyle dört farklı F₁ çeşidini (Sweet Salad, Polan, Fremont, WPR 187) tozlamışlardır. Ardından 3-5 hafta sonra hasat ettikleri meyvelerden aldıkları tohumları E20A (Sauton ve De Vault 1987) ortamına ekmişlerdir. Köklenen bitkileri MS ortamına aktardıklarını bildiren araştırmacılar, en çok embriyoyu Polan F₁ çeşidinde (meyve başına 3,1 adet embriyo) elde ettiklerini, bunların %50'sinin bitkiye dönüştüğünü, Fremont F₁ çeşidinde meyve başına embriyo sayısının 1,2 adet olmasına rağmen bitkiye dönüşüm oranının %67,5 olduğunu tespit etmişlerdir. Ortalama olarak üç yıl çalışılan bu araştırmada özellikle mevsim etkisi üzerine de durulmuş olup, yaz ve ilkbahar mevsimlerinde geliştirilen donör bitkilerin ışınlanmış polen kültürüne olan tepkisi de incelenmiştir. Çalışma sonunda meyve başına gelişen embriyo sayısının (2,51 adet) yaz aylarında bahar aylarına (0,69 adet) göre daha iyi olduğu saptanmıştır.

Çağlar ve Abak (1997), *In situ* tekniği kullanarak partenogenik uyartım ile haploid embriyo ve bitki elde etmeyi amaçlamışlardır. Yürüttükleri çalışmada, gama ışın dozları ve tozlaşma zamanının belirlenmesi gibi konular üzerinde durmuşlardır. 27 farklı genotip üzerinde çalışan araştırmacılar, düşük dozlarda ışın uygulamasının (200, 300 Gy) haploid embriyo oluşum frekansını genotipe bağlı olmaksızın artırdığını bildirmişlerdir. Türkiye'nin Akdeniz Kıyı Bölgesi iklim koşulları için haploid bitki üretiminde en iyi polinasyon zamanının mayıs-eylül ayları olduğu savunulmaktadır.

Faris vd. (1999), farklı genotiplerdeki hıyar hatlarında ışınlanmış polen tekniği kullanarak haploidizasyon çalışmaları yürütmüştür. Çalışmayı dört farklı aşamada inceleyen araştırmacılar, birinci aşamalarında 0,2 kGy (Kilo Gray) ve 0,3 kGy ışın dozu uygulanmış kısır polenler ile tozlaşma sağladıkları beş saf hat ve 3 melez hat üzerinde denemişler ve en etkin ışın dozunu bulmayı hedeflemişlerdir. Çalışmanın ikinci aşamasında en verimli iki saf hat ve bir saf hattın melezi olan genotip seçilmiş ve bu genotipler 0,05 kGy, 0,1 kGy, 0,2 kGy ve 0,3 kGy ışın dozu ile kısırlaştırılmış polenler ile tozlaştırılmıştır. Son 3. ve 4. denemede ise yüksek embriyo verimi olduğu bilinen bir genotip 0,1 kGy ve 0,3 kGy ışın uygulanmış polenlerle tozlanmıştır. İlk denemede en yüksek embriyo verimi Gy3xM ve BxOg melezlerinden elde edildiği ve 0,2 kGy ışın

dozunun hemen hemen iki genotipte de iyi sonuç verdiği, ancak tüm genotipler değerlendirildiğinde etkili ışın dozununun genotipe göre değiştiği bildirilmektedir. Bu denemede toplamda 717 adet embriyo elde edilmiş olup, bunların %3,3'ü bitkiye dönüştüğü söylenmektedir. Tüm ışın dozlarına bakıldığında en etkili ışın dozunun 0,3 kGy olduğu görülmüştür. Bir sonraki denemede ise kültüre alınmış 3 farklı genotipten uygulanan tüm dozlarda en yüksek embriyo veriminin Gy3xM melezinden elde edildiği, tüm genotipler için en yüksek embriyo veriminin 0,1 kGy ışın dozu ile kısırlaşmış polenlerin uyartımı ile gözlemlendiği bildirilmektedir. Işın dozu 0,05 kGy uygulamasında ise gelişen bütün embriyoların diploid yapıda olduğu görülmüştür. İlk iki denemenin sonucuna göre en etkili ışın dozunun belirlendiği 3. ve 4. uygulamalarda ise, verimli bir genotipe 0,1 kGy ve 0,3 kGy uygulamaları yapılmış ve her ikisinde de embriyo verimi için en etkili ışın dozunun 0,1 kGy olduğu tespit edilmiştir. Ancak bitkiye dönüşüm oldukça sınırlı oranda kaldığı araştırmacılar tarafından belirtilmektedir.

Caglar ve Abak (1999), hıyarda *In situ* tekniği uygulayarak geliştirdiği haploid embriyo ve bitkilerin oluşmasına etken olan donör bitki genotipi ve donör bitki yetiştirilme mevsimi, ışın dozlarının meyve tutumuna etkisi ve partenogenetik embriyo oluşum oranı konuları üzerinde durmuştur. Qamar F₁, Seraset F₁, Dere ve Çengelköy çeşitlerini 300, 450 ve 600 Gy'de gama ışınlarına maruz kalmış polenlerle tozlayan araştırmacı, en verimli embriyo oluşturan ışın dozunun 300 Gy olduğu kanısına varmıştır. Ayrıca genotip ve mevsimin hıyarda ışınlanmış polen kültürü ile üretime büyük etkisi olduğunu belirten araştırmacı, mayıs-eylül ayları arasında *in vitro* kültüre alınan embriyolardan daha fazla sayıda haploid bitki elde ettiğini, hibrit genotiplerin açıkta tozlaşan Dere ve Çengelköy'e göre daha fazla sayıda haploid bitki oluşturduğunu bildirmektedir. Haploid embriyo oluşumu için ise nisan ve ekim ayları arasındaki sıcak dönemin en iyi mevsim olduğu, en yüksek tohum üretiminin ise haziran ayında gerçekleştiği bildirilmektedir. İki yıllık çalışma sonunda toplamda dört çeşitten 190 adet haploid bitki elde edilmiştir.

Dolcet vd. (2004), hıyarda ⁶⁰Co (Kobalt 60) kaynaklı gama ışını ile 250 ve 500 Gy dozunda ışınlama yaparak denatüre ettiği polenleri kullanarak partenogenetik haploid embriyo oluşumu konusu üzerine çalışmışlardır. Embriyoları X ışını radyografisi ile tespit ederek *in vitro* kültürde rejenerasyonunu sağlayan araştırmacılar, oluşan embriyoları E20 ortamını modifiye ederek oluşturdukları E20H8 (7,9 mM CaCl₂.2H₂O, 0,17 mM CoCl₂.6H₂O, 0,10 mM FeEDTA, 20 g L⁻¹sükroz, 8 g L⁻¹Difco Bacto agar) besi ortamına ekmişlerdir. Ayrıca kök gelişimini desteklemek ve vitrifikasyonu önlemek amacı ile bitkilerin besi ortamlarına 0,06 µM indol asetik asit (IAA) ve 15 µM gümüş tiyosülfat (STS) eklendiği söylenmektedir. Gelişen bitkilerin ise ploidi seviyesinin ise "Flow sitometri yöntemi" ile belirlendiği ve haploid olduğu tespit edilen bitkilerin besi ortamına 500 µM kolhisin eklenerek bitkilerin DH hale getirildiğini bildirilmektedirler. Çalışma sonunda en etkili ışınlama dozunun 500 Gy olduğu, tüm genotiplerden toplamda 587 adet meyve oluştuğu, bunlardan 116 adet embriyonun tespit edilerek kurtarıldığı, bu çalışma ile 38 adet haploid bitki elde edildiğini belirtilmektedirler.

Smiech vd. (2008), haploid ve double haploid hıyarların eldesinde RAPD markırların kullanımı üzerine yürüttükleri ışınlanmış polen kültürü çalışmasında, 300 Gy ve 800 Gy gama ışın dozları ile kısırlaştırdıkları polenlerle dört farklı genotipi (Krak F₁, Frykas F₁, Izyd F₁ ve Polan F₁) tozlamışlardır. Tozlamadan 3-5 hafta sonra tek tek açma yöntemi ile embriyo kurtarma tekniği uygulandığı ve embriyoların gelişmesi için E20A

ortamına aktarıldığı belirtilmektedir. Çalışma mayıs-haziran (bahar) ve ağustos-eylül (yaz) olmak üzere iki sezonda yürütülmüştür. Bu araştırma sonunda bahar mevsiminde tüm çeşitlerden %15,2 oranında bitki rejenerasyonu elde eden bilim insanları toplamda 54 adet bitki elde etmişlerdir. Bu mevsimde en düşük embriyo rejenerasyonunun Polan F₁ çeşidinden (%7,8), en yüksek ise Krak F₁ çeşidinden (%21,1) elde edildiğini bildirilmektedirler. Yazdan sonbahara kayan sezonda ise en yüksek embriyo rejenerasyonun Krak F₁ çeşidinde (%41,9), en düşük ise Izyd çeşidinde (%9,3) gerçekleştiğini söylenmektedirler. Tüm çeşitlerden bu mevsimde toplamda 333 adet embriyo ve 85 adet bitki elde eden araştırmacılar, üç çeşitte yaz döneminde bahar dönemine göre daha iyi yanıt aldıklarını (%25,5), Izyd çeşidinde ise bahar döneminde daha fazla embriyodan bitkiye dönüşüm tespit ettiklerini bildirmektedirler.

Kurtar vd. (2009) farklı tarihlerde (9, 11, 15, 21 ve 28 Temmuz) uyguladıkları gama ışınlarının ve ⁶⁰Co ışın dozlarının (50, 100, 200 ve 300 Gray) bal kabağında (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poir.) ışınlanmış polen tekniği yolu ile haploid embriyo ve bitki elde edilmesi üzerine etkilerini araştırmıştır. Çalışma sonunda düşük dozda (50 ve 100 Gy) ve erken tarihte uygulanan (9 ve 11 Temmuz) ışınlamanın haploid embriyo ve bitki oluşumunu artırdığı, ayrıca haploid embriyo oluşumunu ve haploid embriyo formunu çeşidin ve meyve hasat süresinin önemli derecede etkilediğini görülmüşlerdir. En iyi meyve hasat zamanının tozlaşmadan 3 hafta sonra olduğunu belirleyen araştırmacılar, hasat zamanı geciktikçe nekrotik yapıda embriyolarında arttığını, ışınlanma tarihi 9 ve 11 Temmuz tarihinde olan meyvelerden en yüksek oranda haploid embriyo ve bitki elde edildiğini bildirmektedirler. Bu çalışmada toplamda 13 adet meyveden 213 embriyo elde edilmiş olup, bunlardan 34 adedinin (%15,96) bitkiye dönüştüğü söylenmektedir.

Hastalık dirençli kavun (*Cucumis melo* L) F₁ hibrit çeşitlerini donör bitki olarak belirleyen Ari vd. (2010), 300 Gy gama ışın kaynağı ile denatüre ettikleri polenleri bir gün sonra polünasyonda kullanmışlardır. Tozlanan ovaryumlardan %94 oranında meyveye dönüşüm gözlemleyen araştırmacılar, tozlamadan 3-4 hafta sonra meyveleri hasat etmişlerdir. Tohumların ekstraksiyonu için üç farklı yöntem (M1; Tohumların tek tek çıkarılması, M2; Tohumların hepsinin petri kaplarına ekilmesi, M3; Haploid embriyo taşıyan embriyoların ışık kaynağı ile tespiti) kullanıldığı, hasat edilen 204 adet meyveden 280 adet haploid, 44 adet diploid ve 8 adet miksploid embriyo elde edildiğini bildirilmektedirler. Uygulanan üç farklı tekniğe göre meyvelerden haploid embriyoların tespit edilme süresinin sırası ile 162, 125 ve 49 dakika olduğu, doğru tekniğin uygulanmasının hem zaman hem de ekonomik açıdan önemli olduğunu belirtilmektedirler. Dolayısı ile M3 tekniğinin uygulanması gerekliliğini savunmaktadırlar.

Çeşitli dozlarda gama ışın dozları (150, 200, 250, 300 ve 350 Gray) uyguladıkları kavun polenleri ile tozladıkları dişi çiçeklerden haploid embriyo ve bitki elde etmeyi hedefleyen Godbole ve Murty (2012), 21 gün sonra partenogenik olarak gelişen meyveleri hasat ettiklerini bildirmektedirler. Çıkarılan tohumları E20A besi ortamında kültüre alan araştırmacılar, en iyi ışın dozunun 250 Gy olduğunu, 150 ve 200 Gy gibi düşük dozların ve 300 Gy gibi yüksek dozların haploid embriyo oluşturmaya etkilerinin oldukça düşük belirlendiğini söylemektedirler. Kültüre alınan embriyolardan sadece kotiledon aşamasında olanların bitkiye dönüştüğünü saptamışlardır. Oluşan bitkilerin haploid oldukları "Flow Sitometri" yöntemi ile doğrulanmıştır.

Taskin vd. (2013) karpuzda faydalı haploidizasyon protokolü geliştirmek için iki farklı karpuz genotipini, beş farklı doz (^{60}Co 50, 150, 200, 275 ve 300 Gy) uygulanarak kısırlaştırılmış polenlerle tozlamışlardır. Tozlamadan 25 gün sonra hasat edilen meyvelerden çıkardıkları tohumları tek tek açarak embriyoları kurtarmışlar ve 30 g L⁻¹ süktroz, 8 g L⁻¹ agar, 0,08 mg L⁻¹ B12 ve 0,02 mg L⁻¹ IAA içeren CP besisi ortamına aktarmışlardır. Toplamda hasat edilen 43 adet karpuz meyvesinden 60 adet haploid embriyo elde edildiğini, uygulanan ışınlama dozları arasında en başarılı dozun 275 Gy, (%5,26 haploid embriyo) olduğu belirlenirken, en iyi yanıt veren genotipin ise Genotip 1 olduğunu belirtmişlerdir.

On dört farklı kabak genotipinde 3 farklı dozda (150, 200, 300 Gy) ışınlama uygulaması ile ışınlanmış polen tekniğini deneyen Baktemur vd. (2014), ilk yıl 219 adet meyveden 1851 adet embriyo elde ettiklerini bildirmektedirler. Ayrıca, 150 Gy ışınlama dozundan %9,12 haploid embriyo, 200 Gy ışınlama dozunda ise %3,53 haploid embriyo geliştiğini bildiren araştırmacılar, çalışmanın embriyo verimi açısından en başarılı genotipinin Genotip 3 olduğunu, en başarısız genotipinin ise Genotip 4 olduğunu bildirmektedirler. İkinci yıl denemelerinde ise 8 genotip denendiğini, en yüksek embriyo oluşumunun 150 Gy ışınlama dozu uygulamasından alındığını belirtilirken; 217 adet hasat edilen meyveden 2625 adet haploid embriyo elde edildiğini, bu yılda en başarılı genotipin Genotip 6 olduğunu belirtmişlerdir.

Çelikli (2016), yüksek lisans tezinde Galia ve Kırkağaç tipi kavun (*Cucumis melo* L.) genotiplerinde (Galia; K-7, K-12 ve K-13, Kırkağaç; K-17) uyguladığı parthenogenesis yolu ile haploid embriyo ve bitki eldesi çalışmasında, üç farklı ışınlama dozu ile ışınlanan polenlerin uyardığı kavunlardan gelişmiş embriyoları *in vitro* kültürde üç farklı besin ortamında kültüre almıştır. Çalışma sonunda Galia genotiplerinde tohum sayısının Kırkağaç genotipine göre daha fazla olduğu, 350 Gy ışınlama dozu uygulamasının tüm genotiplerde haploid embriyo sayısını azalttığı, her iki tip kavunda da en uygun ışınlama dozunun 300 Gy olduğu söylenmektedir. Ayrıca haploid embriyo eldesi ve bitki rejenerasyonunun genotipe, ışınlama dozuna ve besin ortamına bağlı olarak değiştiğini bildirilirken, polenleri denatüre etmek için 300 Gy ışınlama dozu uygulanması ve embriyoların bitkiye dönüşümü için MS besin ortamında kültüre alınmasını araştırmacı önermektedir.

Kurtar vd. (2017) aşılı fide üretebilmek adına hıyara anaç olabilme potansiyeli yüksek kabak (*Cucurbita* spp.) hatlarının ışınlanmış polen tekniği yöntemi ile homozigot hatlara dönüştürmeyi hedeflemişlerdir. Araştırmada 17 anaç aday hattın polenleri ışınlama kaynağı ^{60}Co olan 150 Gy ışınlama dozu ile ışınlanmış ve kısırlaştırılmış polenlerle dişi çiçeklerin polünasyonunu sağlamışlardır. Yapılan gözlemler sonucunda genotipin haploidi frekansı üzerine önemli bir etkisi olduğu belirlenmiş olup, H genotiplerinde 821 adet embriyodan 24 adet haploid bitki, I genotiplerinden ise 233 adet embriyo, 3 adet haploid bitki elde edildiği bildirilmiştir. I genotiplerinde embriyo başına elde edilen haploidi rejenerasyon frekans oranı %1,29, H genotiplerinde ise %2,92 olarak bulunmuştur.

Hazem ve Golabadi (2018) kimyasal mutagenler vasıtası ile deaktivasyonunu sağladıkları hıyar bitkilerinden aldıkları polenler ile embriyo oluşumunu uyardıkları çalışmalarında, elde ettikleri embriyoları embriyo kurtarma tekniği ile almışlardır. Çalışmalarında, genotip, erkek çiçek yaşı, reseptör bitki ve kimyasal mutagenlerin (NaN_3 ve kolhisin) polen tanelerinde deaktivasyonunu sağlayarak tohum üretimine (toplam

sayısı, dolu, yarı dolu ve boş tohumlar) ve gelişen bitki morfolojisi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Ayrıca farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin embriyo kültürleri üzerinde etkilerine de değinen bilim insanları, ilk olarak NaN_3 ($0,0012 \text{ mg L}^{-1}$, $0,002 \text{ mg L}^{-1}$ ve $0,005 \text{ mg L}^{-1}$), kolhisin ($0,005 \text{ mg L}^{-1}$) ve su (kontrol) içerisinde 24 sa bekl ettikleri donör bitki tohumlarını ekmiş ve yetiştiriciliğini sağlamışlardır. Mutant bitkilerin polenleri ile tozlaştırdıkları haploid donör bitkilerinden aldıkları farklı yapıdaki tohumlarda embriyo kurtarma işlemi uygulayan araştırmacılar, en yüksek toplam ve yarı dolu tohum sayısını $0,0012 \text{ mg L}^{-1}$ ve $0,005 \text{ mg L}^{-1}$ NaN_3 ve kolhisin kullanılarak elde edilmiş mutant bitkilerin tozladıkları donör bitkilerden aldıklarını belirtmektedirler. Kurtarılan embriyolar farklı hormon kombinasyonları içeren MS besi ortamlarında çimlendirilmiştir. Hormon konsantrasyon etkisi başarı yüzdelerini değerlendirdiklerinde en yüksek rejenerasyon oranının ($\%66,67$) 2 mg L^{-1} BAP + 1 mg L^{-1} Kin + $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ IBA ve en düşük rejenerasyon oranının ise ($\%26,67$) 2 mg L^{-1} BAP + 1 mg L^{-1} Kin + $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ IBA + $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ NAA içerikli besi ortamlarında tespit edilmişlerdir.

Hıyar double haploid bitkilerini bir parthenogenesis yöntemi olan ışınlanmış polen tekniği ile donör bitkilerinden elde etmeyi hedefleyen araştırmacılar, anne bitkilere farklı dozlarda putresin, spermidin ve cycocel (0 , 50 mg L^{-1} , 500 mg L^{-1} ve 5000 mg L^{-1}) uygulamış ve bu poliaminlerin double haploid bitki üretmedeki etkinliğini araştırmıştır. Dişi çiçeklerin anthesis (çiçek açma zamanı) döneminden 9 gün önce ve 9 gün sonraki zaman aralığında, 3'er gün ara ile püskürtme şeklinde bahsedilen poliaminleri uygulayan araştırmacılar, erkek çiçeklerden aldıkları anterleri ^{60}Co ışın kaynağında 300 Gy ışın dozu ile denatüre ettiklerini ve ardından dişi çiçekleri kısır polen tozları ile uyardıklarını bildirmektedir. Oluşan meyvelerde alınan tohumların $\%3$ sükröz ve $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ IAA ile desteklenen 25 mL sıvı E20 ortamına aktarıldığı ve embriyoların çimlenmesi teşvik edildiği söylenmektedir. Çalışma sonunda poliaminlerin embriyo oluşumuna büyük bir etkisi olduğu görülmüştür. Poliamin uygulanmamış donör bitkilerde embriyo oluşum frekansının $3,2$ embriyo/meyve olduğu, buna karşın poliamin uygulamalarında embriyo frekanslarının 500 mg L^{-1} putresinde $5,2$ embriyo/meyve, 50 mg L^{-1} spermidinde, $4,8 \text{ mg L}^{-1}$ ve 50 mg L^{-1} cycocelde $5,2$ embriyo/meyve olduğu saptanmıştır. En düşük embriyo oluşumunun 5000 mg L^{-1} spermidin uygulamasında ($0,4$ embriyo/meyve) gözleendiği, farklı poliamin türevlerinde farklı dozların da etki oranlarının değiştiği, genel olarak en yüksek dozda embriyo oluşumunun da azaldığı söylenmektedir (Ebrahimzadeh vd. 2018).

Shariatpanahi ve Ramezanpour (2019), 300 Gy ve 500 Gy ışın dozunun etkinliğini denedikleri çalışmalarında 7 farklı hıyar genotipi kullandıklarını, ışınlama sonrası polen canlılığı ve polen tüpü davranışı, genotip etkisi, meyve tutum oranı, elde edilen tohum sayısı, partenogenik embriyo oluşum oranı konuları üzerinde çalışma yürüttüklerini belirtmişlerdir. Farklı dozlarda ışın uygulamasının genotipe bağlı olarak oluşan tohum ve embriyo sayısını etkilediğini, en yüksek embriyo frekanslarının 300 Gy dozla ışınlanan Extreme genotipinde ($2,25$ embriyo/meyve) ve 500 Gy dozla ışınlanan Karim genotipinde ($1,75$ embriyo/meyve) tespit etmişlerdir. Araştırmacılar her genotipte uygun bir ışınlama dozunun uygulanması gerektiğini böylelikle partenogenik embriyo oluşumunun daha yüksek oranda olacağını önermektedirler.

Ticari olarak kaliteli meyveye sahip, patolojik direnci yüksek ticari kavun çeşitlerinin haploid embriyo ve bitki verebilmesi için ışınlanmış polen tekniğini uygulayan araştırmacı, polünasyon sonrası meyve tutumu, haploid embriyo oluşumu, *in vitro* çimlenme ve embriyoların büyümesi, haploid bitkilerin ploidi seviyesinin

artırılmasında kullanılan kolhisin veya oryzalinin etkinliği konuları üzerinde durduklarını bildirmiştir (Hooghvorst vd. 2020). “Piel de Sapo” genotipinden geliştirilmiş 6 kendilenmiş hatları ve “Melito” çeşidini değerlendiren araştırmacılar, Piel de Sapo’dan geliştirilmiş genotiplerin haploid üretiminde genotip etkisinin daha fazla olduğu, tozlama yaptıkları dişi çiçeklerden %15,78 (178 adet)’inin meyveye dönüştüğünü saptamışlardır. Ayrıca üç farklı yöntem (tek tek embriyo açma, X-ışını radyografisi ve sıvı ortamda çimlendirme) ile haploid embriyo tespiti yapan araştırmacı, X-ışını radyografisi ile tek tek açmaya göre 4-5 kat daha hızlı sonuç alındığını, sıvı ortamda embriyo çimlendirmenin haploid embriyoların gelişimini olumsuz etkilediğini bildirmektedirler. Yaklaşık olarak hasat edilen meyvelerden 59 adedinin haploid embriyo taşıdığı, var olan embriyoların %50,94’ünün bitkiye dönüşmediği, sadece 26 adet bitkinin oluştuğu, bunların %73,08’inin haploid, %23,08’inin spontan double haploid (DH) ve %3,84’ünün miksploid olduğu görülmüştür. Kromozom seviyesinin artırılmasında apikal meristemin *in vivo* ortamda kolhisin veya oryzalin çözeltisine daldırılmasının en iyi yöntem olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonunda araştırmacılar partenogenetik verimliliği artırmak için daha fazla çalışma yapılması gerektiğini önermektedirler.

2.1.3. Gynogenesis üzerine yapılmış çalışmalar

Dişi gametlerin farklı indikatörler vasıtası ile uyarılarak tek gen seti içeren bitkiler oluşturması özellikle anter kültürü tekniği uygulanamayan, morfolojik erkek gamet kısırılığı olan ve monoik veya dioik çiçek yapısında olup da homozigotlaştırılması zor olan türlerde uygulanabilir etkin bir yöntemdir. Ayrıca parthenogenesis yöntemlerinden olan ışınlanmış polen kültürü tekniğinde en etkili ışın dozunun yapılan çalışmalarda net olarak belirlenememesi de bazı kabakgıl türlerinde çalışan bilim insanlarını ovül-ovaryum kültürü yöntemleri (gynogenesis) üzerinde durmaya yöneltmiştir.

Ovül veya ovaryum kültürü uygulanacak çalışmalarda gamet olgunluk seviyesi genel olarak yumurta hücresinin tam olgunluğa ulaştığı veya ulaşmaya yakın olduğu dönem diye ifade edilmektedir (Wu 2003). Bu yöntemde gelişen haploid yapıdaki bitkinin yumurta çekirdeği dışında sinerjit veya antipodal hücrelerdende gelişebildiği savunulmaktadır. Fakat gynogenesis yolu ile embriyo oluşumunu tetikleyen moleküler mekanizma net olarak açıklanamamaktadır (Palmer ve Keller 2005; Bohanec 2009). Ancak gynogenesis yönteminde embriyo kesesini saran nüsellus ve diğer somatik dokulardan da bitki gelişebileceği, elde edilen bitkilerin diploid olacağı bilinmektedir. Bu sebeple bazı araştırmacılar embriyo kesesinden diğer dokuları izole ederek kültüre alma yöntemini denemişler ve başarılı sonuçlara ulaşmışlardır (Wagner vd. 1989; Kalinin vd. 1991). Ancak bu yöntemi küçük ovaryum yapısına sahip bitkilerde uygulamak biraz zorlayıcı olabilir. Hıyarda ise erken aşamada alınan ovaryumlardan haploid embriyo oluşum frekansının düşük olduğu, olgun ve olguna yakın ovaryumlardan elde edilen haploid embriyo ve bitki oluşumunun daha yüksek olacağı görülmüştür (Gemes-Juhasz vd. 2002).

Cucurbitaceae familyasında “Ovül-Ovaryum kültürü” üzerine ilk yürütülen çalışma Chambonnet ve Dumas de Vaulx (1985)’un kabak bitkisinde yapmış oldukları çalışmadır. Bu çalışmada çiçeklenmenin farklı safhasında olan ovaryumları besi ortamına alan araştırmacılar, anthesis döneminden 1 veya 2 gün önce aldıkları kabak ovaryumlarından izole ettikleri ovüllerin en başarılı sonucu verdiğini, bitki oluşum frekansının %4-7 bitki/ovül olduğunu bildirmektedirler. Bu çalışma kabakgiller familyası

için heyecanlandırıcı bir çalışma olmuş olup, ilgili alanda çalışma yapacak olan araştırmacılara bu konu üzerine yönelim fırsatı sunmuştur.

Kwack ve Fujieda (1988), iki farklı bal kabağı genotipinin (*Cucurbita moschata*) döllenmemiş ovaryumlarını anthesisden 1-2 gün önce ve anthesis aşamasında toplayarak, ovaryumları 2-5 gün 5 °C, 2 - 5 gün 10 °C ön soğutma işlemine tabi tutmuşlardır. Bu işleme müteakiben ovaryumlardan izole edilen ovüller 1, $\frac{3}{4}$, $\frac{1}{2}$ ve $\frac{1}{4}$ gücünde 10 g L⁻¹, 30 g L⁻¹, 60 g L⁻¹ ve 100 g L⁻¹ süktroz içeren MS ortamına aktarılmıştır. Araştırma sonunda embriyo verimi için etkili ovaryum alım zamanının çiçek açma zamanı olduğu, etkili ön uygulama tekniğinin 2 gün 5 °C'de bekletmek olduğunu gözlemleyen araştırmacılar, yarı güçte MS ve 30 g L⁻¹ şeker dozunun etkili besin ortamı kombinasyonunu oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Gelişen embriyoların genel anlamda kallus oluşturduğu ve çoğunlukla anormal yapıda bitkilerin geliştiğini belirtmektedirler. Elde edilen 3 bitkinin ikisinin ise tetraploid, birinin diploid (2n=40), olduğu görülmüştür.

Gemes-Juhasz vd. (1996), kabak ve hıyarda gynogenesis üzerine yürütmüş oldukları çalışmalarında, donör bitkilerden 2-3 cm uzunluktaki döllenmemiş kabak ovaryumlarını ve 0,5-1 cm uzunluktaki döllenmemiş hıyar ovaryumlarını kültüre aldıklarını söylemektedirler. %5,25'lik sodyum hipoklorit (NaClO) çözeltisinde sterilize ettikleri ovaryumları 0,02 mg L⁻¹ TDZ ve %4 süktroz içeren EP besin ortamında (Chee vd. 1992) 4-10 gün arasında kültüre almışlardır. Ardından çeşitli oranlarda NAA ve BA içerikli EP besin ortamına aktarılan ovaryumların gelişimi sağlanmıştır. Araştırmacılar kabakta 6 hafta sonra embriyoların geliştiğini ve her bir ovaryumdan yaklaşık 10-15 adet embriyo oluştuğunu, hıyarda ise sadece birkaç embriyo geliştiğini donör bitki genotipinin gynogenesis'e yanıt için çok önemli bir faktör olduğunu bildirmişlerdir. Kromozom sayım yöntemi ile ploidi seviyesi belirlenen kabak bitkilerinin %70'inin haploid, %30'unun aneuploid ve double haploid olduğunu bildirilmektedirler.

Yılmaz (2005), *Cucurbita pepo* L.'da gynogenesis yöntemi ile haploid embriyoların elde edilmesi ve gelişen embriyolar için uygun bir rejenerasyon protokolü geliştirmeyi amaçlamıştır. Sakız ve Zeybek F₁ çeşitlerinin ovaryumlarını anthesisden 1 gün önce, anthesis dönemi ve anthesisden 1 gün sonraki çiçek gelişim aşamasında toplayan araştırmacı, %70'lik etanol içerisinde 40 saniye beklettiği ovaryumları sonra %1'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 20 dakika bekleterek yüzey sterilizasyonunu gerçekleştirmiştir. Ardından eksplantlar 0,01 mg L⁻¹, 0,1 mg L⁻¹ ve 1 mg L⁻¹ TDZ ilave edilmiş CBM besin ortamında (Gemes-Juhasz vd. 2002) embriyo oluşumu için kültüre alındığını bildirmektedir. Gelişen embriyolar rejenerasyon için 7 – 14 gün sonra 0,01 mg L⁻¹, 0,05 mg L⁻¹, 0,1 mg L⁻¹ ve 0,5 mg L⁻¹ NAA dozları ile 0,1 mg L⁻¹, 0,5 mg L⁻¹ ve 1 mg L⁻¹ BA'nın farklı dozlarından oluşturulmuş modifiye besin ortamlarına aktarmıştır. Çalışma sonunda kallus oluşumunun gerçekleştiği, ancak hiçbir embriyoda bitkiye dönüşüm gerçekleşmediğini bildirmektedir.

Kabak ıslah çalışmalarına genetik materyal olabilecek kısa sürede homozigot bireyler elde edebilmek için gynogenesis yöntemi ile haploid bitki üretme tekniğini kullanan araştırmacılar (Bing vd. 2006), kültür ortamı olarak belirledikleri N6 besin ortamını 2,4-D, NAA ve BAP bitki büyüme düzenleyicileri ile desteklemişlerdir. İndüksiyona uğrayarak gelişmiş embriyoları hormonsuz N6 ortamına aktardıklarını bildiren bilim insanları, embriyo kesesinden gelişmiş 120 adet bitki olduğunu, bunlardan 71 tanesini toprağa aktarabildiklerini belirtmişlerdir. Ayrıca çalışma sonunda, ovüllerin

gelişim aşamasının, besin ortamının, donör genotipinin ve donör bitkinin yetiştirilme tarihinin gynogenesis çalışmalarını etkileyen faktörler olduğu savunulmaktadır.

Shalaby (2007)'nin yaz kabağında homozigot ıslah hatları üretmek için ovül kültürü yöntemi ile geliştirilmiş haploid embriyo ve haploid bitki eldesi çalışmasında, çeşit, ovaryumun bitki üzerindeki pozisyonu, ön sıcaklık uygulamasının etkisi ve indüksiyon besi ortamında bulunan süktroz oranının etkisi konuları üzerinde durmuştur. Çalışma sonunda genotipin kabak gynogenesis çalışmalarında çok etkili bir faktör olduğu, kültüre aldığı 12 genotipten en yüksek Raad F₁ çeşidinden yanıt alındığını söylemektedir. Ovaryumun bitki üzerindeki pozisyonu açısından da değerlendirme yapan araştırmacı, en yüksek yanıt aldığı ovaryumun ikinci dişi çiçek olduğunu belirtirken, 4 °C ve 32 °C'de 0, 4, 7, 12 gün ön sıcaklık uygulamasına tabi tuttuğu ovaryumlardan ise en fazla tepkinin 32 °C 4 gün bekletme sonucunda alındığını bildirmektedir. Üç farklı doz (30 g L⁻¹, 60 g L⁻¹, 90 g L⁻¹) ile modifiye ettiği MS besin ortamlarından ise en iyi yanıtı 30 g L⁻¹ süktroz içeriğinden elde edildiğini söylemektedir. Bu çalışma sonunda gelişen bitkilerin %65'inin haploid, %35'inin de double haploid olduğunu saptanmıştır.

Hıyarda en ölümcül virüslerin başında gelen "Hıyar mozaik virüsü (CMV)" genetiksel dayanımı kazandırmak adına ıslahçıların en çok çalıştığı konular arasındadır. Bu virüse karşı dayanıklı soyları haploid bitki eldesi uygulamaları ile kısa sürede elde etmeyi amaçlayan Plapung vd. (2014'a), 68 hıyar hattında gynogenesis tekniğini uygulamışlardır. Embriyo oluşumu için MS ortamına 2:1 oranında BAP:IAA hormonlarını eklemiş ve ovülleri bu besi ortamında kültüre almışlardır. Bitki rejenerasyonu için MS + 2:1 (IAA:BAP) + 5 ppm (milyonda bir) AgNO₃ veya MS + 5 :1 (2ip (6-(gamma, gammadimethylallylamino) pürine):IAA) + 5 ppm AgNO₃ besi ortamlarını kullandıklarını, oluşan 14 bitkiden 42 adet klon ile bitki çoğaltıldığı, 14 adet bitkinin haploid olduğunu bildirmektedir. Elde edilen homozigot hatlardan ise virüs direnci bulunan genotiplerin olduğunu belirtmektedirler.

Anthesisden 1 gün önce topladığı hıyar ovaryumlarını 20 dakika boyunca %10 kalsiyum hipoklorit ve %3 sodyum hipoklorit çözeltisinde bekleten Plapung vd.(2014b), haploid embriyo ve bitki elde etmek için ovaryumların ovüllerini 1 ay boyunca 5 ppm AgNO₃ + CBM besin ortamında bekletmişlerdir. Ardından gelişen ovülleri 2:1, 3:1 ve 4:1 ppm, oranlarında Kin, BAP, 2ip : IAA ile ayrı ayrı modifiye edilmiş besin ortamına aktarmışlardır. İnkübasyonu gerçekleştirmiş embriyoları ise 2:1, 3:1, 4:1 ve 5:1 ppm oranında BAP, 2ip:IAA içerikli besin ortamında bitkiye dönüştüren bilim insanları genotipe göre elde edilen bitki sayıları ve etkili hormon dozlarının değiştiği sonucuna varmıştır.

Kurtar vd. (2018), *Cucurbita maxima* ve *Cucurbita moschata*'nın parthenogenesis ve androgenesis yoluyla ile daha iyi bir şekilde üretildiğini, ancak genotip bağımlılığının yüksek oranda sonucu etkilediğini söylemektedirler. Bu sebeple yürüttükleri çalışmada alternatif bir teknik olarak gördükleri ovaryum kültürü tekniğini uygulamışlardır. Dört farklı kış kabağı ve iki farklı bal kabağı hattının dişi çiçeklerini anthesisden bir gün önce ve anthesisde toplayan araştırmacılar, kallus gelişimi için 2,4-D ve BAP ile modifiye ettikleri MS besi ortamını kullanmışlardır. Kallustan bitki gelişimi için ise BAP, NAA, TDZ ve IAA hormonları ile modifiye ettikleri besi ortamlarında gerçekleştirdiklerini belirtmektedirler. Çalışma sonunda donör bitki genotipinin, farklı kültür süreleriyle gynogenesis çalışmalarını etkilediğini tespit etmişlerdir. En yüksek embriyo oluşumunun

4,0 mg L⁻¹ BAP + 0,05 mg L⁻¹ NAA + 0,1 mg L⁻¹ TDZ içeren ortamda gerçekleştiği, en uygun çiçek alım zamanının anthesis dönemi olduğu saptanmıştır. Ayrıca elde edilen 122 adet bitkinin ploidi seviyelerine bakıldığında 70 adet bitkinin haploid, 46 adet bitkinin diploid ve diğerlerinin mixoploid olarak belirlendiğini bildirmektedirler.

Zou vd. (2018)'nin karpuzda ovaryum kültürü üzerine yapılmış çalışmaların yetersiz ve etkili olmadığı düşüncesi ile yürütmüş oldukları gynogenesis çalışmasında, etkili bir haploid embriyo oluşumu için besi ortamı kombinasyonu ve embriyo rejenerasyon ortamı kombinasyonu oluşturmaya çalışmışlardır. Çalışmada bunların yanı sıra genotip etkisi, indüksiyon ortamında bekletme süresi, eksplant olabilmek için uygun ovaryum aşaması, gibi konular üzerinde de denemeler kurmuşlardır. Araştırmacılar 8 farklı genotipin gynogenesis etkinliğini değerlendirmiş ve donör bitki genotipinin embryogenesis için anahtar faktör olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada 50 adet bitki elde edilmiştir ve bunların ploidi seviyesi incelendiğinde 48 tanesinin haploid, 2 tanesinin diploid yapıda olduğu saptanmıştır. Genotiplere göre embriyo oluşum oranının %0 ile %15,14 arasında değiştiği görülmüştür. En etkili embriyo oluşum ve embriyo rejenerasyon ortamlarının sırasıyla MS + 3 mg L⁻¹ 2,4 D + 2 mg L⁻¹ BAP, 0,5 mg L⁻¹ NAA ve MS + 0,8 mg L⁻¹ BAP + 0,2 mg L⁻¹ NAA olduğu bildirilmektedir. Bunun yanında embriyo oluşum ortamında 13 gün bekletmek gerektiği, ovaryumların tam anthesis döneminde donör bitkiden toplanması önerilmektedir.

Kavunda ovül kültüründe kallus oluşum ortamı ve donör bitki genotipi gibi gynogenesisi etkileyen bazı faktörler üzerine araştırma yapan Nitwatthanakul ve Tiraumphon (2018), üç Tayland kavun çeşitleri (Green Net, Honeydew ve Pot Orange) üzerinde denemelerini yürüttüklerini bildirmektedirler. Ayrıca kallus farklılaşması için üç farklı besin ortamı belirten araştırmacılar, en fazla kallus gelişiminin (%75,54) 0,20 mg L⁻¹ BAP ve 0,40 mg L⁻¹ NAA içerikli MS besi ortamında gerçekleştiğini saptamışlardır. Besi ortamı ve genotipler arasında önemli bir farklılık olmadığını belirtmektedirler.

Zhu vd. (2019), döllenmemiş ovaryum kültürü tekniği ile karpuzda (*Citrullus lanatus*) haploid embriyo ve bitki elde etmek amacı ile etkili bir protokol oluşturmaya hedeflemişlerdir. Bu amaçla uygun sterilizasyon tekniği, kültüre alınan ovüllerin karanlıkta bekletilme süresi, embriyo oluşum ve rejenerasyon besi ortamı kombinasyonu konuları üzerine odaklanmışlardır. Çalışma sonunda döllenmemiş karpuz ovaryumlarının %10 NaClO çözeltisinde 10 dakika bekletilmesinin kontaminasyonun önlenmesi için uygun olduğu, kültüre aldıktan sonra ovaryumların 14 gün karanlık koşullarda bekletmenin ovaryum büyümesini teşvik ettiğini bildirmektedirler. Ayrıca 0,5 mg L⁻¹ NAA, 1,0 mg L⁻¹ BAP ve 0,5 mg L⁻¹ Kin içeren MS ortamının embriyo farklılaşmasına etkili olduğunu, 0,02 mg L⁻¹ TDZ, 0,5 mg L⁻¹ NAA, 0,5 mg L⁻¹ BAP içeren M2 ortamının ise bitki rejenerasyonu için uygun besi ortamı olduğunu belirtilmektedirler. Elde edilen bitkilerin ploidi seviyelerine bakıldığında haploid, diploid ve tetraploid olduklarını tespit edilmişlerdir. SSR markör analizleri yapılan diploid ve tetraploid bitkilerin homozigot yapıda olduğu ve bunların double haploid ve tetra haploid olduklarını bildirmektedirler.

Kara ve Sarı (2019), üç farklı sakız kabağı genotipinde ve üç farklı koyu yeşil kabak genotipinde donör bitkilerin gynogenesis yolu ile haploid embriyo ve bitki oluşturma kabiliyetini ve poliaminlerin (spermidin (Spd), putresin (Put)) ovül kültürü üzerine etkilerini araştırmışlardır. Embriyo uyartımı için MS + 5 mg L⁻¹ 2,4-D içerikli

besi ortamı kullandıklarını belirten araştırmacılar, besi ortamlarına farklı dozlarda ($40 \mu\text{M L}^{-1}$, $80 \mu\text{M L}^{-1}$ ve $160 \mu\text{M L}^{-1}$) Spd ve Put eklediklerini belirtmektedirler. Ayrıca araştırmacılar, Spd ve Put'ın 1:1 oranında birlikte kullanıldığı farklı dozları da ($80 \mu\text{M L}^{-1}$, $160 \mu\text{M L}^{-1}$ ve $320 \mu\text{M L}^{-1}$) değerlendirmişlerdir. Araştırma sonuçlarına göre, yumurta gelişimi ve kallus oluşumları açısından, farklı Spd ve Put uygulamalarından alınan yanıtın genotipe göre değiştiği, poliamin uygulamasının kontrol grubuna göre ovül gelişimine daha etkili olduğunu belirtmektedirler. $40 \mu\text{M L}^{-1}$ Put uygulamasının kallus oluşumu için en iyi poliamin uygulaması olduğu, ancak bu oranda bitki oluşmadığı, bitki oluşumu için daha yüksek oranlarda poliamin dozu kullanmanın faydalı olacağını savunmaktadırlar.

Kış kabağı (*Cucurbita maxima*) ve balkabağı (*Cucurbita moschata*) için gynogenesis üzerine yapılmış çalışmaların oldukça sınırlı sayıda olduğunu düşünen araştırmacılar, 9 kış kabağı, 3 balkabağı ve 1 kış kabağı, balkabağı melezi üzerinde döllenmemiş ovaryum kültürü tekniğini uygulamışlardır (Zou vd. 2020). İlk olarak optimum indüksiyon ortamı içeriğinin belirlenmesinin hedeflendiği çalışmada, embriyo oluşumu için en etkili besi ortamının 1 mg L^{-1} BAP içeren I3 ortamı olduğu belirtilmektedir. En yüksek embriyo benzeri yapıların (ELS) L-13 (melez) genotipinde %39,67 oranında oluştuğu ve bitkiye dönüşümün ise %10,18 oranında olduğu söylenmektedir. Flow sitometri yöntemi ile ploidi seviyesi belirlenen 59 adet bitkinin %18,64'ünün haploid, %3,40'ının miksoploid, %32,20'sinin diploid ve %45,76'sının ise tetraploid olduğu kaydedilmiştir.

Yıldız ve Solmaz (2020), karpuzda ovül-ovaryum kültürü yöntemi ile dişi gametleri embriyo oluşumu için uyarmaya çalışmışlardır. Araştırmacılar, Kar 23, Kar 37, Kar 116 ve Kar 147 olmak üzere çalışmalarında 4 farklı genotip kullandıklarını, farklı dozlarda 2,4-D ($11.36 \mu\text{M L}^{-1}$ ve $22.72 \mu\text{M L}^{-1}$) ve TDZ (Thidiazuron) ($12,5 \mu\text{M L}^{-1}$, $25 \mu\text{M L}^{-1}$) bitkisel hormonlar ile zenginleştirilmiş MS besi ortamına anthesisden bir gün önce topladıkları ovaryumları ektiklerini bildirmektedirler. Ayrıca bu besi ortamlarına $500 \mu\text{M L}^{-1}$ Put veya Spd ve Put + Spd poliaminlerini ekleyerek poliamin etkinliğini de araştıran bilim insanları, genotiplerin ovül-ovaryum tekniğine farklı seviyelerde tepki verdiğini belirtmişlerdir. Embriyo oluşumu ve bitkicik gelişiminin Kar 37 ve Kar 147 genotiplerinde $11,36 \mu\text{M L}^{-1}$ 2,4-D + $25 \mu\text{M L}^{-1}$ TDZ + $500 \mu\text{M Spd}$, $11,36 \mu\text{M L}^{-1}$ 2,4-D + $25 \mu\text{M L}^{-1}$ TDZ + $500 \mu\text{M PUT}$ ve $22,72 \mu\text{M L}^{-1}$ 2,4-D + $12,5 \mu\text{M L}^{-1}$ TDZ içerikli MS besi ortamlarında gerçekleştiğini bildirmektedirler.

Partenokarpik 5 hıyar ıslah hattını kullanarak gynogenesis tekniğinde etkili bir protokol oluşturmayı hedefleyen Gemes-Juhasz vd. (2002), donör bitkiden ovaryumun alınma aşaması, ön sıcaklık uygulamaları ve embriyo oluşum ortamı geliştirmeye yönelik araştırmalar yapmışlardır. Sera koşullarında gelişmiş donör bitkilerden farklı zamanlarda aldıkları (anthesisden 3 gün önce, anthesisden 6 gün önce ve anthesisde) ovaryumları *in vitro* kültüre aldıklarını belirten bilim insanları, araştırmalarında her genotipten 150 eksplant kullandıklarını bildirmektedirler. Bunun yanı sıra kültüre alınan ovaryumlar 24°C , 28°C ve 35°C sıcaklıkta 2-10 gün süre aralığında ön sıcaklık uygulamasına tabi tutulmuş ve en etkili ön uygulama işleminin 35°C olduğu ve genotipe göre ön uygulamada bekletme süresinin değiştiğini saptamışlardır. CBM + $0,02 \text{ mg L}^{-1}$ TDZ + %4 sükröz besi ortamında embriyo oluşumu için kültüre alınan ovaryumlar kültüre alınma zamanından itibaren 2-5 gün arasında karanlık koşullarda bekletmişlerdir. Embriyonun bitkiye dönüşmesi için CBM besi ortamına $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ NAA ve $0,2 \text{ mg L}^{-1}$

BAP eklediklerini, genotip bazında en fazla embriyo oluşum oranının %18,4, bitki oluşum oranının ise %7,1 olduğunu bildirmektedirler.

Farklı bitkilerde gynogenesis çalışmaları yürüten Sagi vd. (2004), kabak ve hıyar bitkilerinde de aynı protokolü uygulayarak haploid embriyo ve bitki elde etmeyi amaçlamışlardır. Donör bitkilerden ovaryumları ilk çiçek açmasından itibaren 3-4 hafta boyunca kullandıklarını belirten araştırmacılar, döllenmemiş ovaryumları anthesisden 6 saat önce topladıklarını ve kültüre aldıktan sonra karanlıkta farklı derecelerde (24 °C, 28 °C veya 35 °C) ve sürelerde (1-5 gün arası) ön sıcaklık uygulamasına tabi tuttuklarını belirtmektedirler. Ovaryumda embriyo oluşumu için, 0,02 mg L⁻¹ TDZ ve %4 süktroz içerikli CBM besin ortamı kullanıldığını, gelişen embriyoların bitkiye dönüşmesi için ise 0,05 mg L⁻¹ NAA, 0,2 mg L⁻¹ BA ve %3 süktroz içerikli besi ortamına ovaryumların aktarıldığını belirtmektedirler. Çalışma sonunda kültüre alınan kabak ovaryumlarından embriyo gelişiminin 4-6 hafta içinde gerçekleştiği, ovaryumlardan maksimum 12 adet, genel anlamda 2-3 adet embriyo oluştuğu ve oluşan embriyoların yaklaşık yarısının bitkiye dönüştüğünü bildirmektedirler. Hıyar ovaryumlarından ise kültüre alınmadan 6-12 hafta sonra direkt embriyogenesis ile embriyoların oluştuğu, ancak embriyoların çoğunluğunun gelişiminin durdurduğunu veya anormal yapıdaki bitkilere dönüştüğünü bildirilmektedirler. Ön uygulama sıcaklığında bir birimlik artışın embriyo oluşumunu etkilediğini bildirmektedirler.

Hıyarda haploid bitki üretimi teknikleri üzerine yürüttükleri çalışmada ovül kültürünü deneyen Suprunova ve Shmykova (2008), anthesisde, anthesisden 6 saat önce ve anthesisden 2 gün önce topladıkları ovaryumları sterilize etmiş ve ardından ovüllerini çıkararak %5 süktroz içerikli farklı hormon türevleri ve hormon dozları ile modifiye edilmiş MS besi ortamına ekmişlerdir. Karanlık koşullarda iki hafta boyunca 22 °C koşullarda gelişimi sağlanan ovüller, ardından, 0,05 mg L⁻¹ NAA, 0,2 mg L⁻¹ BA, %3 süktroz içerikli MS besi ortamında, 14 saat aydınlanma süresi koşullarında kallus oluşumu için bekletmişlerdir. Gelişen kalluslar sürgün teşviki için 0,02 mg L⁻¹ NAA, 0,4 mg L⁻¹ BAP ve %3 süktroz içerikli MS ortamına transfer etmişlerdir. Bu çalışma sonunda en yüksek Gordion genotipinde embriyo oluştuğu, ovüllerden gelişen kallusların sürgün ortamına alınması sonucu %0,5 oranında bitki elde edildiğini bildirmektedirler.

Diao vd. (2009), altı farklı hıyar çeşidinde gynogenesis tekniğini kullanarak haploid bitki oluşturmaya amaçlamış ve farklı konular üzerinde araştırmalar yaparak haploidizasyon tekniğini geliştirmeye çalışmışlardır. Tüm genotiplerin döllenmemiş ovaryumları 35 °C sıcaklıkta 2, 3 ve 4 gün ön sıcaklık stresine tabi tutarak en etkili sürenin belirlenmesini hedeflemişlerdir. Embriyo oluşum ortamına farklı dozlarda (0,01 mg L⁻¹, 0,02 mg L⁻¹, 0,04 mg L⁻¹) TDZ hormonu ekleyen araştırmacılar, 6 farklı genotipin bu dozlara olan tepkilerini ölçmüşlerdir. Bunların yanı sıra iki farklı genotip üzerinde besi ortamına eklenen 10 mg L⁻¹ AgNO₃'ün embriyo oluşturma etkinliğinin de denendiğini bildirmektedirler. Çalışma sonunda genel olarak tüm genotipler için 35 °C 3 gün karanlıkta ön sıcaklık stresinin embriyo oranını artırdığı, 0,04 mg L⁻¹ TDZ hormonunun indüksiyon ortamına eklenmesinin en yüksek frekansta (%72,2) embriyo oluşturmada uygun doz olduğu, AgNO₃'ün embriyo oluşumu üzerine net bir etkisinin olmadığını, ancak embriyonun yeşil ve daha gelişmiş bir yapıya sahip olmasına neden olduğunu belirtmektedirler. Ayrıca araştırmacılar elde ettikleri 40 adet bitkiden sadece 2 tanesinin haploid olarak tespit edildiğini, geri kalan diploid yapıdaki 33 bitkide uygulanan SSR marker analizine göre 17 adedinin double haploid yapıda olduğunu söylemektedirler.

Farklı poliamin türevleri (Spermidin (Spd), Spermin (Spm), Putresin (Put) ve Kadesin (Cad)) ve farklı hormon türevlerinin hıyarda gynogenesis üzerine etkilerini inceleyen Wei vd. (2010), çalışmalarında 5 yüksek gynogenesis tepkisine sahip genotipler ile 4 düşük gynogenesis tepkisine sahip genotipleri donör bitki olarak belirlemişlerdir. ZR (zeatin-riboside), IAA, ABA (Absisik asit) ve GA₃ (Gibberellik asit) içerikli embriyo oluşum besi ortamında ovaryumları farklı sürelerde (3, 6, 9, 16 gün) tutarak, embriyo oluşum frekanslarını da değerlendiren araştırmacılar, IAA/ZR, ABA/GA₃, IAA/GA₃ hormon kombinasyonlarının gynogenesisi az bir oranda teşvik ettiğini bildirmişlerdir. IAA/ABA kombinasyonunda 3 gün bekletmenin gynogenesis tepkiyi artırdığı, gynogenesis yanıtı yüksek çeşitlerinin düşük IAA ve yüksek ZR ve GA₃ içeren ortamlarla etkileşim gösterdiğini bildirmektedir. Embriyo oluşumu yüksek genotiplerin yüksek oranda Spd + Spm içeren ve düşük Put içeriğine sahip ortamlara tepki verdiklerini saptamışlardır. Ancak, indüksiyon ortamına Spd'in eklenmesinin gynogenesis tepkisini önemli ölçüde artırmadığı bildirmektedirler.

Li vd. (2012), *Cucumis sativus* L.'de üç farklı varyete üzerinde yürüttükleri ovaryum kültürü çalışmalarında embriyo oluşumu için ve embriyoların bitki rejenerasyonu için en uygun besi ortamı oluşturmayı hedeflemişlerdir. Ovaryumlar kültüre alındıktan sonra 3 gün sıcaklık stresine tabi tutulmuş ve aynı zamanda farklı oranlarda TDZ içeren besi ortamlarında embriyo teşvikini sağlamışlardır. Çalışmada elde edilen bulgulara göre ovaryumlar 0,06~0,08 mg L⁻¹ TDZ içerikli indüksiyon ortamlarında en yüksek embriyoyu oluşturduğu ve gelişen embriyoların farklılaşması için ise 0,05 mg L⁻¹ NAA ve 0,4~0,6 mg L⁻¹ BAP içerikli rejenerasyon ortamı kombinasyonunun tercih edilmesi gerektiğini bildirmektedirler. Denemede kullanılan tüm genotiplerden bitki elde edildiği ve genotipin, sıcaklık ön uygulama süresinin, ovaryumun kültüre alınmadan önceki gelişmişlik aşamasının ve hormon konsantrasyonlarının gynogenesisi etkilediğini bildirmektedirler.

CBM besi ortamına eklenen farklı TDZ hormon konsantrasyonlarının Çin hıyarlarında haploid embriyo ve bitki oluşturmaya etkilerini inceleyen araştırmacılar (Li vd. 2013), farklı konsantrasyonlarda AgNO₃'ün embriyo rejenerasyon yeteneği konusunda da incelemelerde bulunmuşlardır. Çalışmaya göre en iyi indüksiyon ortamlarının CBM + 0,03 mg L⁻¹ ve CBM + 0,07 mg L⁻¹ TDZ içerikli besi ortamlarının olduğunu, indüksiyon ortamında gelişen embriyoların bitkiye dönüşmesi için 5-10 mg L⁻¹ AgNO₃'ün rejenerasyon ortamına eklenmesinin faydalı olduğu tespit edilmiştir. Kültüre alınan genotiplerde en yüksek embriyo oluşum oranları %7,85-12,14 tespit edilirken, en yüksek bitki rejenerasyon hızının 0,05 mg L⁻¹ NAA, 0,2 mg L⁻¹ BA ve 5 - 10 mg L⁻¹ AgNO₃ içerikli CBM besi ortamında gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Elde edilen bitkilerin Flow sitometri analizlerine göre %80'ninin haploid olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar ayrıca bu çalışmada ovaryumların anthesis döneminde alınması gerektiğini bildirmektedirler.

Tantasawat vd. (2015), hıyarda (*Cucumis sativus*) beş farklı ticari hıyar çeşidinde (Chai Lai, Big C, Saifa 185, Meecha, Mini Kings) yürütmüş oldukları ovaryum kültürü çalışmalarında, etkili indüksiyon ve embriyo farklılaşma ortamlarının eldesi, ELS (embriyo benzeri yapılar) ve kallus oluşumuna etkili ön sıcaklık uygulaması (25 °C'de 14 gün karanlık, 35 °C 3gün bekletmenin ardından 25 °C'de 11 gün karanlıkta) konuları üzerine araştırmada bulunmuşlardır. Anthesisden 1 gün önce topladıkları ovaryumları sterilize ettikten sonra MS besi ortamı ile modifiye edilmiş farklı hormon türevleri ve

farklı şeker dozları içeren 5 adet kültür ortamlarına (I1, I2, I3, I4, I5) dikmişlerdir. Ayrıca ortamlardan bir tanesine putrasin de eklediklerini bildirmişlerdir. Ön sıcaklık stres süresini tamamlayan ovaryumlar MS besi ortamı ile kombine edilmiş 3 farklı içeriğe sahip besi ortamlarına (D1, D2, D3) aktarmışlardır. Araştırma sonunda tüm genotiplerde ELS ve kallus oluştuğu, en yüksek ELS oluşumunun 1 mg L^{-1} TDZ, 1 mg L^{-1} BAP, %3 sükroz içerikli I2 ortamında gerçekleştiği (%60,4), embriyo farklılaşma ortamlarının üçünün de eşit oranlarda etki ettiğini belirtmişlerdir. Kallus oluşum yüzdesinin ise poliamin içerikli I5 ortamında arttığını söylemektedirler. Bunların yanı sıra ön abiyotik stres faktörü olan iki sıcaklık derecesinde yakın oranlarda kallus oluştuğu, ELS oluşumuna 25°C sıcaklıkta 14 gün bekletmenin biraz daha etkili olduğunu belirtmektedir. Genotipin yine ELS ve kallus oluşumuna etkisinin büyük olduğunu tespit etmişlerdir.

Hıyarda gynogenesis üzerine etkili bir besi ortamı geliştirmek amacı ile yürütülen yüksek lisans çalışmasında (Çetinkaya 2015), embriyo oluşumu için 1:10 oranında 2,4-D ve Kinetin ile modifiye edilmiş üç farklı temel besi ortamını (MS, Miller (Dirks 1996) ve CBM) kullanmıştır. Anthesisten 1, 2 gün ve 6 saat önce toplanan ovaryumları %20 ticari NaClO çözeltisinde 20 dakika beklettikten sonra yüzeylerini soyarak embriyo oluşum ortamına aktarmıştır. Kültüre alınan ovaryumları 2 gün 35°C ve 3 gün 24°C karanlık koşullarda ve ardından 9 gün aydınlık ortamda bekleterek, embriyo farklılaşma ortamlarına aktarmıştır. Embriyoların farklılaşması için yine üç temel besi ortamı 1:4 oranında NAA ve BAP ile modifiye edilmiştir. Çalışmada kullanılan üç farklı F_1 seviyesindeki hıyar ıslah kültivarlarında, genotiplere göre değişen oranda embriyo ve bitki elde etmiştir. Embriyo ve bitki oluşturma açısından en iyi yanıt veren genotipin 583 nolu genotip olduğu, gelişen embriyo ve bitkilerin direkt olarak uyarıldığı, ancak oluşan bazı bitkilerin rejenerasyon ortamında embriyojenik kallusa dönüşerek yeni bitkicikler de oluşturduğunu belirtmektedir. Her hafta kurulan denemelerin sonucuna göre hıyarda bitki yaşının embriyo oluşturmada etkili bir faktör olduğu, bitki yaşının artmasıyla embriyo oluşum yüzdesinin düştüğünü bildirmektedir. Kültüre alınan ovaryum sayısına göre %84,26 oranında embriyo geliştiğini, %42,28 oranında bitki elde edildiğini bildirmektedir. Elde edilen 137 bitkinin 114'ünün genetik seviyesi stomada kloroplast sayım yöntemi ile belirlenmiş olup, bitkilerin 87 tanesinin haploid, 9 tanesinin diploid ve 18 tanesinin miksoploid olduğunu belirtmektedir.

Chen vd. (2016), yedi farklı hıyar genotipinde farklı bir gynogenesis protokolü geliştirmeye çalışmışlar ve doğrudan double haploid yapısında olan bitkiler elde etmeyi amaçlamışlardır. Çalışmada, anthesisden iki gün önce topladıkları ovaryumları 10, 20, 30, 40, 50 mg L^{-1} kolhisin içeren B5 ortamında tuttuklarını ve kallus gelişimi, bitki rejenerasyonu ve kromozom katlama olaylarını eş zamanlı olarak yürütmeyi planlanmışlardır. Sonuçta en yüksek kallus gelişimi A3 genotipinde %20,19 oranında bulunmuş olup, sadece A3 (%10,47) ve A11 (%16,67) genotipinde bitki oluşumu belirlendiği bildirilmektedir. Flow sitometri analizi ile ploidi seviyelerin belirlenen bitkilerin double haploid olma yüzdesi A3 genotipinde %55,56 olurken, A11 genotipinde %69,23 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca doğrudan double haploid bitki eldesi için besi ortamına 30 mg L^{-1} dozunda kolhisin uygulanmasının uygun olduğu, bu dozun üstündeki değerlerin ovaryumlarda ölümcül olacağı savunulmaktadır.

Golabadi vd. (2017), üç aşamalı yürüttükleri çalışmalarında ilk olarak hıyar gynogenesisi üzerine ön sıcaklık stresinin etkisini denemek isteyen araştırmacılar, kültüre alınmış ovaryumların bir kısmına 35°C 4 gün yüksek sıcaklık stresi denemesi yaparken,

diğer kısmına hiçbir uygulamanın yapılmadığını belirtmektedirler. Ayrıca bu işlem sırasında ovaryumları çeşitli oksin ve sitokinin hormonları (2,4-D, Kin, IAA, IBA, NAA, BAP) ile destekledikleri yarı katı MS besisi ortamında kültüre almışlardır. Buradan çıkan sonuca göre başarılı genotiplerin ovaryumlarını, embriyo oluşumu için kullanım dozları değişen oranlarda 2,4-D, Kin, IAA, IBA, NAA, BAP hormonlarının farklı kombinasyonlarını içeren besisi ortamına aktarmışlardır. İkinci denemede belirlenen en iyi genotip ve yerel bir çeşit ile karşılaştırılmak üzere çalışma yürütülmüş olup, bu genotiplerin ovaryumları AgNO_3 ihtiva etmesine göre değişen besisi ortamlarında kültüre almışlardır. Araştırmacılar birinci denemede termal şok uygulanmış $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ NAA + $0,7 \text{ mg L}^{-1}$ 2,4-D + 1 mg L^{-1} KIN + $1,8 \text{ mg L}^{-1}$ BAP hormon içeriği bulunan besisi ortamından en yüksek embriyonun oluştuğunu ve en yüksek kallus oluşumunun ise, $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ NAA + $0,7 \text{ mg L}^{-1}$ 2,4-D + 1 mg L^{-1} KIN + $1,8 \text{ mg L}^{-1}$ BAP içerikli besisi ortamında gerçekleştiğini bildirmektedirler. Bu denemede en iyi olduğu belirlenen iki genotipin ikinci deneye tabi tutulması sonunda 4 mg L^{-1} BAP ve $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ 2,4-D'nin embriyogenesis için optimum hormon içeriği olduğunu saptamışlardır. Son denemede ise yerel İran kültüvarı ile karşılatırılan NBDC6*6/32441 genotipinin embriyo ve kallus oluşturma yeteneğinin yerel kültüvar kadar olmadığını belirlemişlerdir. Bunun yanı sıra AgNO_3 'ün embriyo oluşum oranını artırdığını, aksine kallus oluşumunu azalttığını bildirmektedirler.

Sorntip vd. (2017), double haploid yanıtı inatçı hıyar genotipleri üzerinde yürüttüğü gynogenesis çalışmasında, en iyi embriyo oluşum, embriyo farklılaşma ve bitki rejenerasyon ortamlarını geliştirmeyi hedeflemişlerdir. Farklı hormon ve vitamin içerikleri ile oluşturdıkları besisi ortamlarında, aktarma sırasına göre karanlıkta 1 hafta, 2 hafta ve 3 hafta ovaryumları beklettiklerini belirten araştırmacılar, ELS oluşumunun embriyo farklılaşma ve bitki rejenerasyon ortamından önemli derecede etkilendiğini belirtmektedirler. Farklılaşma ortamın D2'den bitki rejenerasyon ortamı MST3+'ya aktarılan ovaryumların en yüksek oranda ELS oluşturduğu (%59,89), ELS'lerin bitki rejenerasyon ortamlarında sürgüne dönüştüğü ve oluşan bitkilerin MS0 ortamında kök gelişiminin sağlandığını bildirilmektedirler. Ayrıca genotip etkisinin bu çalışma sonucunu çok fazla değiştirmede önemli önemle vurgulanmıştır. Çalışmada toprağa aktarıldıktan sonra hayatta kalan 10 bitkiden 3'ünün haploid, 1'inin triploid ve 6'sının diploid olduğunu belirlemişlerdir. Gelişen 6 adet diploidin de double haploid yapısında olduğunu basit dizi tekrar analizi vasıtası ile doğrulamışlardır.

Hıyarda gynogenesis çalışması yürüten Asadi vd. (2019), besisi ortamına ilave ettiği farklı TDZ konsantrasyonlarının (0, 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08 mg L^{-1}) haploid embriyo ve bitki oluşturma üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmada Esfahani ve Beith Alpha genotipleri üzerine deneme kuran araştırmacılar temel besisi ortamı olarak MS besisi ortamını tercih etmişlerdir. Anthesisden 1 gün önce toplanan ovaryumların kültüre alındıktan sonra 3 gün 35°C 'de bekletildiği ve 2 hafta sonra embriyo oluşumlarının gerçekleştiğini bildirmektedirler. Daha sonra embriyoların olgunlaşması için embriyoları içeren ovaryumların $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ GA₃ içerikli besisi ortamında alt kültüre alındığını ve organogenesis için ise $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ NAA ve $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ BAP içerikli besisi ortamı tercih edildiğini belirtmektedirler. TDZ $0,08 \text{ mg L}^{-1}$ içeriğinde en yüksek oranda embriyo elde edildiğini bildiren bilim insanları, Esfahani genotipinden %23,33 ve Beith Alpha genotipinden %20,66 oranında embriyo oluştuğunu söylemektedirler. Ayrıca

araştırmada gelişen bitkilerin hepsinin diploid yapıda olduğunu ve yapılan analizler sonucunda bu bitkilerin double haploid yapıda olduklarını tespit etmişlerdir.

Özdemir vd. (2019), etkili bir double haploid protokolü geliştirmek adına yürüttükleri hıyar ovaryum kültürü çalışmasında, farklı termal şok uygulamalarının ve besi ortamlarında bulunan farklı sükroz dozlarının etkisini araştırmışlardır. Ufuk F₁, Meriç F₁ ve Sedir F₁ adlı üç ticari hıyar genotipinin haploid embriyo ve bitki oluşturma etkinliğini de inceleyen araştırmacılar, anthesisten 1 gün önceki aşamada olan dişi çiçekleri toplamışlar ve sterilizasyon işlemlerini uyguladıktan sonra kültüre almışlar ve ovaryumları karanlıkta 3 gün 35 °C’de veya 1 hafta 27 °C sıcaklıkta bekletmişlerdir. Ayrıca 30 g L⁻¹, 60 g L⁻¹, 90 g L⁻¹ ve 120 g L⁻¹ şeker dozları içeren MS besi ortamlarında embriyo teşvikinin sağlanmasını hedeflemişlerdir. Genotiplere göre değişen haploid embriyo ve bitki oluşumu gözlemleyen araştırmacılar, ısı şoku uygulamalarının ve farklı şeker konsantrasyonlarının genelde kallus oluşumunu teşvik ettiğini belirtmektedirler. Embriyo oluşumu için uygun termal şok uygulamasının genotiplere göre değiştiği görülen çalışmada I2A (30 g L⁻¹ sükroz) ve I2D (120 g L⁻¹ sükroz) uygulamasının embriyo oluşumunu teşvik ettiğini, I2B (60 g L⁻¹ sükroz) ortamının da daha çok kallus oluşturduğunu saptamışlardır.

Domblides vd. (2019a), *Cucurbitaceae* familyasında kapsamlı bir gynogenesis çalışması yürütmüşler ve çalışmalarında double haploid teknolojisini etkileyen genotip, donör bitkinin yetiştirilme durumu, embriyo oluşumu için uygun embriyo kesesi durumu, kültür ortamı bileşenleri (embriyo oluşum, bitki rejenerasyon), *in vivo* adaptasyonu gibi konular üzerinde durmuşlardır. Çalışmada 12 farklı genotipte hıyar, 5 farklı genotipte kış kabağı, 9 farklı genotipte yaz kabağı, 1 paty pan kabağı ve 1 Styrian kabağı kullanıldığını belirtmiş olup, embriyo gelişimi için uygun eksplant aşamasının döllenmemiş anthesisden hemen önce olgun ovülleri içeren ovaryumlar olması gerektiğini söylemektedirler. NLN besi ortamı vitaminleri, MS besi ortamı aminoasitleri, 30 g L⁻¹ sükroz, 200 mg L⁻¹ ampilicillin ve 7 g L⁻¹ agar içeren çalışmayı yürüten araştırmacılar tarafından üretilen IMC indüksiyon ortamının DH’leri geliştirmek için en iyi ortam olduğu iddia edilmektedir. Yaz kabağı ve hıyarda kültür ortamına eklenen TDZ (0,2 mg L⁻¹, 0,02 mg L⁻¹) ve 2,4-D (1 mg L⁻¹, 2 mg L⁻¹) ile 0,0001 µM Epibrassinolid’in ovüllerin gelişimini olumlu etkilediği, hıyar ovaryumlarının 7-10 gün boyunca 32 °C sıcaklıkta termal şoka uğratılması gerektiğinin ve kültür ortamının 7 günde bir tazelenmesi gerektiğinin altı çizilmektedir. Kültüre alınan ovaryum başına yaz kabağında 55 adet, hıyarda 20 adet, kış kabağında 9 adet, paty pan kabağında 2 adet ve Styrian kabağında 1 adet embriyo oluştuğunu bildirmektedirler.

Hıyarda döllenmemiş ovaryum kültürü çalışmaları yürüten Domblides vd. (2019b), 8 adet ümit var hıyar genotipini denemeye tabi tutmuşlardır. Denemede daha önce geliştirilmiş bir protokol doğrultusunda çalışmalarını yürüttüklerini bildiren araştırmacılar, IMC (Domblides 2019a) besi ortamına 200 mg L⁻¹ ampisilin ve 0,2 mg L⁻¹ TDZ ile takviye edilmiş 30 g L⁻¹ sükroz eklemişlerdir. En yüksek embriyonun 2,1-2,6 cm boyundaki dişi çiçeklerden elde edildiği, araştırmada kullanılan 8 genotipte de kallus ve embriyo oluşumunun gözlemlendiğini, ancak bitki rejenerasyonunun sadece 6 genotipte gerçekleştiğini bildirmektedirler. Toplamda 26 adet bitki üreten araştırmacılar, maksimum gynogenesis indüksiyonunun 1810 nolu genotipte %63,1 oranında olduğunu, ancak en yüksek bitki gelişiminin 1763 nolu genotipte (12 adet) olduğunu belirtmektedirler.

Erol ve Sarı (2019), hıyarda gynogenesis tekniği ile embriyo oluşumu üzerine poliaminlerin etkisini inceledikleri çalışmalarında, 5 farklı hibrit çeşit üzerinde çalışmalarını yürütmüşlerdir. MS besi ortamını $0,18 \mu\text{M L}^{-1}$ TDZ ile modifiye edilmesi ile embriyo oluşum ortamı oluşturulduğunu bildirmektedirler. Ayrıca putresin (Put) ve spermidin (Spd) poliaminlerini, ayrı ayrı 40, 80, 120, 160 ve $200 \mu\text{M L}^{-1}$ konsantrasyonlarında ve 80, 160, 240, 320 ve $400 \mu\text{M L}^{-1}$ konsantrasyonlarında bu poliaminleri birlikte (1:1, v:v) kombine ederek besi ortamlarına eklemişlerdir. Çalışma sonucunda farklı Spd ve Put içeriklerinin çeşitlere göre farklı sonuçlar verdiğini görmüş olup, Spd içeren ortamlarda Cemre F₁ genotipinin, Spd + 2,4D içeren ortamlarda Altay F₁ çeşidini, Put içeren ortamlarda Altay F₁ çeşidinin, Spd + Put içeren ortamlarda Sardes F₁ çeşidinin ovül gelişimine daha olumlu yanıt verdiğini bildirmişlerdir. Yürüttükleri katı ortam kültür çalışması dışında ovüllerini sıvı kültürde de geliştirmeye çalışan araştırmacılar, katı ortam kültürü ile aynı hormon ve temel besi ortamı içeriğini kullanmışlar ve Spd $160 \mu\text{M L}^{-1}$, Put $160 \mu\text{M L}^{-1}$ ve Spd + Put $320 \mu\text{M L}^{-1}$ (1:1) konsantrasyonlu poliaminler ile sıvı besi ortamını desteklemişlerdir. Bu çalışma sonunda ise poliaminlerin kullanılmasının embriyo gelişimini ve kallus gelişimini uyardığı, kültüre alınan Cemre ve Altay çeşitlerinin ovaryumlarından ikişer adet haploid bitki geliştiğini gözlemlemişlerdir.

2.2. Donör Bitkinin Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Etkisinin İncelendiği Çalışmalar

Dunwell (1976)'in *Nicotiana tabacum*'da anter kültürü üzerine yaptığı çalışmada donör bitkinin büyüme ortamı, donör bitki yaşı ve anter kültürü için uygun polen gelişim aşamasını incelemiştir. Altı farklı bitki grubu üzerine yapılan çalışmada fotoperiyot açısından 8 saat ve 16 saat gün ışığı altında bitkiler üçerli olarak 2 gruba bölmüştür. Her üçerli grup ise ışık yoğunluğu açısından büyütme kabininde düşük ışık yoğunluğu, büyütme kabininde yüksek ışık yoğunluğu ve cam sera koşullarında olmak üzere incelemeye almıştır. Çalışma sonunda fotoperiyot ve ışık intensinin farklılığının androgenesis oranını 5 kat etkilediğini, bitki yaşının yetiştirme koşullarına göre daha az etkili ikinci bir faktör olduğunu bildirmiştir. İlk kültüre alınan eksplantlardan son eksplanta kadar anterden bitki elde etme oranının 7 kat düştüğünü belirtmektedir. Donör bitkilerin büyüme koşullarının eksplant olarak kullanılan anterlerin endojen hormon seviyelerini ayarlamada bir faktör olduğunu, kültüre alınan dokuların besi ortamlarındaki hormon seviyelerinin içsel hormona göre ayarlanabileceğini savunmaktadır. Benzer bir çalışmada yine tütünde donör bitki yaşının haploid embriyo oluşumunu etkilediği bildirilmektedir (Anagnostakis 1974).

Yumuşak kırmızı kış buğdayının (*Triticum aestivum* L.) beş genotipinde donör bitki büyüme sıcaklığı ve gelişim fotoperiyodunun androgenesis yolu ile embriyo eldesi ve bitki rejenerasyonu üzerine etkilerini inceleyen araştırmacılar, 15 °C-16/8 sa aydınlık/karanlık, 20 °C-16/8 sa aydınlık/ karanlık ve 20 °C-12/12 sa aydınlık/karanlık koşullara tabi tuttıkları donör bitkilerin androgenesis kabiliyetlerinde çok bariz bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir (Jones ve Petolino 1987). Ancak genotipler açısından değerlendirildiğinde genotip ve donör bitki çevre koşulları arasında bir etkileşim olduğunu belirtmektedirler. 20 °C-16/8 saat aydınlık/karanlık ortamda büyütülen IL 72-2219 - 1/Amigo tipinde ortalama %8,6 oranında embriyo gözlenirken, 15 °C-16/8 saat aydınlık/karanlık ortamda büyütülen Scotty genotipinden ortalama %4,2 oranında bitki elde edildiğini söylemektedirler. Genotipler için yanıt frekanslarını en üst düzeye

çıkarmak için donör bitki büyüme ortam koşullarının optimize edilmesinin faydalı olacağı sonucuna varmışlardır.

Lazar vd. (1984) *Triticum aestivum* L.'da donör bitki yetiştirme ortamının anter kültürü yolu ile kallus ve polyhaploid bitki üretme üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, tarla ortamı, sera ortamı ve büyüme odası ortamı olmak üzere üç farklı yetiştirme ortamı kıyaslamasında bulunmuşlardır. Çalışmada donör bitki yetiştirme ortamının etkisinin, donör bitki genotipiyle etkileşiminden daha az önemli olduğunu ve embriyo oluşumunu etkileyen çevresel faktörlerin bitki rejenerasyonunu etkileyenlerle aynı olmayabileceğini öne sürmektedirler.

Ouyang vd. (1987)'nin, ilkbahar ve yaz aylarında tarla ve kış aylarında ise sera koşullarında yetiştirdikleri 5 farklı buğday genotipleri ile yürüttükleri çalışmada, genotipe göre değerlendirildiğinde embriyogenesis tepkisinin yetiştirme sıcaklığına göre değiştiğini, aynı genotiplerin farklı çevresel koşullara aynı tepkiyi vermediğini belirtmektedirler. Tarla koşullarında yetiştirilen donör bitkilerin genotipleri ne olursa olsun, anterlerinin sera koşullarında yetiştirilenlere göre daha iyi yanıt verdiği görülmüş olup, buna sebep olarak ise tarla koşullarının sera koşullarına göre yaklaşık olarak 2 °C daha yüksek olmasına bağlanabileceğini savunmaktadırlar. Benzer bir çalışmada yine tarlada yetiştirilen bitkilerden, serada ve kontrollü ortam odasında yetiştirilenlere göre daha yüksek oranda androjenik kallus elde edildiğini bildirmektedirler. Ayrıca düşük kuraklık stresi mevsiminde yetiştirilen donör bitkilerin, şiddetli kuraklık stresinde yetişenlere kıyasla, daha yüksek oranda kallus oluşturduğunu saptamışlardır (Lu vd. 1991).

Doctrinal vd. (1989)'nin, şeker pancarında gynogenesisde yetiştirilme sezonunun etkisini incelemek üzere yürüttükleri çalışmada; çiçek salkımlarının ikincil veya üçüncül dallarından 20 vernalize olmuş bitkiden her ayın 14. ve 17. günleri arasında ovülleri izole etmişlerdir. Araştırmacılar, iki yıl boyunca sürdürdükleri çalışmada, mart sonu -nisan, mayıs, haziran, temmuz aylarında incelemelerde bulunmuşlardır. Çalışmaya göre haziran ayında çiçeklenme verimi en yüksek olarak tespit edilmiş olup, çiçek veriminin en fazla olduğu dönemde haploid embriyo oluşum oranında yükseldiği kanısına varılmıştır. Şeker pancarının doğal çiçeklenme periyodunun uzun gün koşullarında arttığını, yani şeker pancarının çiçek açmada fizyolojik aktivitesinin maksimum olduğu dönemde haploid embriyo oluşumunun olumlu olarak etkilendiğini bildirmişlerdir.

Bjornstad vd. (1989), dört farklı büyüme ortamında yetiştirdikleri (tarla, iki fitotron (kontrollü araştırma serası) serası ve bir büyüme odası) buğday donör bitkilerinin androgenesise olan yanıtlarını değerlendirmişlerdir. Norveç'te yürüttükleri çalışmada tarla koşullarında (Çevre 1) yetiştirilen bitkilerin tohumları nisan / mayıs aylarında ekmişlerdir. Haziran ayında ortalama olarak sıcaklık 11,3 °C ölçülmüştür. Çevre 2'de ise kontrollü sera koşullarında doğal gün ışığında yetiştiricilik yapılmış olup, mayıs-temmuz ayları arasında 18-20 saat fotoperiyot, 8 saat 21 °C/16 saat 15 °C sıcaklık derecelerine ayarlandığı belirtilmektedir. Nemine ise %79-%69 arasında değiştiğini bildirmektedirler. Çevre 3'te ise Çevre 2 ile aynı fotoperiyota sahip, 8 saat 15 °C/16 saat 12 °C sıcaklık, %69-%62 nem koşullarını uygulamışlardır. Donör bitkilerin son yetiştirilme koşulu olan Çevre 4 ise florasen ve 350 #E m⁻² s⁻¹ ışık yoğunluğuna sahip akkor telli ampullerle aydınlatmışlardır. 20 saat ışıklenme süresi uygulanan büyüme odasında 18 saat akkor ampullerle aydınlatılma yapılırken, toplam 2 saat ise florasen lambalar ile aydınlatılma yapıldığı belirtilmektedir. Büyüme odası sıcaklığını 18 saat 18 °C/6 saat 12 °C, nemi ise

%74-%62 olarak belirlemişlerdir. Çalışma sonucuna göre en kötü sonuçların tarla koşullarında yetiştirilen bitkilerden alındığı söylenmektedir. Kültüre alınan iki genotipte de en düşük oranların tarla koşullarında elde edildiğini, embriyo eldesi oranı açısından etkili yetiştirme koşulunun Çevre 3 olduğunu belirtmektedirler. Uygun yetiştirme koşulları sağlandığı takdirde embriyo oluşum oranlarının artacağını savunmaktadırlar. Buna benzer biberde yapılmış bir çalışmada ise, kontrollü koşullarda yetiştirilen donör biber bitkilerinden geleneksel yöntemlere göre yetiştirilenlere göre 2 kat daha fazla mikrospor embriyogenesi gözlenebileceği söylenmektedir (Mityko ve Gemes-Juhasz 2006).

Takahata vd. (1991), *Brassica napus*'da (Kanola) yürüttükleri çalışmada, donör bitki yaşının ve gamet hücrelerin gelişim seviyesinin embriyogenesis indüksiyonu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Kültüre alınacak anterlerin bitki üzerindeki durumunu, anthesis döneminin başlangıcı ve taç üzerinde 15-20 adet açmış çiçek bulunduğu zaman olarak belirlemişlerdir. Tohum ekiminden sonraki 2. ay, 3. ay, 4. ay ve 7. ay da kültüre alınmış anterlerin embriyogenesis kabiliyetlerini değerlendiren araştırmacılar, yaşlı bitkilerdeki embriyogenesis hızının, genellikle genç bitkilerden yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Yaşlı bitkilerden ve anthesis dönemini aşmış bitkilerden alınan ekpsplantların, embriyo oluşumu ve bitki rejenerasyonu açısından değerlendirildiğinde daha iyi yanıt verdiğini belirtmektedirler.

Patateste uygun anter kültürü protokolünü belirlemek üzere yapılmış bir araştırmada, sezona bağlı embriyo veriminin değiştiği bildirilmektedir (Tiainen 1992). Araştırmacı, ağustos (1989) ayından temmuz (1990) ayına kadar sera koşullarına aylık olarak dikilen bitkilerin anterlerinin, dikimden itibaren 6-8 hafta sonra kültüre alınabilecek düzeye geldiği ve anterlerin 2-3 hafta boyunca toplandığı belirtmiştir. Çalışmaya göre eylül-ekim aylarında %15-20 olan embriyo oluşum oranının, şubat-mayıs aylarında ise %1-3 arasında olduğu söylemektedir. Elde edilen embriyoların sadece %6-8'inin bitkiye dönüştüğünü, donör bitkinin yetiştirme mevsiminde yaşadığı büyüme sıcaklığı değişimi ve fotoperiyotun bitki rejenerasyonunda etkili olabileceğini savunmaktadır.

Kristiansen ve Andersen (1993), androgenesis yolu ile haploid biber embriyo ve bitkilerinin elde edilmesi üzerine yürüttükleri çalışmada; donör bitki yaşını, donör bitkinin yetiştirildiği çevredeki ışıklandırma süresi ve yetiştirilme sıcaklığının etkisini araştırmışlardır. Araştırmada ışıklandırma süresi açısından 11 sa, 15 sa ve 19 sa uygulamaları üç farklı biber genotipinde denenmiş olup, fotoperiyotun androgenesis açısından önemli bir etkisi olmadığı sonucuna varmışlardır. Tomurcukların kültüre alınmadan önceki bir haftalık gelişim sıcaklığına göre 22 °C, 26 °C ve 30 °C'de yetişen donör bitkilerde yetiştirilme sıcaklığının artması ile embriyo gelişiminin arttığını belirtmektedirler. Optimal gelişmenin olduğu 26 °C'de maksimum (%2 embriyo) embriyo gelişiminin gözlemlendiğini ifade etmektedirler. Düşük sıcaklıkta (16 °C) yetiştirilen bitkilerin anterlerinin embriyo oluşturma oranı (%0,2) oldukça düşük hesaplanmıştır. Ayrıca bilim insanları, bitki yaşının ilerlemesiyle birlikte embriyogenesisin azaldığını, genç bitkilerin embriyo oluşturma açısından daha iyi yanıt verdiğini savunmaktadırlar.

Xie vd. (1996)'nin Japon pirincinde (*Oryza sativa* L.) mikrospor kültürü üzerine yürütmüş oldukları çalışmada, donör bitkilerin yetiştirme sezonları ve mikrospor kültüründe ön uygulama işlemlerinin etkisini araştırmışlardır. Çalışmada üç farklı sezonda

yetiştirilen (erken sezon (25 Mayıs (dikim)-27 Ağustos (kültüre alım), normal sezon (15 Haziran-4 Eylül), geç sezon (7 Temmuz-24 Eylül)) bitkilerin mikrospor yolu ile kallus oluşturma düzeyleri incelediklerinde, sadece erken ve normal sezonda yetiştirilen bitkilerden yanıt alındığını bildirmektedirler.

Tosca vd. (1999), gerberanın gynogenesis yanıtı üzerine çalışmışlar ve donör bitki yetiştirme sezonunun etkisini araştırmışlardır. İki yıl boyunca yürüttükleri çalışmada nisan ve ekim ayları arasında denemeler kurmuş olup, dört farklı gerbera genotipi incelemişlerdir. Çalışmada olgunlaşmamış olarak aldıkları ovaryumlardan indirect (kallusdan embriyo) embriyo oluşumu elde edildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca dört genotipten ikisinin ilkbahar aylarında yüksek oranda kallus oluşturduğunu, diğer ikisinin sonbaharda daha çok kallus oluşturduğunu kaydetmişlerdir. Bilim insanları bitki genotipinin yetiştirme sezonunu belirlemede etkili olduğu, bunda gynogenesis oluşumunu etkilediği kanısına varmışlardır.

Buyukalaca vd. (2004)'nın biber androgenesi üzerine gümüş nitrat ($AgNO_3$) ve donör bitki yetiştirme koşullarının etkisini araştırdıkları çalışmada sera koşullarında yetiştirilen donör bitkilerden açık arazidekilere göre daha fazla embriyo elde edilebileceği savunulmaktadır. Araştırmacılar bu çalışma ile donör bitkilerin büyüme koşullarının anter kültürü başarısını önemli ölçüde etkilediğini belirtmektedirler. Tüm genotipler için serada yetiştirilen bitkilerden, açık alanda yetiştirilen bitkilere göre yaklaşık olarak 4 kat daha fazla embriyo üretildiğini bildirmektedirler.

Donör bitkilerin vejetasyon dönemi boyunca maruz kaldıkları açık, güneşli günlerin sayısı ve ortalama aylık sıcaklığın anter kültürü yolu ile biber embriyogenesi üzerine etkili olduğu bir çalışmada belirtilmiştir (Rodeva ve Cholakov 2006).

Yetiştirme koşullarının kontrollü olarak yetiştiriciliğe olanak sağlaması haploid çalışmalarında daha iyi sonuçlar elde etmede bir araç olarak görülebilmektedir. Kontrollü koşullara yetişmeyen bitkilerden alınan eksplantlarda kontaminasyon gibi problemlerin çıkabileceği öngörülmektedir (Ferrie ve Caswell 2011). Bunun yanı sıra bitki türüne göre donör bitkinin yaşadığı soğuk stresinin bazı bitkilerde (arpa) embriyogenesi artırdığı düşünülür iken (Ferrie ve Caswell 2011, Kasha vd. 2003), bazı bitkilerde (kuşkonmaz, biber, *Saponaria vaccaria* L.) ise azalttığı görülmüştür (Wolyn ve Nicholas 2003, Lantos vd. 2009, Kernan ve Ferrie 2006).

Başka bir çalışmada ise büyüme odası koşullarında yetiştirilen arpa donör bitkilerinden, sera koşullarında yetiştirilenlere göre daha fazla yeşil DH bitkisi üretildiği bildirilmiştir (Dahleen 1999).

Ellialtıoğlu vd. (2012), iki farklı patlıcan kültür genotipinin (Kemer ve Aydın Siyahı genotipi) farklı dönemlerde haploid embriyo oluşturma yeteneğine sahip polen (S poleni) durumlarını incelemişlerdir. Çalışmada kültür çeşitleri açık arazi ve ısıtılmayan cam sera koşullarında yetiştirmişlerdir. Açık arazide yetiştirilen donör bitkilerden haziran sonu - ağustos başı olmak üzere 2 yıl boyunca eksplant denemeye alınırken, ısıtılmayan cam serada yetişenlerden ise sadece bir sonbahar döneminde (eylül sonu- ekim başı) eksplant kültüre almışlardır. Ellialtıoğlu vd. (2012)'ne göre yaz döneminin sonbahara göre androgenesis açısından daha iyi yanıt veren bir sezon olduğu, sadece Kemer

genotipinden haploid embriyo elde edildiği, düşük ışık yoğunluğu ve sıcaklığın S poleni varlığını azaltmaya ve çiçek silkmeye neden olabileceği savunulmaktadır.

Dokuz biber melez genotipinde ve genotipinde, donör bitki yetiştirme sıcaklığının ve büyüme periyodunun anter kültürü başarı oranı üzerine etkisini inceleyen araştırmacılar, 2 yıl boyunca haziran ayından ekim ayına kadar ısıtılmayan serada donör bitkileri yetiştirmişlerdir. Çoklu çekirdek evresinde mikrospor bulunduran anterleri kültüre almış olup, kültüre alınan anterlerden en çok embriyo Eylül ayında elde etmişlerdir. Embriyo gelişimi için optimum sıcaklığın 17,5 °C-22,2 °C arasında olduğunu bildiren bilim insanları, bu koşullarda %52,9 oranında embriyo oluşumu gerçekleştiği ve bunun %50,6'sının bitkiye dönüştüğünü söylemektedirler. Çalışma sonucunda uygun kültür ortamı, donör bitki yaşı ve donör bitki yetiştirme ortamı sıcaklığı gibi faktörlerin, farklı biber genotiplerinde androjenik yanıtı iyileştirebileceğini bildirilmektedirler. Günlük sıcaklığın biraz farklılaşmasının biber anter kültüründe olumlu etki yaratacağını görmüşlerdir. (Grozeva vd. 2013).

Arpada donör bitkinin yetiştirilme koşullarının embriyo kültürü ile yeşil bitki elde etme üzerine etkisini araştıran araştırmacılar, bu konu hakkında yeterince araştırma yapılmadığı ve arpada yeşil bitki elde etmenin önemli olduğu düşüncesiyle hareket etmişlerdir (Dahleen 1999). Bu sebeple yürüttükleri çalışmada kontrollü büyüme odasında ve sera koşullarında yetiştirilen 'Golden Promise' ve 'Morex' adlı iki farklı arpa genotipini, dört farklı tarihte (1 Haziran 1996, 1 Eylül 1996, 1 Aralık 1996 ve 1 Mart 1997) ekmişlerdir. Çalışma sonucunda genotip, donör bitki büyüme ortamı ve ekim tarihinin yeşil bitki rejenerasyonu üzerinde önemli etkileri olduğunu görmüşlerdir. Aralık ayında seraya ekilen bitkilerden gelişmiş yeşil bitki oranının daha az olduğunu, bitki rejenerasyonunun sıcaklıktan çok ortalama güneş radyasyonuna bağlı olduğunu bildirmişlerdir. En iyi bitki gelişiminin Morex genotipinde olduğunu, ancak bu genotipte sera ve büyüme odasında donör bitki yetiştirmenin yeşil bitki oluşturmada çok bir farklılık yaratmadığını savunmaktadırlar. Serada yetiştirilen donör bitkilerden istenen rejenerasyon oranına, uygun doğal ışık ve sıcaklık seviyesinde ulaşılabileceğini bildirmektedirler.

Ferrie vd.'nin 2014 yılında yayınladıkları çalışmada, donör bitki yetiştirme sıcaklığının yulaf bitkisinde mikrospor kültürü üzerine etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada 20 °C gündüz/15 °C gece, 10 °C gündüz/5 °C gece olmak üzere iki farklı yetiştirme ortamı denenmiş olup; 20 °C gündüz/15 °C gece koşullarında, manitol ön uygulamalı ve manitol ön uygulamasız iki farklı yöntem üzerine çalışmışlardır. Daha düşük sıcaklıklarda yetiştirilen (10 °C gündüz/5 °C gece) donör bitkide ise manitol uygulaması yapmamışlardır. Çalışma sonucunda en verimli yanıtın 20 °C gündüz/15 °C gece koşullarında yetiştirmiş olan donör bitkinin mikrosporlarının manitol ile muamele edilmesi sonucundan elde edildiğini bildirmektedirler. Yapılan çalışmaya göre araştırmacılar sağlıklı, güçlü donör bitkilerden alınan mikrosporların embriyo oluşturma kabiliyetinin arttığını, ayrıca embriyo ve embriyo benzeri yapıların oluşumunun donör bitkinin yetiştirildiği yerdeki sıcaklık, fotoperiyot, ışık yoğunluğu ve yetiştirme ortamının yapısının (sera, tarla, bitki büyütme kabini) etkilediğinin görüşüne varmışlardır.

Ferrie ve Caswell (2011)'in *Apiaceae* familyasına ait bazı türlerde uygun haploid protokolünü oluşturmak adına yürüttükleri çalışmada, 20 farklı türün mikrospor etkinliği üzerinde durmuşlardır. Araştırmacılar donör bitki yetiştirme koşulları, uygun besi ortamı ve

mikrospor kültürleri için uygun kültür koşulları üzerine çalışmalarını yürütmüşlerdir. Çalışmada 20 farklı tür arasından 11'inde embriyo elde edilirken, bunlardan 10 tanesinde DH bitki elde etmişlerdir. Rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.), anason ve dereotu donör bitkilerini farklı gece ve gündüz sıcaklıkları bulunan koşullarda yetiştirilerek donör bitki için uygun ve gündüz/gece sıcaklığını belirlenmeye çalışmışlardır. Araştırmacılar belirli bir süre rezene bitkilerini 10 °C/5 °C, 15 °C/10 °C, 17 °C/13 °C'de (gündüz/gece) yetiştirmişlerdir. Ardından vernalizasyonu sağlamak amacı ile 16 sa fotoperiyot döngüsünde 10 °C/5 °C sıcaklıkta 8 hafta bitkileri bekletmişlerdir. Anason (*Pimpinella anisum* L.) ve dereotu (*Anethum graveolens* L.) donör bitkilerinin ise 10 °C/5 °C, 20 °C/15 °C olmak üzere iki farklı koşulda yetiştirildiği, bu türler dışında kalan diğer türlerin ise 20 °C/15 °C sıcaklık koşullarında yetiştirildiğini bildirmektedirler. Rezenenin farklı genotiplerinde yürütülen donör bitki uygun yetiştirme sıcaklığının belirlenmesine yönelik araştırma konusunda, tüm genotipler için genel anlamda en iyi embriyo verme sıcaklık derecesinin 15 °C/10 °C olduğunu belirlemişlerdir. VF2 ve VF8 genotiplerinin bu sıcaklık derecesinde de embriyo oluşumu açısından oldukça başarılı olsada, en yüksek embriyo oluşumunu 10 °C/5 °C yetiştirilme koşullarında gösterdiğini söylemektedirler. Tüm genotiplerde 17 °C/13 °C sıcaklık derecesinde ya hiç embriyo oluşmadığını ya da embriyo oluşumunun oldukça sınırlı kaldığını belirtmektedirler. İki farklı sıcaklık derecesinde yetiştirilen anason ve dereotu donör bitkilerinin ve iki farklı saflaştırma ve süspansiyon sıcaklığı (oda sıcaklığı, soğuk) uygulamasının da araştırıldığı çalışmada, 10 °C/5 °C yetiştirme koşullarının embriyo oluşumuna yarar sağladığını, soğuk saflaştırma ve süspansiyon uygulamasının faydalı olduğunu savunmaktadırlar. Soğuk koşullarda yetişen donör bitkiden daha uzun sürede tomurcuk toplanabildiğini bildirilmektedirler.

İspanyol soğan genotiplerinde gynogenesis üzerine yapılan bir çalışmada, iki farklı koşullarda yetiştirilen (tarla ve büyüme odası) bitkilerin embriyogenesis frekansında istatistiksel olarak çok bir farklılık oluşmadığını, uygulanan protokole göre de çalışmada kullanılan üç genotipten elde edilen embriyo sayısının da bu farklılığı net bir şekilde göstermeyebileceğini bildirmektedirler. Çalışmada ayrıca en yüksek Recas genotipinden %2,09 oranında, en düşük ise Fuentes de Ebro genotipinden (%0,53) embriyo elde edildiğini söylemektedirler (Fayos vd. 2015).

Donör bitkinin ışık kaynağının gynogenesis üzerine etkili olduğu savunulan bir çalışmada, sera ve büyüme odasında yetişen bitkilerde gynogenesis kabiliyetinin değişkenlik gösterebileceği savunulmaktadır (D'Halluin ve Keimer 1986).

Bazı biber genotiplerinde androgenesis yolu ile embriyo ve haploid bitki oluşumunu uyarıcı etmenleri doktora tezinde araştıran Sayılır (2002), uygun eksplant büyüklüğü, uygun besin ortamı kombinasyonu ve uygun donör bitki yaşı üzerine 20 genotipte denemeler yürütmüştür. Araştırmacı uygun polen aşamasını Asetokarmin yöntemi ile belirlemiş olup, en uygun aşamada mikrospor yoğunluğunun 4-6 mm uzunluğundaki çiçek tomurcuklarda bulunduğunu bildirmektedir. Biberde androgenesisde kullanılabilecek besin ortamını belirlemeye yönelik araştırma konusunda ise 7 genotipte uyguladığı 6 farklı besin ortamı kombinasyonundan en iyi sonucun 4 mg L⁻¹ NAA ve 0,1 mg L⁻¹ BAP hormonları ilaveli MS besin ortamından elde edildiğini savunmaktadır. Çalışmada ayrıca en başarılı hormon konsantrasyonlu besin ortamına 200 ml L⁻¹ havuç ekstraktı eklemiş ve ardından farklı sürelerde (0, 25, 50, 75, 100 saat) +4 °C'de ön uygulamaya tabi tutmuştur. Araştırma sonucunda ön uygulama süresinin uzamasının embriyo ve haploid bitki oluşumunda bariz bir etki yaratmadığı, sadece

anterde etkileşim ve kallus gelişiminin artışına neden olduğu bildirilmiştir. Araştırmacı çalışmanın bir başka konusunda ise uygun besi ortamına 500 mg Caseinhydrolysat ve 8 mg glutamine eklemiş ve 3 biber genotipinde (Tatlı sivri kıl, Charleston Yalova, Yellow Wonder), farklı sürelerde (8, 10, 12, 14, 16 gün) ön sıcaklık stres uygulaması (+35 °C) denemiştir. Caseinhydrolysat ve glutamine eklemenin olumlu bir etki yarattığı ve ön sıcaklık stresinin süresinin artmasının pozitif yönde bir artışa sebep olduğu, en iyi yanıt veren genotipin ise Charleston Yalova olduğu tespit edilmiştir. Donör bitki genotipinin androgenesis başarısını etkileyen başlıca etmen olduğu, kış aylarında serada yetiştirilen biber genotiplerinin yaz aylarındakilere göre başarı oranlarının oldukça düşük olduğunu söyleyen araştırmacı, genç bitkilerden alınan tomurcukların yaşlılara göre daha az yanıt verdiğini de savunmaktadır.

Şensoy (2011)'un yürütmüş olduğu doktora tezinde donör bitki yetiştirme mevsiminin, bitki yaşının ve genotipinin androgenesis üzerine etkisini 3 farklı biber tipinde ve 12 genotipte incelemiştir. İki yıl süren denemelerde yaz mevsiminde 6, kış mevsiminde 6 genotipte çalışma yürütülmüştür. Yaz mevsiminde açık arazide yetiştirilen donör bitkilerin, kışın sera koşullarında da yetiştirildiği bildirilmektedir. Çalışmaya göre kış mevsiminde %0,69, yaz mevsiminde %0,68 oranında embriyo elde edilmiş olup, mevsimsel farklılığın embriyo oluşturmaya çok bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Mevsime uygun genotiplerle çalışmanın doğru olduğunu düşünen araştırmacı, aylık olarak değerlendirdiği donör bitki yaşı etkisini ise; bitki yaşının artmasının, androgenesis yöntemi ile haploid embriyo ve bitki elde etmede negatif bir etki yarattığı görüşündedir. Çalışmada en yüksek embriyo oluşumu dolmalık tip olan Ergenekon çeşidinden (%15,45) elde edildiği, sivri tip biber olan Delta çeşidinden ise hiç embriyo oluşmadığı bildirilmekte olup, genotip ve tiplere göre embriyo oluşma etkinliğinin değiştiği savunulmaktadır.

Büyüme odası koşullarında ve sera koşullarında yetiştirilmiş *Brassica napus* (Kanola) bitkisinin mikrospor kültürü yolu ile haploid embriyo verimi üzerine yapılmış bir çalışmada 3 farklı yoğunlukta mikrosporlar NLN ortamında kültüre alınmıştır (Chunyun 1995). Çalışma sonucunda donör bitkinin yetiştirilme durumunun haploid embriyo oluşumuna etki eden bir etmen olduğu sonucuna varan araştırmacı, kontrollü koşullar altında büyüme odasında yetişen bitkilerden seradakilere göre 2 kat daha fazla embriyo elde edildiğini bildirmektedir. Büyüme odasında yetiştirilen bitkilerin çiçeklerinin her gün uzaklaştırılması ile eksplant olarak kullanılacak tomurcuğun yavaş gelişmesini teşvik ettiği ve mikrosporun çekirdek hacmi indeksinin ve protoplazma hacminin seradakilere göre daha uzun sürede mikrospor kültürü için uygun aşamada kaldığını savunmaktadır. Bunun yanı sıra en uygun mikrospor yoğunluğunun ise NLN ortamı başına 1 ml olduğunu tespit etmiştir.

Farklı iklim adaptasyonu olan (düşük ve yüksek sıcaklık toleransı ve hassasiyeti) biber genotiplerinin anter kültürü ile embriyo ve bitki oluşturma başarısını inceleyen araştırmacılar, donör bitkilerden aldıkları tek çekirdekli mikrospor ihtiva eden anterleri $MS + 4 \text{ mg L}^{-1} \text{NAA} + \%0,25 \text{ aktif kömür} + 30 \text{ g L}^{-1} \text{sakkaroz} + 15 \text{ mg L}^{-1} \text{AgNO}_3$ içerikli iki farklı besi ortamına ekmişlerdir. Ortamlar arasında farklılık olarak BAP oranında düzenleme yapıldığı, I nolu ortam $0,1 \text{ mg L}^{-1}$, II nolu ortam $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ oranında BAP içerdiği bildirilirken, 2009 yılı ekim ayında başlanan denemelerin 12 ay boyunca her ay dikilmek sureti ile 1 yıl sürdüğünü belirtmektedirler. Elde edilen bulgulara göre ağustos ayında en yüksek embriyo veriminin İnan 3363 genotipinde gerçekleştiğini, en yüksek

bitki rejenerasyonunun nisan ayında tüm genotiplerde olduğunu bildirmektedirler. Yüksek sıcaklık hassasiyeti, düşük sıcaklık toleransı gösteren genotiplerin yetiştirme ortamı sıcaklığının düşük olduğu dönemlerde embriyo veriminin arttığı belirlenirken, düşük sıcaklık hassasiyeti, yüksek sıcaklık toleransı gösteren genotiplerin ise sıcaklığın arttığı dönemlerde embriyo veriminin arttığı sonucuna varmışlardır (Ata vd. 2019).

Çeltik (*Oryza sativa*), (Zhou ve Yang 1980), mısır (*Zea mays*), (Truong-Andre ve Demarly 1984), şeker pancarı (*Beta vulgaris*), (Znamenskaya vd. 1994), soğan (*Allium cepa*), (Bohanec vd. 1995) bitkilerinde yürütülmüş olan gynogenesis çalışmalarında, haploid bitki üretiminde genotipin etkili olduğu araştırmacı tarafından savunulmuştur (Mukhambetzhonov 1997). Bunun yanı sıra hibrit olarak tercih edilen eksplantın, standartlara göre daha iyi tepki verdiği bazı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Zhou ve Yang 1981; Kuo 1982). Bir takım araştırmacı da saf hatların ve hibrit çeşitlerin haploid embriyo frekansının açıkta tozlanan populasyonlara göre daha yüksek olduğunu belirtmektedirler (Gioffriau vd. 1997; Bohanec ve Jakse 1999). Kabakta yürütülen gynogenesis çalışmasında genotipin önemi açıkça vurgulanmış olup, genotipin etki oranının %0 ile %48,8 arasında değiştiği görülmüştür (Shalaby 2007).

Kültüre alınan ovaryuma uygulanan stres faktörlerinin embriyo oluşumunda tetikleyici olduğu, bu sebeple uygun ön uygulama protokolünün belirlenmesinin önemli olduğu yapılan çalışmalarda görülmüştür. Haploid embriyo oluşumunda gamet hücrenin sporofitik evreye geçmesi gerektiği, ön uygulama işleminin gamet hücrelerinin gametofitik evreden sporofitik evreye geçişini kolaylaştırdığı düşünülmektedir (Chen vd. 2011). Gynogenesis üzerine yürütülen çalışmalarda uygulanan ön işlemler daha çok sıcaklık üzerine yapılmıştır (Gemes-Juhász vd. 2002; Shalaby 2007). Kültüre alınmış hıyar ovaryumlarına uygulanan 32 °C sıcaklığın haploid embriyo ve bitki oluşumunu artırdığı görülmüştür (Gemes-Juhász vd. 2002). Kabakta da 32 °C’de 4 gün ön uygulamaya işleminin en yüksek embriyo oluşumuna sebep olduğu (%28), ancak 4 °C’de 4 gün uygulamasının da oldukça yüksek sonuç (%22) verdiği saptanmış, düşük sıcaklığında yüksek sıcaklık gibi embriyo oluşumunu tetikleyici olduğu görülmüştür (Shalaby 2007).

Gynogenesis tepki oranının farklı fotoperiyot koşullarına uygun soğanlarda değişiklik gösterdiği bazı araştırmacılar tarafından savunulmaktadır. Campion vd. (1992)’nin yürüttüğü çalışmada en yüksek embriyo oluşumu kısa gün soğanlarında gözlemlenirken, diğer farklı bir çalışmada nötr gün soğanları uzun gün soğanlarına göre daha yüksek frekansda embriyo oluşturmuştur (Martinez vd. 2000). Khan vd. (2020) soğanda haploidi çalışmalarında ana bitkilerin yetiştiriciliğinde kontrollü seraların kullanılması gerektiğini, düşük sıcaklık ve yüksek ışıklandırma süresinin gynogenesis üzerinde olumlu etkiye sahip olduğunu bildirmektedir. Ayrıca soğanda gynogenik haploid embriyo ve bitki üretiminde, donör bitki ve yetiştirme koşullarının, fotoperiyotun, donör bitki özel isteklerinin belirleyici olduğunu söylemektedir.

Farklı generasyon tipine ve farklı morfolojik yapısına göre polen (Polen dimorfizmi) içeren anterleri ihtiva eden tütün donör bitkilerinin embriyo oluşturma etkinliğini inceleyen araştırmacılar, donör bitkileri gün uzunluğu bakımından 2 (uzun (16 saat), kısa (8 saat)), ortalama gün sıcaklığı bakımından 2 (24 °C, 18 °C) farklı koşulların kombinasyonlarını içeren 4 farklı (LD (Long day) 24-, SD (Short day) 24-, LD 18- ve SD 18) yetiştirme ortamında gelişimlerini sağlamışlardır. Ayrıca bu donör bitkiler *in situ* (sera), soğuk ön uygulama ve *in vitro* koşullar olmak üzere üç farklı yetiştirme ortamında

yetiştirmişlerdir. Anterde bulunan polen dimorfizm kriterlerini P-polen (Pre-mitotik) ve D-polen (Ölü Polen) olarak belirleyen araştırmacılar, üç farklı yöntemle geliştirilen donör bitkilerde 24 °C uzun gün koşullarında en düşük P-polen varlığını saptamışlardır. Kısa gün koşullarında P-poleni varlığının daha çok olduğunu bildirmektedirler. 18 °C de gelişen bitkilerin 24 °C'ye göre daha iyi sonuçlar verdiğini, ancak *in vitro* koşullarda gelişen bitkilerde 24 °C sıcaklığın daha etkili olduğunu saptamışlardır. İndüksiyon oranı açısından bakıldığında ise SD 18 koşullarının (kısa gün koşulları, ortalama sıcaklık 18 °C) en yüksek oranı verdiğini görmüşlerdir. Ayrıca bitki yaşının P polen varlığını etkilemediğini belirtmişlerdir (Heberle-Bors ve Reinert (1981).

Dunwell vd. (1985)'nin kış kanolasında (*Brassica napus ssp. oleifera*) mikrospor kültürü üzerine yürüttükleri çalışmada genotip etkisi, donör bitki gelişme sıcaklığının belirlenmesi ve anter inkübasyon sıcaklığının belirlenmesi başlıklı konuları incelemişlerdir. 11 farklı hibrit çeşidi denemede kullanan araştırmacılar, donör bitkileri 16 sa fotoperiyotta 15 °C ve 20 °C sıcaklık koşullarında yetiştirmiş ve bu bitkilerden aldığı anterleri 35 °C'de 0, 1, 2, 3 gün ön sıcaklık uygulamasına tabi tutmuşlardır. Donör bitki yetiştirilme sıcaklığını değerlendirdiklerinde, 15 °C sıcaklığın tüm genotiplerde daha fazla embriyo oluşmasını sağladığını bildirmişlerdir. Embriyo sayısı açısından en yüksek yanıt veren genotipin 1B (298 adet), en az yanıt veren genotipin 2B (44 adet) olduğu belirtilen çalışmada, 15 °C'de toplamda 1542 adet embriyo, 20 °C'de 428 adet embriyo elde edilmiştir. Araştırmacılar, ön uygulamanın mikrosporun embriyo oluşumu için gerekli olduğunu, genotiplere göre 35 °C'de bekletme süresinin değişiklik gösterdiğini, ancak tüm genotiplerden elde edilen genel sonuca bakıldığında 2 gün bekletme süresinin en uygun ön uygulama süresi olduğunu bildirmektedirler.

Patlıcanda mikrospor kültürü üzerine donör bitki yetiştirme koşullarının etkisi ve farklı genotiplerin mikrospor etkinliği üzerine yapılan çalışmada 2 adet hibrit, 1 adet DH (Double haploid) hat araştırmacılar tarafından denemede kullanılmıştır. Çalışmada *in vivo* parametreleri, donör bitkilerin farklı sıcaklık, ışık ve bitkiye uygulanan bor düzeylerine göre mikrospor kültürü başarı oranının değişimi olarak belirlemişlerdir. *In vitro* olarak üzerinde durulan konuları ise farklı konsantrasyonlarda NLN ortamı bileşenleri, sükröz ve büyüme düzenleyicilerinin etkisiyle birlikte mikrospor süspansiyon yoğunluğu olarak kararlaştırmışlardır. Çalışmada donör bitkilerin başlangıçta 22 °C, mevsimsel dalgalanmalara göre ± 3 °C değişiklik gösteren klimalı, tozlayıcı etmen bulundurmeyen seralarda, hindistan cevizi turbası içeren saksılarda, dikey olarak yetiştirildiğini söylemektedirler. Ayrıca bor etki oranını belirlemek adına üç farklı dozda (100, 150, ve 200 mg L⁻¹), toplamda 3 hafta çözünür konsantre %15 (w/v) bor yaprak gübresi uygulaması yapıldığını, kontrol bitkilere sadece su uygulandığını bildirmektedirler. Araştırmacılar boron uygulaması araştırma parametresi olarak mikrospor canlılığını, embriyo oluşumu için uygun mikrospor varlığını incelediklerini belirtmişlerdir. Sera koşullarının sıcaklık ve ışık şiddeti ölçümleri cihazlar vasıtası ile kayıt altına alınmış ve sıcaklığın ortalama olarak kış aylarında 20 °C, bahar aylarında 23 °C ve yaz aylarında 26 °C olduğunu bildirmektedirler. Işık şiddetinin ise 3 klx (kilolüks) ile 10 klx arasında değiştiğini görmüşlerdir. Hibrit olarak belirlenen iki çeşitte ocak ve mayıs aylarında maksimum seviyede mikrospor canlılığının tespit edildiği, minimum mikrospor yoğunluğunun ise haziran-temmuz aylarında kayıt altına alındığını belirtmektedirler. Ağustos ve eylül aylarında havalarda bulutlu gitmesi ile bağlantılı olarak ışık şiddetinde düşüş yaşandığını ve bunun da mikrospor canlılığını doğrudan olumsuz etkilediğini

savunmaktadırlar. Donör bitki yetişme sıcaklığının ve farklı oranlarda bor gübrelemesinin mikrospor canlılığını ışık şiddeti kadar etkilemediğini belirten araştırmacılar, ek aydınlatma ile donör bitkinin canlı mikrospor verebilme kabiliyetinin artırılabilceğini söylemektedirler (Rivas-Sendra vd. 2020).





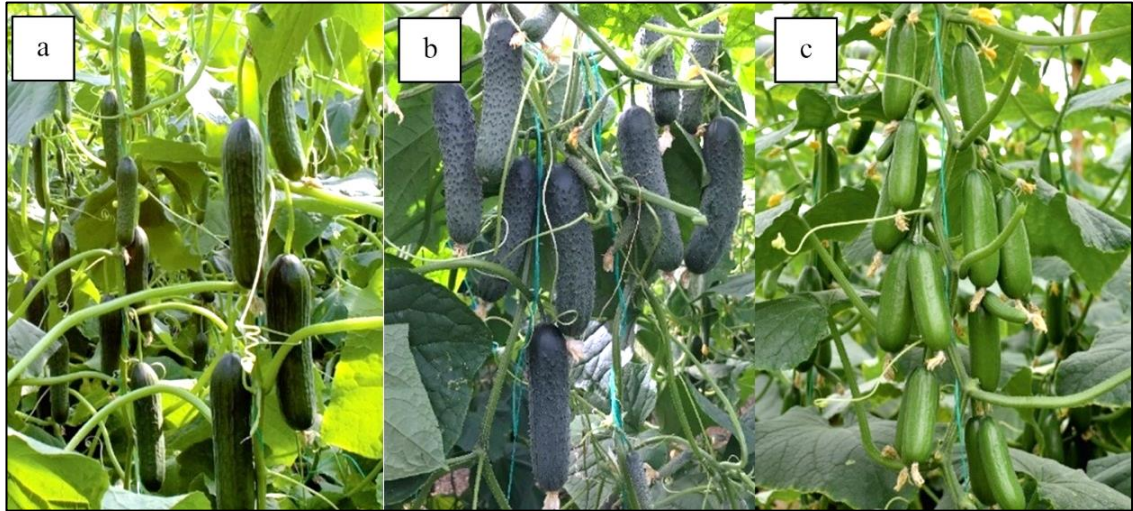
3. MATERYAL VE METOD

Yürütülen bu çalışmada hıyarda gynogenesis çalışmaları üzerine yetiştirme mevsimi ve donör bitki yaşının etkisini belirleyebilmek amacı ile denemeler 2019 Bahar, 2019 Güz, 2020 Bahar ve 2020 Güz olmak üzere 4 sezon boyunca sürdürülmüştür. Donör bitkiler Genetika Tohum Tarım San. ve Tic. Ltd. Şti. Ar-Ge seralarında yetiştirilmiş ve bitki doku kültürü laboratuvar çalışmaları Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Doku Kültürü Laboratuvarında yürütülmüştür. Ploidi seviyesini belirlemeye yönelik analizler ise Namık Kemal Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümünde yapılmıştır.

3.1. Materyal

Donör bitkiler kokteyl (Sedir F₁), Beith-Alpha (Ufuk F₁), dikenli (Meriç F₁) olmak üzere üç farklı tipte ticari hıyar çeşitleri olarak belirlenmiştir. Tüm çeşitler Genetika Tohum firmasına ait olup, çeşitlerin özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

Ufuk hibrit çeşidi; geç güz, tek ekim ve erken bahar hıyar yetiştiriciliğine uygun, meyveleri tekli, homojen, koyu yeşil renkli, yüksek verimli, tekli, meyve uzunluğu 18-19 cm, uzun raf ömrü olan erkenci, dikensiz bir çeşittir. Ayrıca bu çeşit hastalık dayanımı bakımından Külleme'ye karşı orta direnç dayanım göstermektedir. Bu çeşidin meyve özellikleri Şekil 3.1.a'da verilmiştir (Anonim 3).



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan çeşitlerin bitki ve meyve yapıları **a.** Ufuk hibrit çeşidi meyve ve bitki yapısı; **b.** Meriç hibrit çeşidi meyve ve bitki yapısı; **c.** Sedir hibrit çeşidi meyve ve bitki yapısı

Meriç hibrit çeşidi; geç güz, erken bahar yetiştiriciliğine uygun, ihracata uygun tekli, koyu yeşil, damarsız, dikenli, uzun saplı meyve yapısına sahip, çok güçlü ve güçlü koltuklu, yarı multi, 12-14 cm meyve boy uzunluğuna sahip bir çeşittir. Hastalık dayanımı bakımından ise Külleme ve Cucumber Mozaik Virüsü'ne karşı toleranslıdır. Bu çeşidin meyve özellikleri Şekil 3.1.b'de verilmiştir (Anonim 3).

Sedir hibrit çeşidi; güz ve erken bahar dönemine uygun kısa boğum aralı, küçük yapraklı, meyve yapısı kokteyl tip, parlak yeşil renkli, dikensiz, meyve uzunluğu 11-13 cm, kör koltuk özelliği ile işçiliği azaltıcı, uzun raf ömürlü, erkenci, yüksek verimli ve multi bir çeşittir. Bu çeşidin meyve özellikleri Şekil 3.1.c’de verilmiştir (Anonim 3).

3.2. Metod

3.2.1. Bitkilerin yetiştirilmesi

2019 Bahar, 2019 Güz, 2020 Bahar ve 2020 Güz olmak üzere 4 sezon boyunca sürdürülmüştür. Bitkilerin tohum ekiminden, sökümüne kadar yetiştiricilik ile ilgili faaliyetleri tohum firması tarafından yürütülmüştür. Seraya dikim olgunluğuna ulaşan fidelerin dört sezon boyunca dikim ve söküm tarihleri, dikilen bitki adedi Çizelge 3.1.’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Sezonlara göre bitkilerin seralara dikim ve söküm tarihleri, çeşitlere göre seraya dikilen bitki sayısı

Sezon	Bitki Dikim Tarihi	Bitki Söküm Tarihi	Dikilen Bitki Sayısı (Adet)		
			Ufuk	Meriç	Sedir
2019 Bahar	26.02.2019	14.06.2019	25	25	25
2019 Güz	31.08.2019	29.11.2019	50	50	50
2020 Bahar	12.02.2020	12.06.2020	120	120	120
2020 Güz	31.08.2020	25.12.2020	150	150	150

Seraya dikilen donör bitki sayıları kültüre alınabilecek uygun ovaryum sayısına ulaşabilmek amacı ile giderek artırılmıştır. Bitkilerde ilk çiçeklerin gözlenmesi mevsimlere göre değişiklik göstermiştir. Bahar sezonu denemelerinde ilk çiçekler bitkilerin bitki gelişimine bağlı olarak seraya fidelerin dikim tarihinden 4-5 hafta sonra gözlenirken, güz denemelerinde bu 3-4 hafta arasında değişmiştir. Bitki söküm tarihleri son deneme tarihleri olarak belirlenmiştir.

Serada yetiştirilen donör bitkilerin gelişim aşamaları ise Şekil 3.2’de verilmektedir.



Şekil 3.2. Seradaki sağlıklı bitkiler ve bitki üzerinde ilk çiçeklerin görülmesi (en sağda)

3.2.2. Donör bitki yaşlarının belirlenmesi

Donör bitkilerin deneme kurum tarihinden önceki 1 haftalık gelişimleri 1 yaş olarak adlandırılmıştır. Her hafta genel olarak cuma günü 1 deneme kurulmuştur. Son deneme kurum tarihi ile de bitki yaşam seyirleri sonlandırılmıştır. Ayrıca bazı sezonlarda bitkiye bağlı olarak son haftalarda çiçek dökümleri yaşanmış ve o çeşitlerin o dönemdeki denemeleri erken sonlandırılmıştır. Dört sezonda bitkilerin belirlenen yaş çizelgesi Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Sezonlara göre bitki yaşının gösterilmesi

Bitki Yaşı / Sezon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2019 Bahar	29 Mar	5 Nis	12 Nis	19 Nis	26 Nis	3 May	10 May	17 May	24 May	31 May	7 Haz	14 Haz			
2019 Güz	27 Eyl	4 Eki	11 Eki	18 Eki	25 Eki	1 Kas	8 Kas	15 Kas	22 Kas	28 Kas					
2020 Bahar	20 Mar	27 Mar	3 Nis	10 Nis	17 Nis	24 Nis	30 Nis	8 May	15 May	22 May	29 May	5 Haz	12 Haz		
2020 Güz	17 Eyl	24 Eyl	2 Eki	9 Eki	15 Eki	23 Eki	30 Eki	6 Kas	13 Kas	20 Kas	27 Kas	4 Ara	11 Ara	17 Ara	25 Ara

3.2.3. Ovaryum sera içi sıcaklığının ölçülmesi

Seraya dikilen bitkilerin dikim tarihinden itibaren gelişim sıcaklığı ölçümleri yapılmış olup, çalışmamızda ovaryumların bir haftalık sera içi sıcaklıkları değerlendirilmiştir. Bitkilerin gelişim sıcaklıkları Hobo marka sıcaklık ölçer dataloger tarafından yetiştirilme süresi boyunca, saat başı ölçüm yapılarak kayıt altına alınmıştır. Dataloger sera içerisinde ani sıcaklık değişimlerine karşı sağlıklı bir ölçüm yapabilmesi

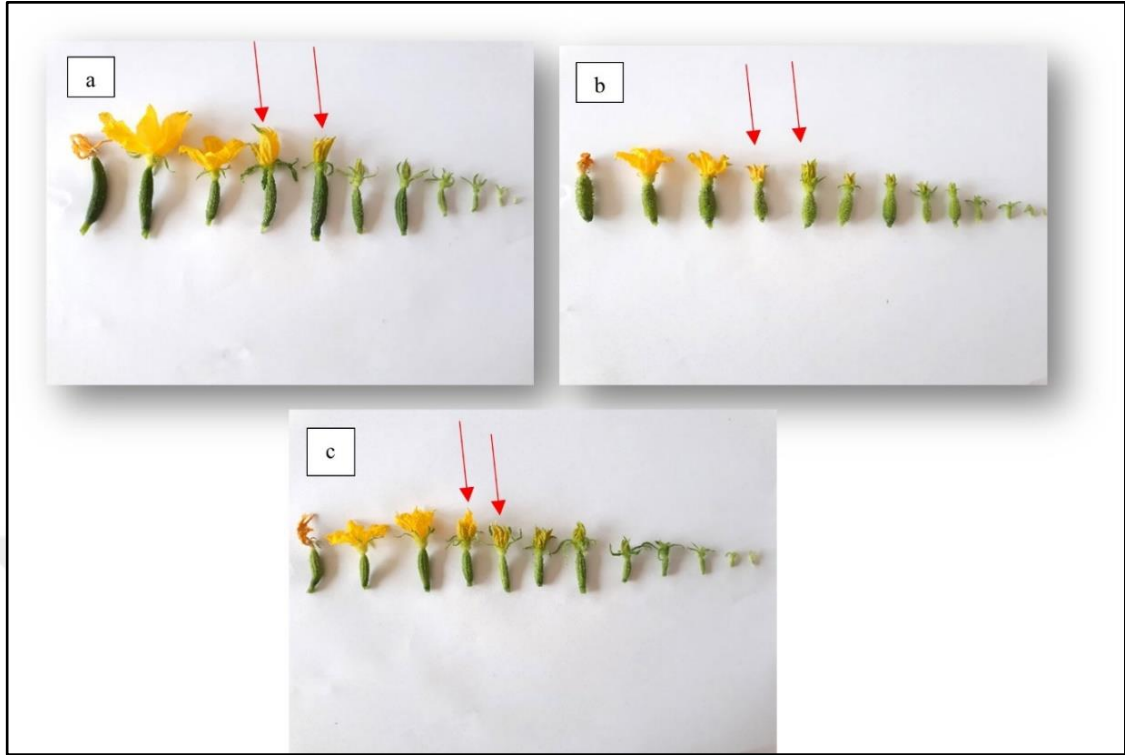
amacı ile bir korumalık içerisinde muhafaza edilmiş ve bitki sıralarının ortalarına asılmıştır (Şekil 3.3). Günlük verilerden maksimum, ortalama ve minimum sıcaklık değerleri değerlendirmeye alınmıştır. Değerlendirme yapılırken, ovaryumun sera içerisinde maruz kaldığı bir haftalık sıcaklığın, embriyo oluşum oranına, bitki oluşum oranına ve elde edilen embriyo sayısına göre bitkiye dönüşüm oranına etkisi değerlendirilmiş ve minimum, ortalama ve maksimum sıcaklık değerlerine göre yorumlanmıştır.



Şekil 3.3. Hobo marka sıcaklık ölçüm ve kayıt cihazı, cihazın sera içine yerleştirilmesi

3.2.4. Dişi çiçeklerin toplanması

Daha önceden yürütmüş olduğumuz çalışmaya dayanarak uygun ovaryum aşaması çiçek açımına yakın dönem olarak planlanmış ve çiçekler anthesisden 1 gün ve 6 saat önce toplanmıştır (Çetinkaya 2015). Çiçekler ovaryum kontaminasyon riskini azaltmak için sapları ile toplanmış, çiçek sapları taç yaprak vb. unsurlar laboratuvar ortamında temizlenmiştir. Şekil 3.4'te üç farklı çeşide ait farklı aşamalarda bulunan ovaryumlar verilmiştir. Resimlerde her çeşide ait kültüre alınma potansiyeline sahip çiçek düzeyleri kırmızı ok ile gösterilmiştir.



Şekil 3.4. a. Ufuk çeşidi ovaryum gelişim aşamaları (Kırmızı ok ile işaretli olanlar uygun aşamayı göstermektedir.); **b.** Meriç çeşidi ovaryum gelişim aşamaları; **c.** Sedir çeşidi ovaryum gelişim aşamaları

3.2.5. Besi ortamlarının hazırlanması

Bu çalışmada embriyo teşvikini sağlamak amacı ile ovaryum kültüründe daha önceden etkili olan besi ortamı kombinasyonu kullanılmıştır (Çetinkaya 2015). Temel besi ortamı olarak MS ortamı ve vitaminleri (Çizelge 3.3) kullanılmış olup, bu besi ortamı 1 : 10; 2,4-D : Kinetin hormonları ile desteklenmiştir. Ayrıca besi ortamına 30 g L⁻¹ sakkaroz ve 7 g L⁻¹ agar eklenmiş ve pH seviyesi 5,8 olarak ayarlanmıştır. Hazırlanan besi ortamı 20 dakika 121 °C otoklavda sterilize edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan ortam steril kabin içerisinde 60 mm çaplı petrilere eşit miktarlarda dökülüp, katılaşmaya bırakılmıştır. Katılaşan ortamlar deneme esnasında kullanılmak üzere streç filmle sarılıp, 4 °C’de bekletilmiştir.

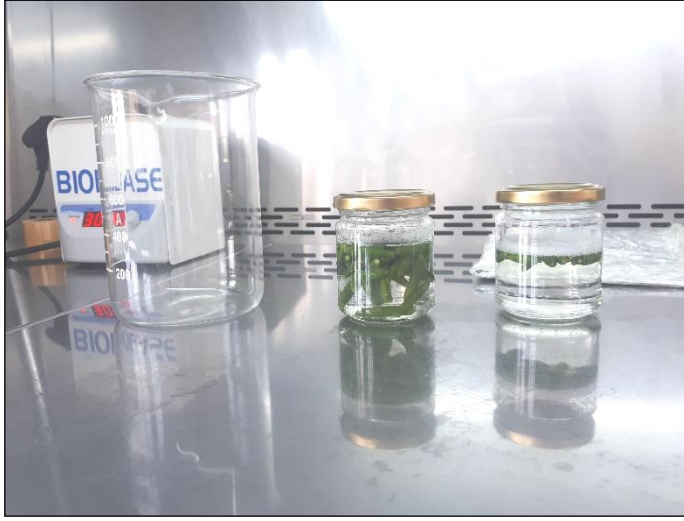
Ovaryumlardan gelişen embriyoların bitkiye dönüşümünün olabilmesi için MS besi ortamı 1 : 4 ; NAA : BAP hormonlarıyla kombine edilmiş ve yine bu ortama da 30 g L⁻¹ sakkaroz ve 7 g L⁻¹ agar eklenerek, pH seviyesi 5,8 olarak ayarlanmıştır (Çetinkaya 2015). Gelişen bitkiler organ gelişimlerinin sağlıklı olabilmesi için içeriğinde ½ MS + 30 g L⁻¹ sakkaroz ve 7 g L⁻¹ agar bulunan sürgün besi ortamlarına aktarılmıştır.

Çizelge 3.3. Murashige ve Skoog besi ortamı içeriği (Murashige ve Skoog 1962)

Murashige & Skoog Besi Ortamı İçeriği	mg L⁻¹
Makro Elementler	
KNO ₃	1900,00
NH ₄ NO ₃	1650,00
CaCl ₂	332,02
MgSO ₄	180,54
(NH ₄) ₂ SO ₄	-
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,80
Mikro Elementler	
MnSO ₄ .H ₂ O	16,90
H ₃ BO ₃	6,20
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,60
KI	0,83
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
FeNaEDTA	36,70
Organik Bileşikler	
myo-inositol	100,00
Tiamin-HCl	0,10
Nikotinik asit	0,50
Pridoksin-HCl	0,50
Glisin	2,00

3.2.6. Ovaryumların sterilizasyonu

Çiçeklerin taç yaprakları ve çiçek sapı ovaryumdan uzaklaştırılmıştır. Dikenli yapıya sahip ovaryumlar avuç içinde ovalanmış ve dikenlerinden arındırılmıştır. Ardından tüm ovaryumlar önce bulaşık deterjanı ile yıkanıp, sonra çeşme suyu ile durulanmış ve steril kabin içerisine alınmıştır. Ovaryumlar %70'lik etanol çözeltisinde 1 dakika, 100 ml'sine 1-2 damla Tween-20 damlatılmış %30'luk ticari sodyum hipoklorit (NaClO) çözeltisi içerisinde 20 dakika bekletildikten sonra en az 3 kez steril distile sudan geçirilmiş böylelikle yüzey sterilizasyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Ovaryumların kabin içersinde sterilizasyon solüsyonunda bekletilmesi

3.2.7. Ovaryumların kültüre alınması

Sterilizasyon işlemi yapılan ovaryumların dış yüzeyleri steril pens ve bistüri yardımı ile ovüllere zarar vermeyecek şekilde soyulmuştur. Böylelikle sterilizasyonda zarar görmüş parçalar uzaklaştırılarak ovaryumların besin ortamından daha faydalı şekilde yararlanması amaçlanmıştır. Üzerinde ovül bulundurmak şartıyla ovaryumlar 4 eşit parçaya ayrılarak ovüllerde en az zararlanma olacak şekilde uzunlamasına dilimlenmiştir. Her bir ovaryum 60 mm çapında, içinde besi ortamı olan genellikle plastik petrilere dikilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Ovaryumların kültüre alınma aşamaları

3.2.8. Ön sıcaklık stresinin uygulanması ve *in vitro* kültür koşulları

Ovaryumlar embriyo oluşum ortamlarına alındıktan sonra 2 gün 35 °C karanlıkta inkübatörde bekletilmiştir. Büyüme odasına aktarılan ovaryumlar, 3 gün daha 25 °C sıcaklıkta karanlıkta bekletilerek embriyo oluşumu teşvik edilmiştir. Bu işlem ile besi ortamındaki oksinin etkinliğinin artması amaçlanmıştır. Eksplantlar ön uygulama işlemlerinden sonra 25 °C sıcaklıkta, 16 saat ışık / 8 saat karanlık periyotta, 3000 lüks floresan lambalar (beyaz gün ışığı) altında iklimlendirme koşullarına alınmıştır. Ovaryumlardan gelişen embriyo ve bitki oluşumları da aynı kontrollü iklim koşullarında gelişimleri için bekletilmiştir (Şekil 3.7).

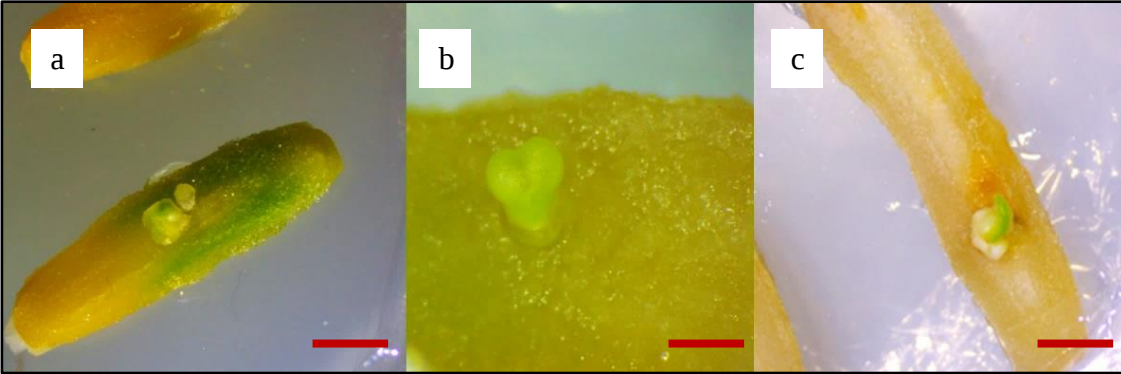


Şekil 3.7. Kültüre alınan ovaryumların ve gelişen bitkilerin büyüme odası koşullarında gösterilmesi

3.2.9. Ovaryumların rejenerasyon ortamına aktarılması

Embriyo oluşum ortamında kültüre alınan eksplantlar kültüre alınma tarihinden 2 hafta sonra rejenerasyon ortamına aktarılmıştır. Ovaryumlardan gelişen embriyoların bitkiye dönüşümleri bu ortama alındıktan sonra gerçekleşmiştir. Bitki dönüşümleri 25 °C sıcaklıkta, 16 saat ışık / 8 saat karanlık periyotta, 3000 lüks'lik floresan lambalar (beyaz gün ışığı) altında gerçekleşmiştir.

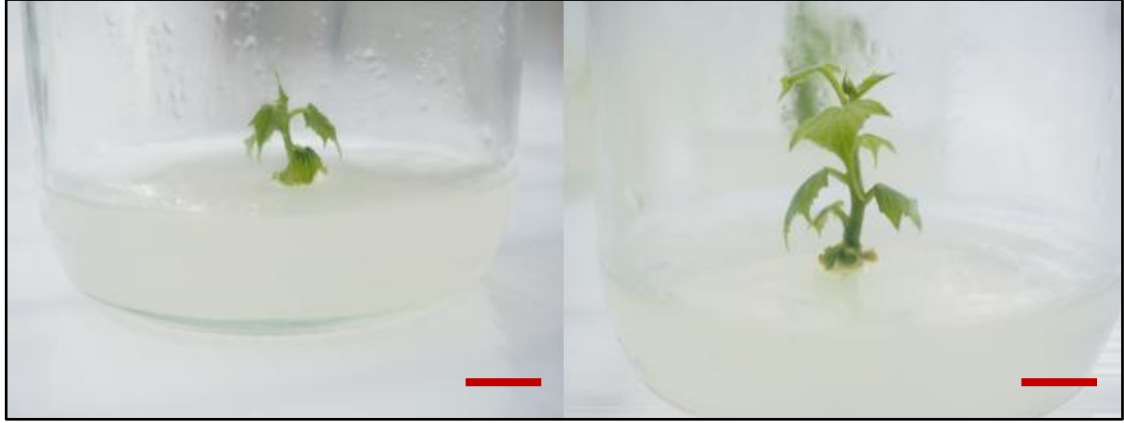
Farklı seviyede gelişim göstermiş embriyolar ve embriyonun bitkiciğe dönüşümü Şekil 3.8'de gösterilmiştir.



Şekil 3.8.a. Globular aşamada embriyo gelişimi (0.63x); **b.** Kalp aşamasında embriyo gelişimi (0.80x); **c.** Embriyonun bitkiciğe dönüşümü (1.00x) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)

3.2.10. Bitkilerin sürgün ortamına aktarılması

Ovaryumlarda 1-2 cm boyunda sürgünler gözleendiğinde, bitkicikler sürgün besi ortamına aktarılmıştır. Böylelikle bitkiciklerin gelişmesi sağlanarak, ilerde oluşabilecek hormondan kaynaklı mutasyonların önüne geçilmesi amaçlanmıştır. Bitki gelişimleri 25 °C sıcaklıkta, 16 saat ışık / 8 saat karanlık periyotta, 3000 lüks'lik floresan lambalar (beyaz gün ışığı) altında gerçekleşmiştir. Sürgün ortamında gelişme göstermiş bitki örnekleri Şekil 3.9'da verilmiştir.



Şekil 3.9. Sürgün ortamında gelişim göstermiş bitki örnekleri (bar = 1 cm)

3.2.11. Bitkilerin ploidi seviyelerinin belirlenmesi

Gelişen bazı bitkilerin ploidi seviyeleri stomada bulunan kloroplast sayısına göre ve flow sitometri yöntemi ile belirlenmiştir. Stomada bulunan kloroplast sayısı yapraklardan zar örneklerinden tespit edilmiştir. Bistüri yardımı ile alınan bitki zarı bir damla saf su damlatılmış lam lamel arasına konularak preparatlar halinde hazırlanmıştır. Olympus marka binoküler araştırma mikroskobu yardımı ile immersiyon yağı yardımı ile 100x veya 40x ölçeğe ayarlanmış ve stomalar görüntülenmiştir. Kontrol preparatı için 2n kromozom sayısına sahip donör bitkilerden yaprak örnekleri kullanılmıştır.

Flow sitometri yöntemi ile ploidi seviyesi belirlenecek olan bitkilerin ise yaprak örnekleri iki filtre kâğıdı arasına konulmuş ve petrilere aktarılmıştır. Bitki numaraları petrilere içerisine yazılmış ve soğuk muhafaza sağlanarak Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarına gönderilmiştir.

3.2.12. Embriyo ve bitkilerin görüntülenmesi

Ovaryumlardaki değişimler LEICA marka stero mikroskobu ile görüntülenmiş olup, görüntü büyüklüğü 1.00x, 0.80x ve 0.63x olarak ölçeklendirilmiştir.

3.2.13. Araştırmada üzerinde durulan parametreler

Çalışmamızda ovaryum kültürü üzerine yapılan gözlemler aşağıda belirtilmiştir.

Kültüre alınan ovaryum sayıları, gelişen embriyo ve bitki sayıları: Haftalık olarak değerlendirilmiş ve adet olarak verilmiştir. Dört farklı sezonda ayrı ayrı ve tüm sezonlarda ortak değerlendirme yapılmıştır.

Donör bitki yaşına göre embriyo oluşum oranları (%): Kültüre alınan ovaryum sayısına göre haftalık elde edilen embriyo sayıları oranlanarak hesaplanmıştır. Dört farklı sezonda ayrı ayrı ve tüm sezonlarda ortak değerlendirme yapılmıştır.

Donör bitki yaşına göre bitki oluşum oranları (%): Kültüre alınan ovaryum sayısına göre haftalık elde edilen bitki sayıları oranlanarak hesaplanmıştır. Dört farklı sezonda ayrı ayrı ve tüm sezonlarda ortak değerlendirme yapılmıştır.

Donör bitki yaşına göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%): Haftalık elde edilen embriyo sayısına göre, haftalık gelişen bitki sayısı oranlanarak hesaplanmıştır. Dört farklı sezonda ayrı ayrı ve tüm sezonlarda ortak değerlendirme yapılmıştır.

Donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyo oluşum oranları (%): Deneme tarihleri göz önünde bulundurularak aylık kültüre alınan ovaryum sayıları hesaplanmış ve bu aylarda elde edilen toplam embriyo sayıları bu aylara oranlanarak hesaplama yapılmıştır. Dört farklı sezonda ayrı ayrı ve tüm sezonlarda ortak değerlendirme yapılmıştır.

Donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre bitki oluşum oranları (%): Deneme tarihleri göz önünde bulundurularak aylık kültüre alınan ovaryum sayıları hesaplanmış ve bu aylarda elde edilen toplam bitki sayıları bu aylara oranlanarak hesaplama yapılmıştır. Dört farklı sezonda ayrı ayrı ve tüm sezonlarda ortak değerlendirme yapılmıştır.

Donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%): Deneme tarihleri göz önünde bulundurularak aylık elde edilen embriyo sayıları hesaplanmış ve bu aylarda elde edilen toplam bitki sayıları bu aylara oranlanarak hesaplama yapılmıştır. Dört farklı sezonda ayrı ayrı ve tüm sezonlarda ortak değerlendirme yapılmıştır.

Donör bitkinin çeşidine göre embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranı (%): Toplamda kültüre alınan ovaryum sayılarının, çeşitlerden elde edilen embriyo ve bitki sayılarının birbirlerine oranlanması ile hesaplanmıştır. Dört farklı sezonda ayrı ayrı ve tüm sezonlarda ortak değerlendirme yapılmıştır.

Donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların sera içi sıcaklığı grafiği (°C): Günlük ölçülen minimum, ortalama ve maksimum sera içi sıcaklık değerlerinin haftalık ortalamalarının alınması ile hesaplanmıştır. Dört farklı sezonda ayrı ayrı ve tüm sezonlarda ortak değerlendirme yapılmıştır.

3.2.14. Değerlendirme yöntemi

Haftalık kültüre alınan ovaryumların sayıları sabit bir sayıda olmadığından istatistiksel olarak hesaplanamamış ve oransal olarak verilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. 2019 Yılı Bahar Sezonu Hıyarda Ovaryum Kültürü Yöntemi ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Bulgular

4.1.1. Donör bitki yaşının hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi

Bu sezonda yetiştirilen donör hıyar bitkileri 26.02.2019 tarihinde seraya dikilmiş olup, ovaryum kültürü denemelerine 29.03.2019 tarihinde başlanmıştır. Bitkilerin dikildiği seralar kontrollü ıslah serası olup, bitkilerin düzenli kültürel işlemleri ve zirai mücadeleleri titizlikle yapılmıştır. Ufuk (dilimlenebilir) hibrit çeşidinden 303 adet, Meriç (dikenli) hibrit çeşidinden 349 adet, Sedir (kokteyl) hibrit çeşidinden 421 adet olmak üzere toplamda 1073 adet ovaryum kültüre alınmıştır. Bitki yaşının hıyarda gynogenesis üzerine etkisinin incelendiği çalışmanın bu bölümü, embriyo eldesi bulguları (indüksiyon, oluşum), bitki eldesi bulguları ve elde edilen embriyolardan bitkiye dönüştürme bulgularını içermektedir.

Çizelge 4.1. 2019 Bahar sezonu haftalık kültüre alınan ovaryum sayıları, gelişen embriyo ve bitkicik sayıları

<i>Hafta Tarih Çeşitler</i>		1 29.03	2 05.04	3 12.04	4 19.04	5 26.04	6 03.05	7 10.05	8 17.05	9 24.05	10 31.05	11 07.06	12 14.06
<i>Ufuk</i>	O.S.	16	20	27	34	21	33	34	15	40	38	15	10
	E.S.	36	14	32	57	1	2	3	4	0	27	17	11
	B.S.	24	10	18	32	0	0	3	2	0	12	7	6
<i>Meriç</i>	O.S.	15	21	38	55	40	33	53	39	40	15	0	0
	E.S.	80	75	0	32	103	13	44	1	13	4	0	0
	B.S.	43	50	0	13	41	5	27	0	8	4	0	0
<i>Sedir</i>	O.S.	15	20	43	45	42	55	64	46	44	25	22	0
	E.S.	186	123	207	187	285	86	324	103	288	42	39	0
	B.S.	96	84	133	94	148	51	155	43	84	27	31	0
<i>Toplam</i>	O.S.	46	61	108	134	103	121	151	100	124	78	37	10
	E.S.	302	212	239	276	389	101	371	108	301	73	56	11
	B.S.	163	144	151	139	189	56	185	45	92	43	38	6

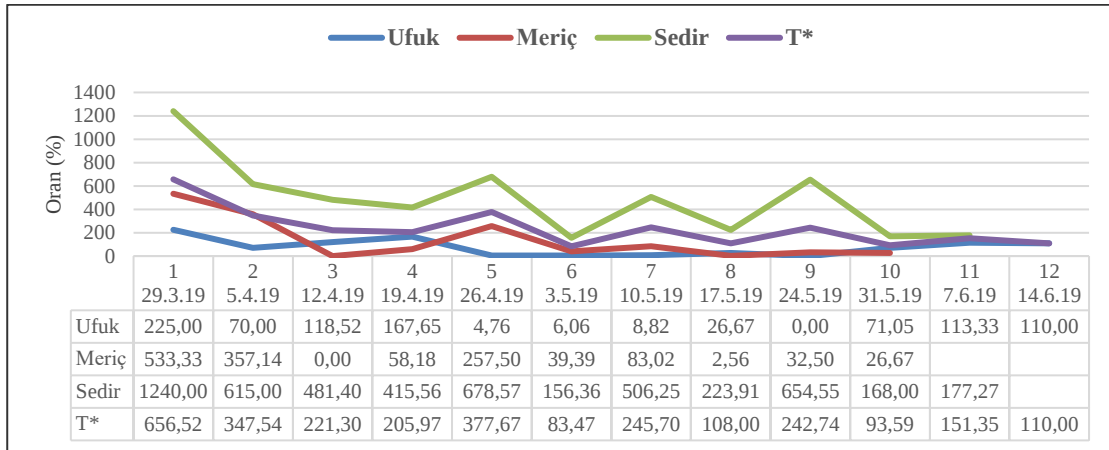
Not: O.S.; Ovaryum Sayısı (Adet), E.S.; Embriyo Sayısı (Adet), B.S.; Bitki Sayısı (Adet)

Donör bitkilerin ilk denemeye alındığı tarihten itibaren her hafta bir hafta yaş olarak addedilmiştir. Bitkilerin haftalık olarak kültüre alınan ovaryum sayısı, embriyo sayısı ve bitki sayıları Çizelge 4.1’de verilmiş olup, embriyo oluşum oranları (Şekil 4.1), bitki eldesi oranları (Şekil 4.2) ve elde edilen embriyo sayısına göre bitki oluşum oranları (Şekil 4.3) alt başlıklarda verilmiştir. Bitki gelişim durumuna bağlı olarak ilk denemelerde az sayıda eksplant bitkiden alınabilirken, vejetatif ve generatif gelişim ile doğru orantılı olarak denemeye tabi tutulan ovaryum sayısı giderek artmıştır. Ancak bitkinin yaşlanma evresinde alınabilen ovaryum sayısı çeşide göre değişiklik göstermiş, Meriç çeşidinden son iki denemede, Sedir çeşidinden son denemede ovaryum alınamamıştır.

4.1.1.1. Donör bitki yaşının embriyo oluşumu üzerine etkisi

Mart ayının son haftasında ilk defa kültüre alınan bitkilerin ilk deneme tarihi donör bitkinin ilk yaşı olarak kabul edilmiştir. Tüm çeşitlerde maksimum embriyo oluşum

oranı bu bir hafta yaşındaki donör bitkiden alınan ovaryumlardan elde edilmiştir. En yüksek oranda embriyo Sedir çeşidinden (%1240,00) elde edilirken, Meriç çeşidinden ise %533,33 oranında embriyo elde edilmiştir. En düşük %225,00 oranında embriyo oluşumu Ufuk çeşidinde gözlenmiştir. Tüm çeşitlerden kültüre alınan toplam ovaryum sayısına göre elde edilen embriyo oranı ise %656,52 (46 adet ovaryum, 302 adet embriyo) olarak bulunmuştur (Şekil 4.1).



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo oluşum oranı

Şekil 4.1. 2019 Bahar sezonu donör bitki yaşına göre embriyo oluşum oranları (%)

İki hafta yaşındaki bitkilerden kültüre alınan ovaryumlardan gelişen embriyo sayısı ve embriyo oluşum oranlarında düşüşler yaşanırken, en yüksek embriyo yine ilk haftadaki gibi Sedir çeşidinde oluşmuştur. Ancak bir önceki haftaya göre bu çeşidin embriyo oluşumunda yarı yarıya bir azalma olduğu (%615,00) tespit edilmiştir. En az embriyo oluşumu ise 20 adet ovaryumdan 14 adet embriyo ile Ufuk çeşidinde görülmüştür. Bu denemede tüm çeşitlerden embriyo elde edilmiş olup, Meriç çeşidinin embriyo oluşum oranının %357,14 olduğu belirlenmiştir. Bu çeşit bir önceki haftaya göre diğer çeşitlere oranla embriyo veriminde çok yüksek bir düşüş yaşamamıştır. Tüm çeşitlerden toplamda 61 adet ovaryum kültüre alınmış olup, 212 adet embriyo elde edilmiştir (%347,54).

Nisan ayının ikinci haftasını kapsayan dönemde üç hafta yaşında olan donör bitkilerin embriyo oluşum oranları Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinde sırasıyla %118,52, %0, %481,40 olarak saptanmıştır. Ufuk çeşidinde ise bir önceki denemenin aksine daha fazla oranda embriyo oluşumu gözlenmiştir. Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo oluşum oranı ise bir önceki haftaya göre %347,54'ten, %221,30'a düşmüştür.

Dört hafta yaşına ulaşan donör bitkilerden alınan ovaryumların embriyo oluşum başarısı değerlendirildiğinde, çeşitlere göre embriyo oluşum oranlarındaki sıralama değişmemiştir. Meriç çeşidi geçirdiği iki haftalık süreçte embriyo oluşumu açısından oldukça düşük bir oranda tepki vermiştir. Ancak bir önceki haftanın aksine bu haftada embriyo uyartımı gerçekleşmiştir. Meriç çeşidinden kültüre alınan 55 adet ovaryumdan 32 adet (%58,18) embriyo elde edilmiştir. Sedir çeşidi ise diğer çeşitlere göre daha yüksek oranda embriyo oluşturmuş, fakat bir önceki haftaya göre az bir oranda düşüş (%415,56) yaşamıştır. Ufuk çeşidinde ise sıcaklıklarda çok farklılık olmamasına rağmen, bir önceki

denemeye göre embriyo oluşum yüzdesinde artış (%167,65) gözlenmiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen toplam embriyo oluşum yüzdesi bir önceki haftaya göre çok değişiklik göstermemiş olup, %205,97 olarak belirlenmiştir.

26.04.2019 tarihinde beş hafta yaşında olan donör bitkilerin embriyo oluşum başarı oranlarında çeşitler arasında büyük farklılıklar tespit edilmiştir. Beşinci deneme sonucunda ise Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinde sırasıyla %4,76, %257,50, %678,57 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Meriç çeşidinde bir önceki denemeye göre embriyo oluşum oranında yaklaşık olarak 5 kat bir artış olmuştur. Ancak Ufuk çeşidinde çok ciddi bir düşüş yaşanmıştır. Bir önceki denemeye göre tüm çeşitlerden ortalama embriyo oluşum oranı %205,97'den %377,67'ye yükselmiştir. Bu oranın yükselmesine etkili olan neden, Sedir çeşidinin tüm denemeler boyunca ulaşmış olduğu en yüksek ikinci oranın bu haftada elde edilmiş olmasıdır.

Altı hafta yaşında olan donör bitkilerin en yüksek embriyo oluşum başarı oranı Sedir çeşidinde (%156,36) iken; en düşük oran ise Ufuk çeşidinde (%6,06) kaydedilmiştir. Ufuk çeşidinin iki haftadır durgun bir dönem yaşadığı görülmektedir. Meriç çeşidinde ise bu haftada bir önceki denemeye göre embriyo oluşum oranında yaklaşık olarak 6,5 kat azalma (%39,39) görülmüştür. Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo oluşum oranında ise bir önceki denemeye göre ciddi bir oranda azalma saptanmıştır. Bu oran %83,47 olarak hesaplanmıştır.

10.05.2019 tarihinde yedi hafta yaşında olan Sedir çeşidinin embriyo oluşum oranında ciddi bir artış (%506,25) gözlenmiştir. Bunun yanı sıra Meriç ve Ufuk çeşitleri de bir önceki denemeye göre az bir oranda da olsa yükselme eğilimi göstermişlerdir. Ayrıca Sedir çeşidinde tüm haftalara kıyasla hem kendi içerisinde hem de diğer çeşitler içerisinde en fazla elde edilen embriyo sayısı bu haftada saptanmış olup, toplamda 324 adettir. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyo oranı ise özellikle Sedir çeşidindeki yükselmeden kaynaklı olarak %245,70 olarak kayıt altına alınmıştır.

Sekiz hafta yaşında olan Ufuk çeşidinde %26,67, Meriç çeşidinde %2,56 ve Sedir çeşidinde ise %223,91 oranında embriyo oluşmuştur. Meriç çeşidinde bir önceki haftaya göre düşüş gözlenmiş olup, kültüre alınan 39 ovaryumdan sadece 1 adet embriyo elde edilmiştir. Ufuk çeşidinde ise bu hafta da sadece 15 ovaryum alınabilmiş ve bu ovaryumlardan sadece 4 adet embriyo gelişmiştir (Çizelge 4.1). Tüm çeşitler açısından değerlendirildiğinde %108,00 oranında embriyo (108 adet) elde edilmiştir.

24.5.2019 tarihli denemede kullanılan hıyar ovaryumlarından, Sedir çeşidine ait embriyo oluşum yüzdesi %654,55 olarak tespit edilmiş olup, tüm denemelerde elde edilmiş en iyi üçüncü sonuç olarak belirlenmiştir. Bu haftada diğer çeşitlere göre en fazla embriyo oluşumunun Sedir çeşidinde olduğu açıkça görülmektedir (Çizelge 4.1). Bu çeşitten dokuzuncu haftada kültüre alınan ovaryum sayısı 44 adet olup, elde edilen embriyo sayısı ise 288 adettir. Meriç çeşidinde ise bir önceki haftaya göre embriyo oluşum yüzdesinde artış gözlenmiş olup, bu oran %32,50 olarak tespit edilmiştir. Bunların aksine Ufuk çeşidinde hiç embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir. Tüm çeşitlerin embriyo oluşum yüzdesi %242,74 olarak belirlenmiştir (301 adet embriyo).

On hafta yaşına gelen donör bitkilerden Ufuk çeşidinde 38 adet ovaryum kültüre alınmış olup, elde edilen embriyo sayısı 27 adet olarak belirlenmiştir. Meriç çeşidinde

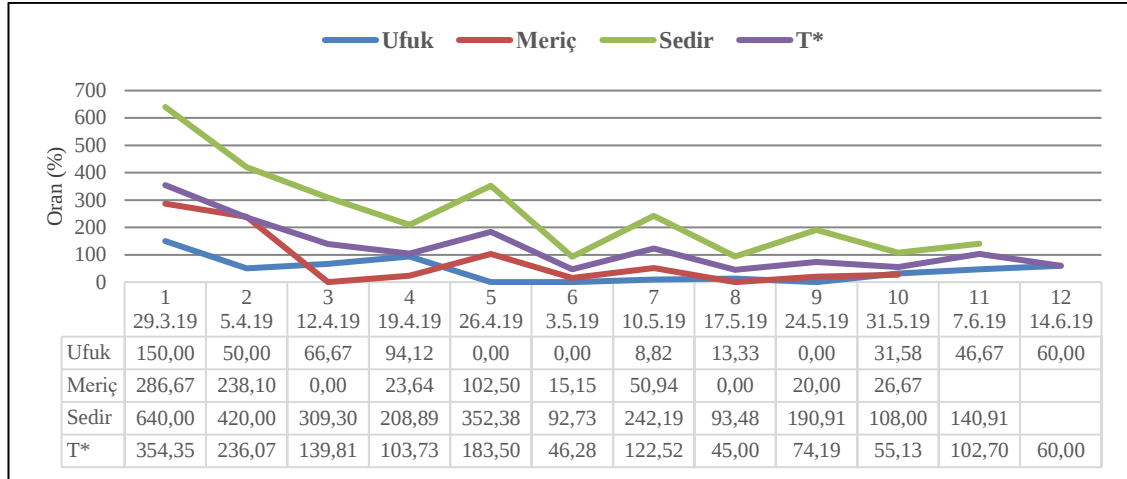
%26,67 (15 ovaryumdan, 4 adet embriyo) oranında embriyo oluşumu gerçekleşirken, Sedir çeşidinde ise bir önceki hafta kurulan denemeye göre ciddi bir oranda düşüş gözlenmiştir. Bu çeşitte embriyo oluşum oranı, bir önceki denemeye göre, yaklaşık olarak 4 kat düşmüştür. Tüm çeşitlerden toplamda 78 adet ovaryum kültüre alınmış olup, bu ovaryumlardan %93,59 oranında embriyo elde edilmiştir.

On birinci hafta yaşına haziran ayının ilk haftasında ulaşan Meriç çeşidinde bir önceki hafta yaşanan yüksek sıcaklıkların olumsuz etkisi ile çiçek dökümleri gerçekleşmiş olup, bu denemede hiç ovaryum kültüre alınamamıştır. Ufuk ve Sedir çeşitlerinde de bitkide bulunan ovaryum sayılarında düşüş görülmüştür. Ufuk çeşidinde bundan önceki iki denemede embriyo elde edilememesine rağmen bu denemede 15 adet ovaryumdan 17 adet embriyo elde edilmiştir (%113,33). Sedir çeşidinden ise %177,27 oranında embriyo oluşumu görülmüştür. Bu iki çeşidin toplam embriyo oluşturma yüzdeleri toplam kullanılan ovaryum sayılarına göre %151,35 olarak bulunmuştur. On iki hafta yaşına kadar sera koşullarında bulunan çeşitlerden Meriç çeşidinde bir önceki haftada olduğu gibi yine donör bitki üzerinde ovaryum bulunamamıştır. Bir önceki hafta görülen çiçek dökümleri hala devam etmiştir. Bunun yanı sıra Sedir çeşidinde de bitki yaşına ve sıcaklığa bağlı olarak çiçek dökümleri gerçekleşmiş olup, bu denemede ovaryum kültüre alınamamıştır. Ufuk çeşidinde ise 10 adet ovaryum kültüre alınabilmiştir. Bu çeşitte 10 adet ovaryumdan 11 adet embriyo elde edilebilmiştir (%110,00).

Tüm çeşitlerden ilk hafta embriyo indüksiyon oranı %656,52'dir. İkinci hafta ise bu oran %347,54'e düşmüştür. Üçüncü ve dördüncü haftalarda kademeli düşüşler devam etmiş olup, beşinci haftada embriyo oluşum oranında tekrar yükseliş gerçekleşmiştir. Yedinci ve 9. haftalarda ortalama olarak yaklaşık oranlarda embriyo oluşumu gerçekleşirken, 6. ve 10. haftada en düşük embriyo oluşum oranı tespit edilmiştir. Buradan da anlaşılabileceği üzere bu sezonda bitki yaşının tüm çeşitlerin toplam embriyo oranları açısından değerlendirildiğinde etkili bir faktör olduğu görülmüştür. Meriç çeşidinde 3. haftada yaşanan embriyonun azalması, o hafta bitkide uygulanan sert budama uygulamasıdır diye düşünülmektedir. Bunun yanı sıra bu çeşidin özellikle 26 Nisan'dan itibaren düşük oranlarda embriyo oluşturmada fotoperiyottan da etkilenebileceği düşüncesini doğurmuştur.

4.1.1.2. Donör bitki yaşının bitki oluşumu üzerine etkisi

Embriyo eldesinin donör bitkinin yaşına kısmen de olsa bağlı bir faktör olduğu bu sezonki çalışmamızda açıkça görülmüştür. Kültüre alınan ovaryum sayısına göre elde edilen bitki sayısının embriyo oluşum oranlarındaki gibi donör bitki yaşı ile bağlantılı olabileceği düşünülmüş ve bu bölümde değerlendirmesi yapılmıştır. Buna göre çeşitler bazında en yüksek bitki oluşumu %640,00 oranla Sedir çeşidinde ilk denemede görülmüştür. Ufuk çeşidi ise en düşük bitki oranına (%150,00) sahip iken, Meriç çeşidinin bitki oluşturma yüzdesi %286,67 olarak saptanmıştır. Tüm çeşitlerin toplam kültüre alınan ovaryum sayısına göre ortalama bitki oluşturma yüzdesinin bu haftada %354,35 olduğu görülmüş olup, tüm haftalardaki en iyi bitki oluşturma yüzdesi bu haftada gerçekleşmiştir.



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen bitki oluşum oranı

Şekil 4.2. 2019 Bahar sezonu donör bitki yaşına göre bitki oluşum oranları (%)

İki hafta yaşında olan donör bitkilerden alınan ovaryumlardan gelişen bitki oluşum oranlarına bakıldığında yine ilk haftada olduğu gibi en yüksek bitki gelişimi Sedir çeşidinde (%420,00) olup, tüm çeşitlerden bitki elde edilmiştir. Birinci haftaya göre, ikinci haftadaki bitki oluşum oranlarında Ufuk ve Sedir çeşitlerinde ciddi bir oranda düşüş görülmüş olup, Meriç çeşidinde çok fazla bir azalma yaşanmamıştır. Bu haftada toplam kültüre alınan ovaryum sayısına göre ortalama bitki oluşum oranı bir önceki ortalama değere göre düşerek, %236,07 olarak belirlenmiştir. Üçüncü haftada ise; Meriç çeşidinden hiç embriyo oluşmamış olup, dolayısı ile bitki elde edilememiştir. Ufuk çeşidinde bitki eldesi oranında artış gözükürken, toplamda 27 adet ovaryumdan 18 adet bitki elde edilmiştir (%66,67) (Şekil 4.2). Sedir çeşidi ise bir önceki haftaya göre elde edilen bitki oranlarına göre değerlendirildiğinde %309,30'a düşmüştür. Bu haftada da toplam bitki eldesi oranı bir önceki haftaya göre azalma göstermiş olup, %139,81'e düşmüştür.

Dört hafta yaşında olan donör bitkilerden alınan ovaryumlardan gelişme gösteren bitki oranları Ufuk ve Meriç çeşitlerinde artmış (%94,23, %23,64), Sedir çeşidinde düşmüştür (%208,89). En yüksek bitki dönüşüm oranı yine geçmiş tüm haftalarda olduğu gibi Sedir çeşidinde gerçekleşmiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen bitki oranı incelendiğinde bu oran %103,73 olarak belirlenmiştir. Bir sonraki hafta Meriç çeşidinde bitki eldesi oranı yaklaşık olarak 4 kat artarak %102,50'ye yükselmiştir. Ufuk çeşidinde ise beşinci haftada oldukça düşük oranda embriyo gelişmiştir. Ancak bu embriyolar bitkiye dönüşmemiştir. Sedir çeşidinde de bir önceki hafta %208,89 oranında bitki elde edilirken, bitki yaşının ilerlemesine rağmen bu haftada %352,38 oranında bitki elde edilmiştir. Ortalama olarak tüm çeşitlerden elde edilen bitki oranı %183,50 olarak bulunmuştur.

Tüm çeşitlerde bitki oluşumu 03.05.2019 tarihli denemede düşüş göstermiş olup, Ufuk çeşidinde yine bir önceki haftada olduğu gibi hiç bitki oluşumu gerçekleşmemiştir. Meriç çeşidinde ise bitki eldesi oranı yaklaşık olarak 7 kat düşmüştür (%15,15). Sedir çeşidinde de kültüre alındığı tüm denemelerdeki en düşük bitki eldesi oranı bu hafta da tespit edilmiştir (%92,23). Tüm çeşitlerde oluşan ortalama bitki sayısı bir önceki

denemeye göre ciddi oranda düşmüş ve ortalama olarak %46,28 oranında belirlenmiştir. Yedi hafta yaşında olan donör bitkilerden kültüre alınan ovaryumlardan Ufuk ve Meriç çeşitlerinde az bir oranda bitki eldesi oranında artış olduğu saptanmıştır (%8,82, %50,94). Ancak Sedir çeşidi %92,73'ten %242,19'a yükselerek denenen çeşitler arasında yine en yüksek oranda bitki oluşturmuştur. Tüm çeşitlerden elde edilen bitki oranına bakıldığında %122,52'ye yükseldiği görülmektedir.

Sekizinci denemede kullanılan ovaryumlardan Meriç çeşidinde hiç bitki oluşumu gerçekleşmez iken, Ufuk çeşidinde kültüre alınan 15 adet ovaryumdan sadece 2 adet bitki elde edilmiştir (%13,33). Sedir çeşidinde 46 adet ovaryumdan 43 adet bitki elde edilmiş olup, bitki oluşum oranında bir önceki haftaya göre bir düşüş görülmüştür (%93,48). Tüm çeşitlerde toplam kültüre alınan ovaryum sayısına göre ortalama bitki oluşturma yüzdesi %45,00 olarak tespit edilmiştir. Bir sonraki hafta olan dokuzuncu denemede kullanılan Ufuk donör bitkilerinden 40 adet ovaryum kültüre alınmasına rağmen bitki oluşumu gerçekleşmemiştir. Meriç çeşidinde de az bir oranda bitki oluşumu görülürken (%20,00), Sedir çeşidinde ise %190,91 oranında bitki elde edilebilmiştir. Toplamda 124 ovaryum kültüre alınmış, 92 adet bitki elde edilmiştir (%74,19).

Mayıs ayının son haftasında Meriç çeşidinden son defa ovaryum kültüre alınmış, haziran ayında bitki üzerinde uygun dişi çiçek bulunamamıştır. Donör bitkide yüksek sıcaklıklara verilen bir tepki olarak çiçek dökümleri gözlenmiştir. Onuncu haftada son defa kültüre alınan bu çeşitten 15 adet ovaryumdan 4 adet bitki oluşumu gerçekleşmiştir (%26,67). Ufuk çeşidinden 38 adet ovaryum kültüre alınmış ve hiç bitki oluşumu gözlenmemiştir. Sedir'de ise bitki oluşumu oranı %108,00 olarak bulunmuştur. Tüm çeşitlerden toplamda 78 adet ovaryum kültüre alınmış olup, elde edilen bitki sayısı 38 olarak tespit edilmiştir (%39,74).

07.06.2019 tarihinde kurulan denemede Ufuk çeşidinde %46,67 oranında bitki oluşumu gerçekleşirken, Sedir çeşidinde %140,91 oranında bitki elde edilmiştir. 14.06.2019 tarihinden sonra ise Sedir çeşidinde uygun ovaryum bulunamamış olup, Ufuk çeşidinden %60,00 oranında bitki oluşmuştur.

2019 yılı bahar döneminde kurulan denemelerde donör bitki yaşının bitki eldesine etki oranı incelendiğinde, en fazla bitki oluşumu bir hafta yaşında olan bitkilerden %354,35 oranında gerçekleşmiştir. Tüm çeşitlerden toplam elde edilen bitki oranlarına bakıldığında 2., 3. ve 4. haftalarda azalma olduğu saptanmış, ancak 5. haftada tekrar bir yükselme görülmüştür. 6. haftada toplam kültüre alınan ovaryumlardan %46,28 oranında bitki elde edilerek, ani bir düşüş görülmüştür. Bu haftada Ufuk çeşidinden hiç bitki elde edilemez iken, Meriç ve Sedir çeşitlerinden de ciddi bir oranda bitki eldesinde azalma tespit edilmiştir. Mayıs ayının ikinci haftasında bitki eldesi %122,52 oranına tekrar yükselmiş, bundan sonraki denemelerde tüm çeşitlerin kültüre alınabildiği haftaya kadar %100'ün altına düştüğü görülmüştür. Haziran ayının ilk iki haftasında kültüre alınabilen Ufuk çeşidinde tekrar bitki eldesi oranında artış gözlenmiştir. Ancak bu artışın bitki yaşına bağlı bir artış olduğu tek başına düşünülmemelidir. Bu çeşitte en uygun ovaryumun kültüre alınma aralığı bu dönemde donör bitkide ovaryumlarının görülmeye başlamasından itibaren ilk dört haftadır. Meriç çeşidinde ise bu süre 2 hafta olarak belirlenmiştir. Kokteyl tip olan Sedir çeşidinin bitki oluşum oranı diğer çeşitlere göre yüksek bulunmuş olup, ilk iki haftada oldukça yüksek oranda elde edilebileceği tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra bu sezona göre bitki yaşının artması ile genel anlamda bitki

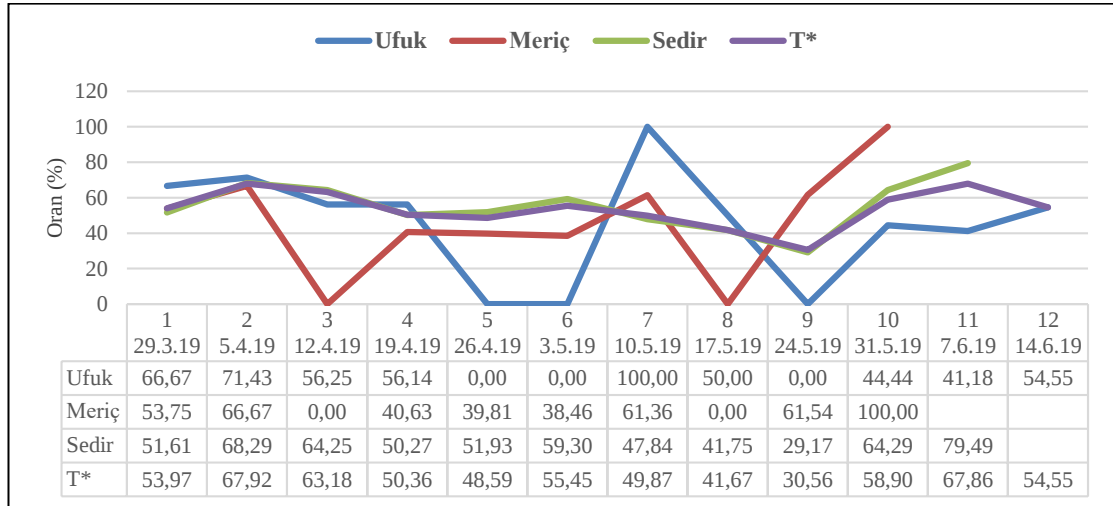
eldesinin düşeceği, ancak donör bitkinin sera koşullarında yetişebildiği süre içerisinde ovaryumların kültüre alınabileceği söylenebilir. Çünkü son dönemlerde özellikle Ufuk çeşidinden orta dönemlere göre daha yüksek oranda embriyo ve bitki oluşmuştur.

Bu sezonki çalışmaya göre, bitki yaşının gynogenesis ile bitki eldesinde belirleyici bir faktör olduğu, bitki yaşının artması ile bitki eldesinde azalma olduğu çalışmamızda açıkça görülmüştür. Ancak farklı çeşitlerde ovaryumun donör bitkiden toplanabilme sürelerinde farklılıklar olabileceği sonucuna varılmıştır.

4.1.1.3. Donör bitki yaşının elde edilen embriyoya göre bitkiye dönüşüm oranları üzerine etkisi

Bitkiye dönüşme yeteneğinde olabilen embriyoların bitki oluşum oranlarına bakıldığında çalışmamızda dikkat çekici sonuçlara ulaşılmıştır. Embriyo sayısı ve embriyo oluşum oranı en az olan çeşitte en yüksek bitkiye dönüşüm oranı gerçekleşirken; en yüksek embriyo sayısı ve indüksiyon oranına sahip çeşidin de en düşük oranda embriyonun bitki oluşumu gerçekleşmiştir. Bu, embriyonun bitkiye dönüşümünde donör bitki yaşı ile bağlantılı olup olmadığı da üzerinde durulması gereken bir konudur.

Haftalık olarak değerlendirme yapıldığında ilk hafta kurulan denemelerde en çok embriyo ve bitki Sedir çeşidinde elde edilmesine rağmen, embriyodan bitkiye dönüşüm oranı en fazla Ufuk çeşidinde gözlenmiştir (%66,67) (Şekil 4.3). Aynı zamanda Sedir çeşidi tüm çeşitler arasında en düşük oranda embriyodan bitkiye rejenerasyon göstermiştir (%51,61). Meriç çeşidinin elde edilen embriyo sayısına göre bitki eldesi oranı yaklaşık olarak tüm çeşitlerde toplamda görülen rejenerasyon oranı ile benzerlik göstermiş olup, bu oran %53,75'tir.



T*: Tüm çeşitlerden toplam elde edilen embriyo sayısına göre bitkiye dönüşüm oranı

Şekil 4.3. 2019 Bahar sezonu donör bitki yaşına göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)

İki hafta yaşında olan donör bitkilerin ovaryumlarından gelişen embriyolardan bitkiye dönüşüm oranı bir önceki haftaya göre oldukça artmış ve tüm çeşitlerde toplamda

en yüksek embriyodan bitki dönüşüm oranı tespit edilmiştir. Bu sonuca göre sırasıyla Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinden; %71,43, %66,67, %68,29 oranında embriyodan rejenerasyon gerçekleşmiştir. İlk hafta embriyo rejenerasyon oranı en düşük olan Sedir çeşidi bu hafta ikinci olmuştur. Tüm çeşitlerden toplamda %67,92 oranında embriyo rejenerasyonu gerçekleşmiştir (Şekil 4.3).

İlk iki haftanın aksine üçüncü haftada en yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm oranı Sedir çeşidinde %64,25 oranında görülmüştür. Meriç çeşidinde ise embriyodan bitkiye dönüşüm oranı ise hiç gerçekleşmemiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen bitki dönüşüm oranı ise %63,18'dir. Ufuk çeşidinde embriyodan gelişen bitki oranında bir önceki haftaya göre kayda değer bir değişim yaşanmaz iken; Meriç çeşidinde ise bu oran %40,63'e yükselmiştir. Bunun aksine Sedir çeşidinde ise düşüş yaşanmıştır (%50,27). Elde edilen embriyoların hepsi göz önüne alındığında embriyo dönüşüm oranı %50,36 olarak belirlenmiştir.

Beşinci haftada ilk iki haftada en yüksek embriyodan bitki oluşumu olan Ufuk çeşidinde 1 adet embriyo oluşmuş ve bu da bitkiye dönüşmemiştir. Bu haftadan sonra Ufuk çeşidinden elde edilen embriyo sayılarında düşüşler yaşanmıştır. Sedir çeşidinde ise 285 adet embriyodan 148 adedi bitkiye dönüşerek en yüksek rejenerasyon oranı (%51,93) saptanmıştır. Meriç çeşidinde, bu çeşidin diğer haftalardaki başarısına göre en yüksek sayıda (103 adet) embriyo elde edilmiş olup, bu embriyoların %39,81'i bitkiye dönüşmüştür. Tüm çeşitlerden elde edilen toplam embriyo sayısına göre bitkiye dönüşüm oranı %48,59'dur. Mayıs ayının ilk haftasına denk gelen ve 6 hafta yaşında olan donör bitkilerin tamamından embriyo rejenerasyon başarı oranı %55,45 olarak bulunmuştur. Ufuk çeşidinde embriyo eldesi yine bir önceki haftada olduğu gibi oldukça düşüktür (2 adet). Yine bu haftada bitki oluşumu tespit edilememiştir. Meriç çeşidinde ise embriyodan bitkiye dönüşüm oranı %38,46 olarak belirlenmiştir.

Yedi hafta yaşında olan donör bitkilerden en yüksek embriyo sayısı ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranı bu haftada Meriç çeşidindedir (%61,36). En yüksek rejenerasyon oranı ilk haftada olduğu gibi Ufuk çeşidinde (%100) olmasına rağmen, embriyo sayısı ve elde edilen bitki sayısı oldukça düşüktür (3 adet embriyodan, 3 adet bitki gelişimi). En yüksek embriyo Sedir çeşidindedir (324 adet). Ancak tüm çeşitlere göre en düşük embriyodan bitkiye dönüşüm oranına (%47,84) sahiptir. Sedir çeşidinde rejenerasyon oranı düşük olmasına rağmen diğer haftalara göre en yüksek bitki sayısına ulaşılmıştır (155 adet). Tüm çeşitlerden elde edilen embriyo sayılarına göre ise bu oran %49,87'dir. Sekizinci haftada ise; embriyodan bitkiye dönüşüm oranları ise Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinde sırasıyla; %50, %0, %41,75'tir. Ufuk çeşidinde 4 adet embriyo gelişmesine rağmen, bu embriyoların yarısı bitkiye dönüşerek diğer çeşitler arasında en yüksek dönüşüme sahip olmuştur. Meriç çeşidinde 1 adet embriyo oluşmuş, fakat bitki oluşumu gerçekleşmemiştir. Sedir çeşidi en yüksek embriyo sayısına (103 adet) sahip olmasına rağmen ikinci en yüksek bitkiye dönüşüm oranı bulunmuştur.

Dokuzuncu haftada Ufuk çeşidinden hiç embriyo elde edilemezken, Meriç'ten de sadece 8 adet embriyo eldesi gerçekleşmiştir. Ancak bu embriyoların %61,54'ü bitkiye dönüşerek, diğer çeşitler arasında en yüksek dönüşüm oranına sahip olmuştur. Sedir çeşidinde ise bu oran %29,17'dir. Deneme sonucu diğer haftadaki denemelerle kıyaslandığında embriyo eldesi oldukça yüksek olmasına rağmen, embriyodan bitkiye dönüşüm oranının ise tüm denemelerdeki en düşük oran (%30,56) olduğu belirlenmiştir.

Onuncu haftada Meriç çeşidi son defa kültüre alınmış, 4 adet embriyo elde edilmiş ve bu 4 adet embriyonun hepsi de bitkiye dönüşmüştür (%100). Ufuk çeşidinde yine embriyo elde edilemezken, Sedir çeşidinde %64,29 oranında embriyodan bitkiye rejenerasyon gerçekleşmiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyo sayılarına göre dönüşüm oranı %58,90'dır.

Mayıs ayının ikinci yarısından itibaren embriyo elde edilemeyen Ufuk çeşidinde haziranın ilk haftası olan on birinci haftada 17 adet embriyo eldesi gerçekleşmiştir. Embriyodan bitkiye dönüşüm oranı %41,18 olarak belirlenmiştir. Meriç çeşidinden ovaryum kültüre alınamamıştır. Sedir çeşidinde ise, 39 adet embriyodan 31 adet bitki eldesi ile kendi içinde bu zamana kadar embriyodan rejenerasyon oranları arasındaki en yüksek değere (%79,49) ulaşılmıştır. Ufuk ve Sedir çeşitlerinden toplamda %67,86 oranında embriyo eldesi gerçekleşmiştir. Son hafta Meriç ve Sedir çeşitlerinden ovaryum kültüre alınamamış olup, değerlendirmeye tabi tutulmamıştır. Ufuk çeşidinden ise 11 adet embriyo elde edilmiş, bunların %54,55'i bitkiye dönüşmüştür.

Çalışmada bu sezonda kullanılan donör bitkilerin embriyodan bitkiye dönüşüm oranı ile bitki yaşı arasında net bir ilişki bulunamamıştır. Çeşitlerin farklı zamanlarda farklı oranlarda embriyodan bitkiye oluşumu gerçekleştirdiği görülmüştür. Örneğin, ilk iki hafta en yüksek oranda embriyodan bitki eldesi gözlemlenen Ufuk çeşidinde bitki yaşı ilerledikçe sabit bir artma veya azalma gözlemlenmemiştir. Bazı haftalarda embriyo eldesi gerçekleşmez iken; bazı dönemlerde embriyo sayısı az olmasına rağmen rejenerasyon oranı %100'e ulaşmıştır.

Meriç ve Sedir çeşitlerinde de donör bitkinin yaşının artmasının embriyodan bitkiye dönüşmede etkili olmadığı net bir şekilde görülmüştür. Meriç çeşidi en yüksek bitkiye dönüşümü son kültüre alındığı hafta olan 10. haftada gösterirken, 3. haftada embriyo elde edilememiştir. En yüksek embriyo sayısı bu çeşitte 5. haftada görülmesine rağmen embriyo rejenerasyon oranı %39,81'de kalmıştır. İlk hafta embriyo dönüşümü %53,75 iken, bir sonraki hafta bu oran %66,67'ye çıkmıştır. Dördüncü haftada bu oran %40,63'e düşmüştür. Sedir çeşidi ise; en yüksek embriyo rejenerasyon oranını son kültüre alındığı hafta (11.hafta) ve 2. haftada göstermiştir. Buradan da anlaşıldığı gibi bitki yaşının rejenerasyon oranına doğrudan bir etkisi görülmemektedir.

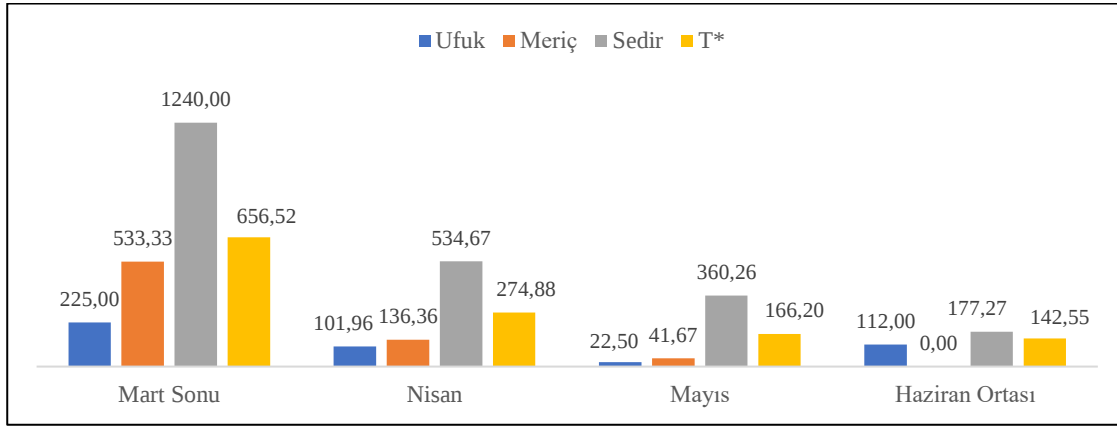
4.1.2. Donör bitkinin yetiştirilme aylarının ovaryum kültürü üzerine etkisi

Kültüre aldığımız hıyar ovaryumlarının mevsimsel başarı oranlarını değerlendirebilmek adına aylık embriyo oluşum bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları bu başlık altında değerlendirilmiştir. 2019 bahar sezonu denemeleri yaklaşık olarak dört ay sürmüş olup, çeşitler bazında başarı oranları Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da verilmiştir. Mart ayında bir haftalık değerlendirme yapılmış olup, haziran ayında iki haftalık değerlendirme yapılabilmektedir. Ayrıca Meriç çeşidinde son ayda kültüre alınacak ovaryum bulunamadığı için haziran denemelerinin sonuçlarında hesaplanmamış ve değerlendirilmemiştir.

4.1.2.1. Aylara göre embriyo oluşum oranları

Kültüre alınan ovaryum sayısına göre tüm çeşitlerde ortalama en yüksek embriyo oluşumu bu sezonda %656,52 oran ile mart ayında gerçekleşmiştir. Ayrıca mart ayında

en yüksek oranda embriyo %1240,00 ile Sedir çeşidinde gerçekleşirken, %533,33 oran ile Meriç ikinci, %225,00 oran ile Ufuk üçüncü yanıt alınan çeşit olmuştur (Şekil 4.4).



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo oluşum oranı

Şekil 4.4. 2019 Bahar sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyo oluşum oranları (%)

Nisan ayında kurulan denemelerde %534,67 ile Sedir en yüksek oranda embriyo oluşturmıştır. Bir önceki ayda olduğu gibi embriyo oluşum oran sıralaması değişmemiş Meriç (%136,36) ikinci ve Ufuk (%101,96) üçüncü olmuştur. Tüm çeşitlerden bu ayda elde edilen embriyo oluşum başarı oranı %274,88 olarak hesaplanmıştır. Bir önceki aya göre bu oranda yaklaşık olarak 2 kat bir düşüş yaşanmıştır.

Mayıs ayı verilerine göre tüm çeşitlerden elde edilen başarı yüzdesi %166,20'dir. Geçen iki ayda en iyi bulunan Sedir çeşidi ilk aya göre yaklaşık olarak 3,5 kat azalma yaşamıştır. Oransal açıdan bakıldığında bu çeşitte %360,26 embriyo oluşumuna rastlanmıştır. Meriç çeşidinde bu ayda embriyo oluşum oranı %41,67 iken, Ufuk çeşidinde %22,50'dir. Bu çeşitlerde de nisan ayına göre ciddi bir düşüş görülmüştür.

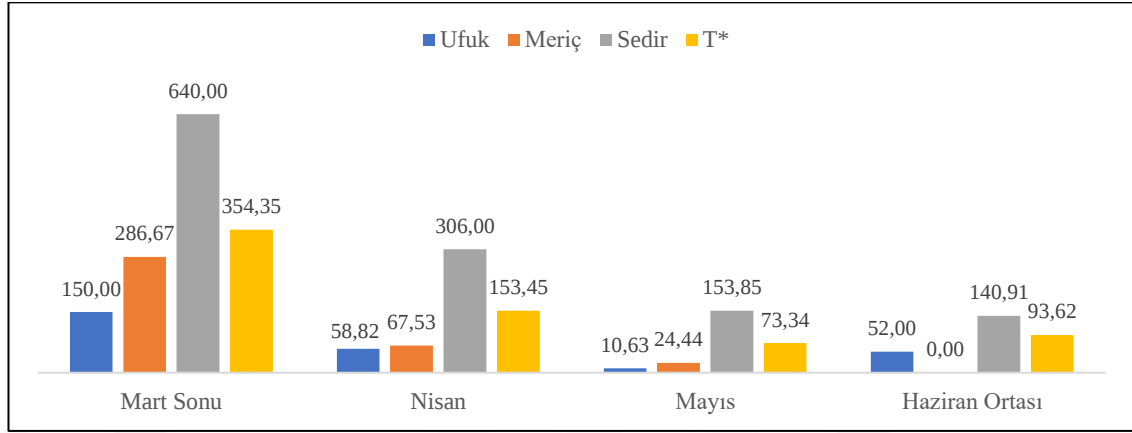
Haziran ayında ise tüm aylarda olduğu gibi en yüksek oranı veren çeşit %177,27 ile Sedir olurken, Ufuk çeşidinin mayıs ayına kıyasla embriyo oluşumu ciddi bir oranda (%112,00) artmış ve ikinci frekansı yüksek çeşit olmuştur. Bu ayda Meriç çeşidinden ovaryum kültüre alınamamış olup, hesaplamalara dâhil edilmemiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen ortalama indüksiyon oranı %142,55'tir.

Bu sezonda embriyo oluşum açısından en yüksek yanıt alınan ay tüm çeşitlerde mart ayı olarak belirlenmiştir. Ancak Ufuk çeşidinde haziran ayında en yüksek ikinci embriyo elde edilmiştir. Genel anlamda çeşitlerin kültüre alınma zamanlarına göre farklı tepkiler verebileceği düşünülmektedir. Meriç çeşidinin embriyo verimine donör bitkinin yetiştirildiği fotoperiyot koşullarının da etkili olabileceği düşünülmektedir.

4.1.2.2. Aylara göre bitki oluşum oranları

2019 Bahar sezonunda kültüre alınan ovaryumların bitki eldesi oranları aylık olarak bu başlık altında değerlendirilmiştir. Mart ayının sonunda başlanan denemelerde, kültüre alınan toplam ovaryum sayısına göre bitki eldesi oranı %354,35 olarak

hesaplanmıştır. Bu ayda en yüksek oran veren çeşit %640,00 ile Sedir çeşidi olmuştur. Embriyo oluşumunda olduğu gibi en iyi yanıt alınan ikinci çeşit %286,67 ile Meriç olurken, Ufuk çeşidinde ise bu oran %150,00'dır (Şekil 4.5).



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen bitki oluşum oranı

Şekil 4.5. 2019 Bahar sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre bitki oluşum oranları (%)

Nisan ayında kurulan toplamda dört haftalık denemelere göre %306,00 Sedir çeşidi birinci, %67,53 ile Meriç ikinci ve %58,82 ile Ufuk üçüncü bitki başarı oranını yakalamıştır. Tüm çeşitlerden elde edilen başarı oranı ise %153,45'tir.

Mayıs ayı verilerine göre tüm çeşitlerden toplamda kültüre alınan ovaryum sayısına göre %73,34 oranında bitki elde edilirken, Ufuk çeşidinden %10,63 ve Meriç çeşidinden %24,44 oranında bitki elde edilmiştir. Sedir çeşidinde ise bu oran %153,85 olarak hesaplanmıştır. Mayıs ayında da nisan ayında olduğu gibi bitki eldesi açısından en iyi yanıt alınan çeşit Sedir olmuştur.

Haziran ayında Meriç çeşidinde kültüre almaya uygun ovaryum bulunamamıştır. Sedir ve Ufuk çeşitlerinin başarı oranları ise sırasıyla %140,91, %52,00 olarak tespit edilmiştir. Kültüre alınan toplam ovaryum sayısına göre elde edilen bitki oranı ise bu ayda %93,62 olarak bulunmuştur.

Tüm çeşitler açısından değerlendirildiğinde bitki eldesi oranı açısından en yüksek orana mart ayında ulaşılmıştır. Ufuk çeşidi için en az yanıt alınan ay mayıs olurken, bu çeşitte haziran ayında başarı oranı artmıştır. Meriç çeşidinin ise en az sonuç verdiği dönem mayıs olarak belirlenmiştir. Ufuk çeşidinin embriyo açısından ikinci en iyi olduğu hafta haziran ayı olmasına rağmen, bitki eldesi açısından bu hafta üçüncü olmuştur.

4.1.2.3. Aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları

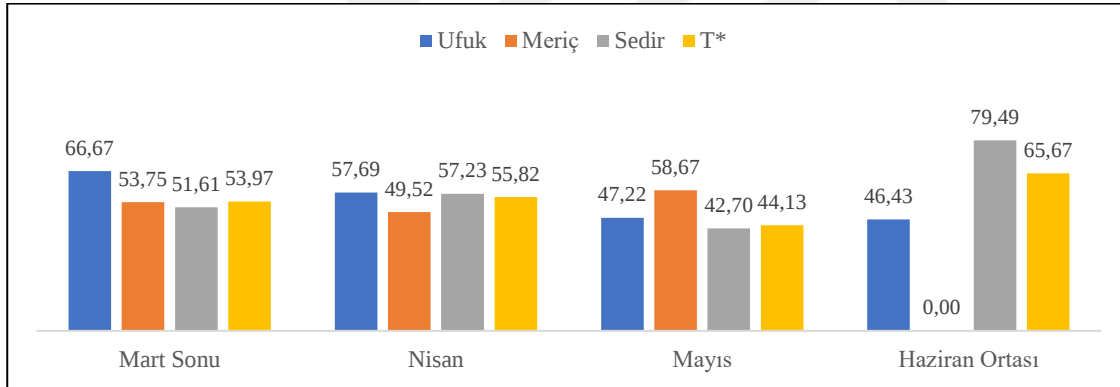
2019 Bahar sezonu aylık elde edilen embriyo sayısına göre bitkiye dönüşüm oranları hesaplanmış ve bu başlık altında verilmiştir. Mart ayında kurulan denemeye göre en yüksek embriyo rejenerasyonu %66,67 ile Ufuk çeşidinde olurken, Meriç'de %53,75 ve Sedir'de %51,61 oranında embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir. Bu ayda tüm

çeşitlerden elde edilen embriyodan bitkiye dönüşüm oranı %53,97 olarak bulunmuştur (Şekil 4.6).

Nisan ayında ise Ufuk ve Sedir çeşitleri yakın oranlarda embriyo rejenerasyonu gerçekleştirmiştir. Ufuk çeşidi %57,69 oranı ile bu ayda da bir önceki ayda olduğu gibi birinci olmuştur. Sedir çeşidinin oranı ise %57,23 olarak hesaplanmıştır. Meriç çeşidi ise %49,52 oranı ile üçüncü sıraya yerleşmiştir. Tüm çeşitlerden toplam elde edilen embriyo sayısına göre bitkiye dönüşüm oranı %55,82'dir.

2019 yılı bahar sezonu mayıs ayı verilerine göre en iyi embriyo rejenerasyonu gerçekleştiren çeşit %58,67 oran ile Meriç olmuştur. Ufuk çeşidinde bir önceki aya göre düşüş yaşanmış olup, embriyo rejenerasyon oranı %47,22 olarak hesaplanmıştır. Sedir çeşidi ise %42,70 oranında embriyodan bitkiye dönüşüm göstererek üçüncü olmuştur. Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo rejenerasyon oranı %44,13 olarak bulunmuştur.

Haziran ayı verileri iki çeşit açısından değerlendirilme yapılabilmüş ve en yüksek oran %79,49 ile Sedir çeşidinde olmuştur. Ufuk çeşidinde ise bu oran bir önceki aya göre az bir oranda düşüş yaşamış, %46,43 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca haziran ayında %65,67 oran ile tüm aylara göre tüm çeşitlerde en yüksek ortalama embriyodan bitkiye dönüşüm oranına ulaşıldığı görülmüştür.



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo sayısına göre bitkiye dönüşüm oranı

Şekil 4.6. 2019 Bahar sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)

Donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranı genel olarak değerlendirildiğinde çeşitlere göre farklı sonuçlar alındığı görülmüştür. Ufuk çeşidi için en yüksek yanıt alınan ay mart bulunurken, Meriç çeşidi için bu ay mayıs ayı olmuştur. Sedir çeşidinde ise embriyo rejenerasyonu açısından en yüksek oran haziran ayında elde edilmiştir. Ufuk çeşidinde en az yanıt alınan ay haziran ayı olurken, Meriç çeşidinde bu ay nisan ayı olmuştur. Sedir çeşidinde mart ayında en düşük oranda embriyo rejenerasyonu gerçekleşmiştir. Elde edilen embriyo sayısına göre ortalama bitki oluşum oranı en yüksek (%65,67) haziran ayında gerçekleşirken, en düşük (%44,13) mayıs ayında gerçekleşmiştir. Embriyodan bitkiye dönüşüm oranlarına genel olarak bakıldığında aylara göre net bir bağımlılık görülemez.

4.1.3. Donör bitki genotipinin hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi

Haploid embriyo ve bitki elde etme üzerine yapılan çalışmalarda, başarının yüksek oranda çeşide bağlı olduğu belirtilmektedir. Aynı tür içerisinde farklı protokollerin de farklı çeşitlerde etkin olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmektedir.

Bu sezon yürütülen çalışmada da embriyo oluşum ve bitki eldesi oranları açısından en yüksek tepki veren çeşit kokteyl tip olan Sedir çeşidi bulunmuştur (Çizelge 4.2). Kurulan tüm denemelerde en yüksek embriyo oluşturma yüzdesine sahip bu çeşidin, ortalama embriyo oluşturma yüzdesi %444,18'dir. Embriyo başarı yüzdesi kendinden sonra gelen Meriç ile ortalama oran açısından %339,6 oranında fark vardır. Kültüre alınan ovaryum sayısına göre en yüksek bitki eldesi oranı ise %224,70'tir. Ancak elde edilen embriyo sayısına göre en düşük embriyo rejenerasyonu %50,59 oranı ile bu çeşitte gerçekleşmiştir.

Dikenli tip olan Meriç çeşidinden ise; %104,58 oranında embriyo elde edilmiş olup, uygulanan protokole göre bu çeşidin ikinci olduğu görülmüştür. Kültüre alınan ovaryum sayısına göre bitki eldesi oranı ise %54,73'tür. Elde edilen 365 adet embriyonun %52,33'ü rejenerasyona uğramıştır.

Çizelge 4.2. Donör bitkinin çeşidine göre embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranı (%)

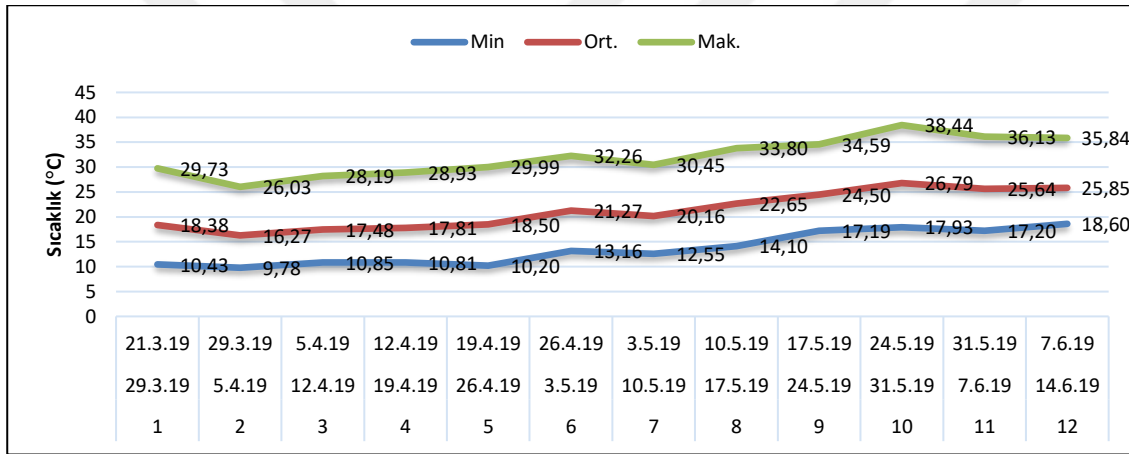
Çeşitler	Kültüre Alınan Ovaryum Sayısı (Adet)	Embriyo Sayısı (Adet)	Embriyo Oluşum Oranı (%)	Bitki Sayısı (Adet)	Bitki Oluşum Oranı (%)	Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Oranı (%)
<i>Ufuk</i>	303	204	67,33	114	37,62	55,88
<i>Meriç</i>	349	365	104,58	191	54,73	52,33
<i>Sedir</i>	421	1870	444,18	946	224,70	50,59
<i>Toplam</i>	1073	2439	227,31	1251	116,59	51,29

2019 Bahar sezonu embriyo oluşum ve bitki oluşum oranları açısından en az yanıt veren çeşit Beith Alpha tip olan Ufuk çeşidi olmuştur. Bu çeşitte toplamda %67,33 (204 adet) embriyo oluşum oranı gerçekleşirken, %37,62 (114 adet) bitki eldesi oranı gerçekleşmiştir. Ancak embriyodan bitkiye dönüşüm oranı (%55,88) açısından en yüksek oranı verenin bu çeşit olması ise bu sezonda ilginç bir sonuç doğurmuştur. Embriyo oluşumu ve rejenerasyonu için uygulanan tekniklerin bile çeşitlere göre farklı neticeler doğuracağı görülmüştür. Çeşit seçiminin haploid embriyo ve bitki eldesi çalışmalarında önemli olduğu, uygun protokolün çeşide göre belirlenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Bu sezon yürütülen çalışmada da haploid embriyo ve bitki oluşumunda en etkili faktörlerden birinin çeşit olduğu sonucuna varılmıştır.

4.1.4. Donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların sera içi sıcaklığının hıyarda gynogenesis üzerine etkisi

Çalışmamızda eksplant olarak kullanılacak olan hıyar ovaryumlarının bitki üzerindeki bir haftalık gelişimleri süresince maruz kaldıkları sıcaklık değişimleri incelenmiştir. Bitkiler sera koşullarına 26.02.2019 tarihinde dikilmiştir. Denemelerde kullanılan ovaryumların gelişim sıcaklıkları bir haftalık kayıtlarının ortalaması alınarak minimum, ortalama ve maksimum olarak değerlendirilmiştir. Şekil 4.7’de ki sıcaklık değişim grafiğine göre embriyo oluşum bulgularında, bitki oluşum bulgularında ve elde edilen embriyo sayısına göre bitki dönüşüm oranlarındaki değişimler bu başlık altında incelenmiştir.

Donör bitkinin yetiştirildiği sera koşullarında 2019 Bahar dönemi boyunca farklı sıcaklık ölçümleri tespit edilmiştir. Yetiştirme dönemi boyunca en düşük sıcaklık 29.03.2019-05.04.2019 tarihleri arasında ortalama olarak 9,78 °C, en yüksek sıcaklık 24.05.2019-31.05.2019 tarihleri arasında ortalama olarak 38,44 °C tespit edilmiştir.



Şekil 4.7. 2019 Bahar sezonu donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların sera içi sıcaklığı grafiği (°C)

4.1.4.1. Sera içi sıcaklığın embriyo oluşum oranı üzerine etkisi

Çalışmamızda embriyo oluşumu açısından sıcaklığın etkisi incelendiğinde oluşum oranlarında farklılıklar görülmüştür (Şekil 4.1). İlk denemede kullanılan ovaryumlar (21.3.2019-29.3.2019) ortalama olarak 18,38 °C sıcaklıkta yetiştirilmiştir. Maksimum gözlemlenen sıcaklık değeri bu dönemde 29,73 °C, minimum sıcaklık değeri 10,43 °C olarak tespit edilmiştir. Tüm çeşitlerde maksimum embriyo oluşum oranı bu tarihler arasında gelişen ovaryumlardan elde edilmiştir. Diğer çeşitlere göre en yüksek oranda embriyo Sedir çeşidinden (%1240,00) elde edilirken, Meriç çeşidinden ise %533,33 oranında embriyo gelişmiştir. En düşük %225,00 oranında embriyo oluşumu Ufuk çeşidinde gözlenmiştir. Tüm çeşitlerden kültüre alınan toplam ovaryum sayısına göre elde edilen embriyo oranı ise %656,52 (46 adet ovaryum, 302 adet embriyo) olarak bulunmuştur.

İkinci denemede kullanılan ovaryumların bitki üzerindeki gelişme sıcaklığı ortalama olarak 16,27 °C olarak ölçülmüştür. Denemeler boyunca en düşük sıcaklık değerleri bu haftada tespit edilmiştir. Maksimum sıcaklık ortalaması bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 4 °C düşmüştür. Bununla birlikte kültüre alınan ovaryumlardan gelişen embriyo sayısı ve oranlarında düşüşler yaşanırken, en yüksek embriyo Sedir çeşidinde oluşmuş olup, bir önceki haftaya göre bu çeşidin embriyo oluşumunda yarı yarıya bir azalma olduğu (%615,00) tespit edilmiştir. En az embriyo oluşumu 20 adet ovaryumdan 14 adet embriyo gelişmesi ile Ufuk çeşidinde görülmüştür. Bu denemede tüm çeşitlerden embriyo elde edilmiş olup, ani sıcaklık değişiminden en az etkilenenin Meriç çeşidi (%357,14) olduğu belirlenmiştir. Tüm çeşitlerden toplamda 61 adet ovaryum kültüre alınmış olup, 212 adet embriyo elde edilmiştir (%347,54).

Nisan ayının ikinci haftasını kapsayan dönemde, bir önceki haftaya göre ortalama sıcaklık yaklaşık olarak 1 °C artış göstermiştir. Sıcaklık değerleri arasında ani sıcaklık değişimleri olmamasına rağmen Sedir çeşidinde embriyo oluşumunda düşüşler yaşanmış (%481,40) olup, bir önceki hafta ani sıcaklık değişiminden en az etkilenen Meriç çeşidinde ise hiç embriyo oluşmamıştır. Ufuk çeşidinde ise bir önceki denemenin aksine daha fazla oranda embriyo oluşumu (%118,52) gözlenmiştir. Genel embriyo oluşum oranı ise bir önceki haftaya göre %347,54'ten, %221,30'a düşmüştür.

Üçüncü ve dördüncü denemede kullanılan ovaryumların alındığı donör bitkilerin yetiştirme ortamlarında kaydedilen sıcaklıklar arasında çok bir farklılık görülmemiştir. Çeşitlere göre embriyo oluşum oranlarındaki sıralama da değişmemiştir. Meriç çeşidi bu iki haftalık süreçte embriyo oluşumu açısından düşük tepki veren çeşit olarak belirlenmiştir. Dördüncü haftada ise bu çeşitten %58,18 oranında embriyo elde edilmiştir. Sedir çeşidi ise diğer çeşitlere göre daha yüksek oranda embriyo oluşturmuş, fakat bir önceki döneme göre düşüş (%415,56) yaşamıştır. Ufuk çeşidinde ise sıcaklıklarda çok farklılık olmamasına rağmen, bir önceki denemeye göre embriyo oluşum yüzdesinde artış (%167,65) gözlenmiştir. Tüm çeşitler elde edilen toplam embriyo oluşum yüzdesi bir önceki haftaya göre çok değişiklik göstermemiş olup, %205,97 olarak belirlenmiştir.

Denemelerde kullanılan ovaryumların sera koşullarındaki ortalama sera içi sıcaklığı, 29.03.2019 tarihli ve 26.04.2019 tarihli denemelerde benzerlik göstermiştir. Mart ayının üçüncü haftasında kaydedilen bir haftalık ortalaması alınmış sıcaklık değerleri (Minimum, Ortalama ve Maksimum) sırasıyla; 10,20 °C, 18,50 °C, 29,99 °C'dir. Ancak, embriyo oluşum oranlarında çeşitler arasında büyük farklılıklar tespit edilmiştir. Birinci deneme sonuçlarına göre sırasıyla Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinde %225,00, %533,33, %1240,00 oranında embriyo oluşurken, beşinci deneme sonucunda ise sırasıyla %4,76, %257,50, %678,57 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Meriç çeşidinde bir önceki denemeye göre embriyo oluşum oranında yaklaşık olarak 5 kat bir artış olmuştur. Bundan önceki iki denemede embriyo oluşum oranında düşüş yaşayan Meriç çeşidindeki bu farklılık, embriyo oluşumu için en uygun minimum, ortalama ve maksimum sıcaklık isteğinin sırasıyla ve yaklaşık olarak 10 °C, 18 °C, 30 °C olduğunu göstermektedir. Bu sıcaklık değerlerinin altına düştüğünde ve üstüne çıktığında embriyo oluşumunun olumsuz etkilendiği Şekil 4.1 ve Şekil 4.7'de açıkça görülmektedir. Sedir çeşidinde de bu sıcaklık değerlerinde embriyo oluşumunda artış tespit edilmiştir. Bunun aksine Ufuk çeşidinde sıcaklığın yükselmesi olumsuz bir etki yaratmıştır. Bir önceki denemeye göre tüm çeşitlerden ortalama embriyo oluşum oranı %205,97'den %377,67'ye yükselmiştir.

26.04.2019 tarihinden itibaren sıcaklıklarda yaklaşık olarak bir önceki döneme göre 3 °C artış tespit edilmiştir. En yüksek embriyo oluşum oranı Sedir çeşidinde (%156,36) iken; en düşük embriyo oluşum oranı Ufuk çeşidinde (%6,6) gözlenmiştir. Meriç çeşidinde bir önceki denemeye göre embriyo oluşum oranında yaklaşık olarak 6,5 kat azalma (%39,39) görülmüştür. İstikrarsız bir tablo sergileyen bu çeşidin sıcaklığın yükselmesinden çok etkilendiği görülmektedir. Toplam embriyo oluşumunda ise bir önceki denemeye göre ciddi bir oranda azalma saptanmıştır. Bu oran %83,47 olarak hesaplanmıştır.

3.5.2019- 10.5.2019 tarihleri arasındaki ortalama sıcaklık değerleri bir önceki döneme göre yaklaşık 1-2 °C düşmüştür. Ancak Sedir çeşidinde embriyo oluşumunda ciddi bir artış (%506,25) gözlenmiştir. Meriç ve Ufuk çeşitleri de bir önceki denemeye göre az bir oranda da olsa yükselme eğilimindedir. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyo sayısı ise özellikle Sedir çeşidindeki yükselmeden kaynaklı olarak %245,70'e çıkmıştır. Bir sonraki denemede kullanılan ovaryumların sera içi sıcaklıklarında yedinci denemeye göre yaklaşık olarak 2 °C yükselme tespit edilmiştir. Sedir çeşidinde bu denemede embriyo oluşum oranı %223,91 iken; Ufuk çeşidinde bu oran %26,67'dir. Meriç çeşidinde ise düşüş gözlenmiş olup, embriyo oluşumu %2,56 oranında tespit edilmiştir. Tüm çeşitler açısından değerlendirildiğinde %108,00 oranında embriyo elde edilmiştir. Sıcaklığın yükselmesinin embriyo oluşumunda yine düşüşe neden olduğu tüm çeşitlerde açıkça görülmektedir.

Ortalama sıcaklık 24,50 °C sera koşullarında gelişme gösteren 24.5.2019 tarihli dönemde kullanılan hıyar ovaryumlarından, Sedir çeşidine ait embriyo oluşum yüzdesi %654,55 olarak tespit edilmiş olup, tüm denemelerde elde edilmiş en iyi üçüncü sonuç olarak belirlenmiştir. Bu haftada diğer çeşitlere göre en fazla embriyo oluşumunun Sedir çeşidinde olduğu açıkça görülmektedir (Şekil 4.1). Meriç çeşidinde ise bir önceki haftaya göre embriyo oluşum yüzdesinde artış gözlenmiş olup, bu oran %32,50 olarak tespit edilmiştir. Ufuk'da hiç embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir. Tüm çeşitlerin embriyo oluşum yüzdesi %242,74 olarak belirlenmiştir.

Onuncu denemenin maksimum (38,44 °C) ve ortalama (26,79 °C) ovaryum sera içi sıcaklığı tüm denemeler boyunca en yüksek değere ulaşmıştır. Sıcaklığın artması ile embriyo oluşum oranlarında düşüşler görülmüştür. Dokuzuncu denemede olduğu gibi Ufuk çeşidinden 40 adet ovaryum kültüre alınmış olup, bu hafta ikinci en yüksek embriyo eldesi bu çeşitte tespit edilmiştir (%71,05). Meriç çeşidinde %26,67 (40 adet ovaryumdan, 13 adet embriyo) oranında embriyo oluşumu gerçekleşirken, Sedir'de ise bir önceki hafta kurulan denemeye göre ciddi bir oranda düşüş gözlenmiş, ancak bu haftadaki diğer çeşitlere kıyasla en yüksek yanıt veren çeşit olmuştur. Sıcaklık açısından değerlendirildiğinde, Sedir çeşidi maksimum sıcaklık değerinde (38 °C), embriyo oluşum oranı, bir önceki denemeye göre, yaklaşık olarak 4 kat düşmüştür (%654,55, %168,00). Bu sezonki çalışmaya göre haftalar arasındaki sıcaklık farkının yüksek olmasının bu çeşidi ciddi oranda etkilediği kanısına varılmıştır. Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo oluşum oranına göre ikinci en düşük oranda embriyo oluşumu (%93,59) gerçekleşmiştir.

Haziranın ilk haftası sera içi sıcaklıkları minimum, ortalama ve maksimum 17,20 °C, 25,64 °C ve 36,13 °C olarak belirlenmiştir. Sıcaklıklar genel olarak bir önceki haftaya göre 1-2 °C düşmüştür. Meriç çeşidinde bir önceki hafta yaşanan yüksek sıcaklıkların

olumsuz etkisi, çiçek dökümüne sebep olmuştur. Dolayısıyla son iki denemede hiç ovaryum kültüre alınamamıştır. Ufuk ve Sedir çeşitlerinde de bitkide bulunan ovaryum sayılarında düşüş görülmüştür. Ufuk çeşidinde bundan önceki iki denemede embriyo elde edilememesine rağmen bu denemede 15 adet ovaryumdan 17 adet embriyo elde edilmiştir (%113,33). Sedir çeşidinden ise %177,27 oranında embriyo oluşumu görülmüştür. Bu iki çeşidin toplam embriyo oluşturma yüzdeleri toplam kullanılan ovaryum sayılarına göre %151,33 olarak bulunmuştur.

2019 Bahar dönemi son denemede kullanılan ovaryum sera içi sıcaklıkları bir önceki hafta ile çok bir farklılık göstermemiş olup, ortalama sıcaklık 25,85 °C olarak belirlenmiştir. Ancak bu hafta Meriç çeşidinde yine donör bitki üzerinde ovaryum bulunamadığı gibi, Sedir çeşidinde de ovaryum bulunamamıştır. Bitki yaşına ve sıcaklığa bağlı olarak çiçek dökümleri gerçekleşmiştir. Ufuk çeşidinde ise 10 adet ovaryum kültüre alınabilmiştir. Kültüre alınan ovaryumlardan 11 adet embriyo elde edilmiştir (%110,00).

Donör bitkinin yetiştirme ortamının sıcaklığı açısından embriyo oluşumu genel olarak bu sezonda değerlendirildiğinde, sıcaklığın etkisinin çeşit üzerine etkisi olduğu ancak embriyo oluşturmada tek başına bir etmen olmadığı görülmüştür. Farklı sıcaklık sonuçlarında aynı çeşitte farklı oranlar elde edildiği tespit edilmiştir. Meriç çeşidinin yüksek sıcaklığa gerek donör bitki üzerinde kültüre alınabilecek ovaryum sayısı bakımından, gerekse embriyo oluşumu bakımından çok net bir şekilde olumsuz tepki verdiği görülmüştür. Ufuk çeşidinde sıcaklığın düşmesi, embriyo oluşturma oranını genel olarak düşürdüğü, bunun aksine son üç denemede yaşanan sıcaklığın yükselmesi embriyo oluşturma oranının artırmış olabileceği düşünülmektedir. Ancak embriyo oluşumunu sadece sıcaklığa bağlamak da doğru olmaz. Sedir çeşidinde ise tüm sıcaklık değerlerinde embriyo oluşumu gerçekleşmiş olup, embriyo oluşum oranlarında ani sıcaklık değişimlerine bağlı olarak dalgalanmalar olmuştur.

Sedir çeşidinde birinci ve beşinci haftada saptanan tüm sıcaklık türevlerinde sıcaklık dereceleri yaklaşık olarak aynı derecede seyretmiştir. İlk haftada en yüksek embriyo eldesi oranı saptanan bu çeşitte, beşinci haftada da embriyo oranlarında olumlu yönde artış gözlenmesi, bu haftalarda yaşanan optimum, minimum ve maksimum sıcaklık derecelerinin (Şekil 4.7) olumlu etkilediği düşüncesini uyandırmıştır. Ancak dokuzuncu haftada, birinci ve beşinci haftalarda yaşanan sıcaklık derecelerinin üstünde sıcaklık değerleri kayıt altına alınmış, embriyo oluşum oranının Sedir çeşidinde tekrar yüksek bir seviyeye arttığı (%654,55) saptanmıştır. Bu sonuçlar genel anlamda değerlendirildiğinde, Sedir çeşidinde embriyo oluşumunu tetikleyen mekanizmanın sadece ovaryum sera içi sıcaklığı olduğunu iddia etmek yanlış olur. Bunun yanında tüm çeşitlerde maksimum sıcaklık değerlerinde yaşanan değişimlerin embriyo oluşumunu etkilediği görülmüş olup, artan ve azalan sıcaklık stresinin süresinin de donör bitkiden alınan ovaryumların embriyo oluşturma kabiliyeti üzerine etkisi olduğu saptanmıştır.

Ufuk çeşidinin embriyo oluşumu ve çiçek gelişimi açısından sıcak koşullara adapte olabileceği, Meriç çeşidinin ise yüksek sıcaklıklarda embriyo oluşturma kabiliyetinin düştüğü, Sedir çeşidinde de genel anlamda yüksek sıcaklık koşullarından olumsuz etkilendiği bu sezon yürütülen çalışmada saptanmıştır. Embriyo oluşumu için tüm çeşitler göz önünde bulundurularak en uygun minimum, ortalama ve maksimum sıcaklık derecesi sırasıyla ve yaklaşık olarak, 10 °C, 18 °C ve 30 °C olarak bulunmuştur. Sedir çeşidinin ovaryum sera içi sıcaklıklarına tepki verdiği, ancak tek başına bu konuya

bağlanmaması gerektiği. Ufuk çeşidinde ise embriyo oluşumunu belirleyici faktörün daha çok bitki yaşı gibi diğer faktörler olduğu, ancak yüksek sıcaklığın olumlu etki edebileceği düşünülmektedir. Bunların yanı sıra Meriç çeşidinde ise kısmen sıcaklığa bağlanabilir bir değişim göstermiş olup, sıcaklık dışında fotoperiyot gibi faktörlerinde bu çeşidi etkilediği savunulabilir.

4.1.4.2. Sera içi sıcaklığın bitki oluşum oranı üzerine etkisi

Kültüre aldığımız ovaryumların başlangıç ortamında embriyo teşviki sağlandıktan sonra, rejenerasyon ortamına aktarılmış ve bitki dönüşümleri gözlenmiştir. Ortalama olarak en erken bitki dönüşümleri ovaryumun kültüre alınmasından sonra bir buçuk ay gibi bir sürede gerçekleştiği görülmüştür. Tamamı direkt olarak ovüllerden gelişen embriyoların bazılarının embriyojenik kallusa dönüştüğü görülmüş olup, bitki dönüşüm oranlarını artırmıştır. Bazı embriyolarda ise ilerleyen aşamada hemen bitkiye dönüşme gözlenmemiştir. Embriyojenik kallustan oluşmuş yeni embriyolar alt kültüre alınarak bitki oluşum frekansları artırılmıştır.

En yüksek bitki oluşumu ortalama sıcaklık 18,38 °C değerinde %640,00 oranla Sedir çeşidinde birinci denemede görülmüştür (Şekil 4.2, Şekil 4.7). En düşük bitki oranı bu haftada Ufuk çeşidinde (%150,00) gerçekleşmiştir. Meriç çeşidinin ise bitki oluşturma yüzdesi %286,67 olarak belirlenmiştir. Tüm çeşitlerin toplam kültüre alınan ovaryum sayısına göre ortalama bitki oluşturma yüzdesinin bu haftada %354,35 olduğu tespit edilmiştir. Tüm haftalara bakıldığında en iyi bitki oluşumu bu haftada gerçekleşmiştir. Bir sonraki haftada kullanılan ovaryumların bir haftalık sera içi sıcaklıkları 21.03.2019 tarihinden 14.06.2019 tarihine kadar geçen süreçte en düşük sıcaklık değerleri (min. 9,78 °C, ort. 6,27 °C, mak. 26,03 °C) olarak kayıt altına alınmıştır. İkinci haftada en yüksek bitki gelişimi Sedir çeşidinde (%420,00) oluşmuş olup, tüm çeşitlerde embriyodan bitkiye rejenerasyon gerçekleşmiştir. Birinci haftaya göre, ikinci haftadaki bitki oluşum oranlarında Ufuk ve Sedir çeşitlerinde ciddi bir düşüş tespit edilmiş olup, bunun aksine Meriç çeşidinde çok fazla bir düşüş görülmemiştir. Bu haftada toplam kültüre alınan ovaryum sayısına göre ortalama bitki oluşum oranı bir önceki ortalama değere göre düşerek, %236,07 olarak belirlenmiştir.

Kültüre alınma tarihi 12.04.2019 olan ovaryumların sera koşullarındaki bir haftalık gelişim süreci incelendiğinde, sıcaklık açısından bir önceki haftaya göre ortalama sıcaklıkta yaklaşık 1 °C yükseliş olduğu görülmüştür. Ancak bu sıcaklık değerinde bir önceki hafta bitki eldesi oranı iyi olan Meriç çeşidinde bu haftada hiç embriyo oluşmadığı, dolayısı ile bitki oluşumu gerçekleşmediği görülmüştür. Ufuk çeşidinde bitki oluşum oranında artış saptanırken, toplamda 27 adet ovaryumdan 18 adet bitki elde edilmiştir (%66,67). Sedir çeşidi ise %309,30 oranıyla bir önceki haftaya göre bitki eldesi oranı açısından düşüş yaşamıştır. Bu haftada da tüm çeşitlerdeki bitki oluşum oranı bir önceki haftaya göre düşerek %139,81'e ulaşmıştır.

Dördüncü denemede (19.04.2019) kullanılan ovaryumların ortalama sera içi sıcaklığı 17,81 °C olduğu görülmüş ve bir önceki haftaki ortalama sıcaklığa göre pek bir değişim olmadığı tespit edilmiş olup, Ufuk ve Meriç çeşitlerinde bitki eldesi oranları artmış (%94,12, %23,64), Sedir çeşidinde düşmüştür (%208,89). En yüksek bitki eldesi oranı yine geçmiş tüm haftalarda olduğu gibi Sedir çeşidinde gerçekleşmiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen bitki oranı incelendiğinde bu oran %103,73 olarak belirlenmiştir.

26.04.2019 tarihli kültüre alınan ovaryumların sera içi sıcaklığı maksimum 29,99  C, ortalama 18,50  C, minimum sıcaklık 10,20  C'dir. Bir  nceki haftaya göre sıcaklık değerinde 1  C artış gözlenmiştir. Ufuk  eşidinde bu hafta hiç bitki oluşumu gerçekleşmemiştir. Meriç  eşidinde yaklaşık olarak 4 kat artan bitki oluşum oranı (%102,50) tespit edilmiştir. Sedir  eşidinde de bir önceki hafta %208,89 olan bitki eldesi oranı, bu haftada %352,38'e yükselmiştir. Ortalama olarak tüm çeşitlerden elde edilen bitki oranı %183,50 olarak bulunmuştur.

26.04.2019 tarihinden sonra tüm sıcaklık değerleri yaklaşık olarak 2-3  C gibi artmaktadır. Sıcaklık değerlerinin artmasından en olumsuz etkilenen çeşidin Ufuk olduğu gözlenmiştir. Bu çeşitte 03.05.2019 tarihinde kültüre alınan ovaryumlardan hiç bitki gelişmemiştir. Meriç  eşidi istikrarsız bir seyir göstererek, elde edilen bitki oranı bu haftada bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 7 kat düşmüş olup, %15,15'e gerilemiştir. Sedir  eşidinde de kültüre alındığı tüm denemelerdeki en düşük bitki oluşum oranı bu hafta da tespit edilmiştir (%92,23). Tüm çeşitlerde oluşan ortalama bitki sayısı bir önceki denemeye göre ciddi oranda düşmüş ve ortalama olarak %46,28 oranında belirlenmiştir.

Sera içi koşulları hava sıcaklığının 03.05.2019 tarihinden sonraki hafta bir önceki haftaya göre düşme eğiliminde olduğu tespit edilmiştir. Yedinci denemede ortalama sıcaklık değerinin 20,16  C olduğu g r lm ştir. Ufuk ve Meriç  eşitlerinde ise az bir oranda da olsa bitki eldesi oranında artış olduğu belirlenmiştir (%8,82'den %50,94'e). Ancak Sedir  eşidi bir önceki haftaya göre %92,73'ten %242,19'a yükselerek denenen çeşitler arasında yine en yüksek oranda bitki oluşturmuştur. Tüm çeşitlerden elde edilen bitki oranına bakıldığında %122,52'ye yükseldiği belirlenmiştir.

10.05.2019 tarihinden itibaren sera içi sıcaklık dereceleri kademeli olarak artış göstermiştir. Bu tarihten sonraki bir haftalık gelişimde ovaryumların sera içi sıcaklıkları ortalama olarak 22,65  C olarak tespit edilmiş olup, bir önceki haftaya göre yaklaşık 2  C artış göstermiştir. 17.05.2019 tarihinde kurulan denemelerde kullanılan ovaryumlardan Meriç  eşidinde hiç bitki oluşumu gözlenmemiştir. Ufuk  eşidinde kültüre alınan 15 adet ovaryumdan sadece 2 adet bitki elde edilmiştir (%13,33). Sedir  eşidinde 46 adet ovaryumdan 43 adet bitki elde edilmiş olup, bitki oluşum oranında bir önceki haftaya göre bir düşüş g r lm ştir (%93,48). Tüm çeşitlerde toplam kültüre alınan ovaryum sayısına göre ortalama bitki oluşturma yüzdesi %45,00 olarak tespit edilmiştir.

Dokuzuncu denemede kullanılan ovaryumların ortalama sera içi sıcaklığı yine bir önceki haftada olduğu gibi 2  C artmış ve 24,50  C olarak belirlenmiştir. Maksimum sıcaklık değeri ise 34,59  C'dir. Kurulan denemede Ufuk donör bitkilerinden 40 adet ovaryum kültüre alınmasına rağmen bitki oluşumu gerçekleşmemiştir. Meriç  eşidinde de sınırlı bir oranda bitki oluşumu g r lm ştir (%20,00). Sedir  eşidinde ise bu haftada %190,91 oranında bitki elde edilebilmiştir. Toplamda 124 ovaryum kültüre alınmış, 92 bitki elde edilmiştir (%74,19). En iyi bitki oluşumu yine Sedir  eşidinde gerçekleşmiştir.

31.05.2019 tarihinde denemeye alınan kültür çeşitlerinin ovaryum gelişim evresinde gördüğü ortalama olarak en yüksek sıcaklık derecesi yaşanmış olup (38,44  C), en fazla bitki oluşumu (%108,00) Sedir  eşidinde gerçekleşmiştir. Bir  nceki hafta hiç bitki oluşmayan Ufuk  eşidinde bu haftadan itibaren bir artış görülmüş ve oransal açıdan bakıldığında %31,58 oranında bitki oluşmuştur. Meriç  eşidinde ise 15 adet ovaryumdan 4 adet bitki eldesi gözlenmiş (%26,67) olup, bir önceki haftaya göre yükseldiği

görülmüştür. Bu haftada ortalama sıcaklık ise bu sezonda tespit edilen en yüksek sıcaklık derecesine ulaşarak, 26,79 °C olarak tespit edilmiştir. Tüm çeşitlerden toplamda 78 adet ovaryum kültüre alınmış olup, elde edilen bitki sayısı 43 adet olarak tespit edilmiştir (%55,13).

07.06.2019 ve 14.06.2019 tarihlerinde kültüre alınacak olan eksplantların gelişim sıcaklığı ortalama değeri yaklaşık olarak 25 °C bulunmuştur. On birinci denemede maksimum sıcaklık değeri bir önceki haftaya göre yaklaşık 2 °C düşmüştür. Son denemede ise bu sıcaklık değeri yine düşme eğilimine devam etmiş olup, 35,84 °C olarak ölçülmüştür. 07.06.2019 tarihinde kurulan denemede Ufuk çeşidinde %46,67 oranında bitki oluşumu gerçekleşirken, Sedir çeşidinde %140,91 oranında bitki elde edilmiştir. Meriç çeşidinden ise son iki denemede mevsim sıcaklıklarına bağlı çiçek dökümü gerçekleşmiş olup, hiç ovaryum kültüre alınamamıştır. 14.06.2019 tarihinden sonra ise Sedir çeşidinde uygun ovaryum bulunamamış olup, Ufuk çeşidinden %60,00 oranında bitki elde edilmiştir.

Tüm denemeler açısından 2019 yılı Bahar döneminde kurulan denemeler değerlendirildiğinde en fazla bitki oluşum oranı, ilk hafta kurulan denemede ortalama sıcaklık 18,38 °C, minimum sıcaklık 10,43 °C, maksimum sıcaklık 29,73 °C koşullarında gelişim gösteren ovaryumlarda %354,35 oranında gerçekleşmiştir. Yaklaşık olarak aynı sıcaklık koşullarının görüldüğü 5. hafta da ise aynı oranda bitki oluşumunun (%183,50) görülmediği tespit edilmiştir. Donör bitkiden alınan ovaryumların sera içindeki gelişim sıcaklığının, donör bitki yaşına göre bitki oluşumunu daha az belirleyici bir faktör olduğu bu sonuca göre söylenebilir. Ancak bu sıcaklık değerlerinde Meriç ve Sedir çeşitlerinde dördüncü haftaya göre artan bir bitki eldesi oranı artış göstermiştir. Bu iki çeşit için etkili bir sıcaklık aralığı olabilir. Düşük sıcaklık koşullarının çeşide göre etki oranının değiştiği, Ufuk çeşidinin sıcaklığın düşmesine en çok tepki veren çeşit olduğu bu sezonki yürütülen çalışmada görülmüştür. Bunun yanı sıra yüksek sıcaklıkların bu çeşitte bitki oluşumu üzerine olumlu bir etki yarattığı görülmektedir. Meriç çeşidinin de stres faktörlerine çok duyarlı olduğu görülmüş olup, istikrarsız seyreden bir bitki eldesi tespit edilmiştir. Özellikle bu sezonda son dönemde yaşanan yüksek sıcaklığın bu çeşitte çiçek dökümlerine sebep olduğu düşünülmektedir. Bunun yanı sıra bu sezonda Meriç çeşidinde bitki eldesi için donör bitkide bulunan ovaryumların bir haftalık maruz kaldığı sıcaklık değerlerinin en uygun yaklaşık olarak minimum 10 °C, ortalama 18 °C ve maksimum 29 °C olması gerektiği düşünülmektedir. Meriç çeşidinin mevsim ortalama sıcaklıklarının artışına bağlı olarak kültüre alınabilen ovaryum sayıları ve bitki oluşum oranları bakımından en olumsuz etkilenen çeşit olduğu söylenebilir.

Sedir çeşidinde ise tüm sıcaklık değerlerinde bitki oluşumu tespit edilmiştir. Bu çeşitte sıcaklığın artması ile bitki oluşum oranının düştüğü söylenebilir, ancak düşmesini beklediğimiz bazı dönemlerde artışın gözlenmesi ovaryum sera içi gelişme sıcaklığının tek başına bir etkileme kriteri olmadığını göstermektedir. Bu sezonda ovaryumunun gelişme maksimum sıcaklığı 30 °C'nin üstüne çıktığında bitki oluşum oranının genel olarak düştüğü tespit edilmiştir. Tüm çeşitlerdeki tüm haftalarda görülen dalgalanmalarda donör bitkinin yetiştiriciliği ile ilgili uygulanan kültürel işlem farklılıklarından veya sıcaklık dışı yaşanan diğer faktörlerden olabileceği düşünülmektedir.

4.1.4.3. Sera içi sıcaklığın embriyodan bitkiye dönüşüm oranı üzerine etkisi

Çalışmada kullanılan ovaryum sayılarına göre bitki oluşum oranları bir önceki başlıkta değerlendirilmiştir. Şekil 4.3'te ise elde edilen embriyolardan rejenere olmuş bitki oranları belirtilmiştir. Embriyodan bitkiye dönüşüm ile donör bitkinin ovaryumlarının bir haftalık süreçte maruz kaldıkları sıcaklık değerleri arasındaki ilişki oransal olarak bu başlık altında değerlendirilmiştir.

Araştırmamızdaki sonuçlara göre ilk hafta kurulan denemelerde en çok embriyo ve bitki Sedir çeşidinde elde edilmesine rağmen, embriyodan bitkiye dönüşüm oranı en fazla Ufuk çeşidinde gözlenmiştir (%66,67). Aynı zamanda Sedir çeşidi tüm çeşitler arasında en düşük oranda embriyodan bitkiye rejenerasyon göstermiştir (%51,61). Bu denemede kullanılan ovaryumların donör bitki üzerindeki ortalama gelişme sıcaklığı 18,38 °C olarak belirlenmiştir (Şekil 4.3, Şekil 4.7). Sıcaklığa göre tüm çeşitlerde embriyodan bitki eldesi oranı %53,97 olarak bulunmuştur. İkinci hafta kültüre alınan ovaryumların donör bitki üzerindeki ortalama gelişme sıcaklığı 16,27 °C olarak kayda alınmış olup, tüm denemelere göre en düşük sıcaklık seyrinin yaşandığı hafta olarak belirlenmiştir. Ancak elde edilen embriyolardan bitkiye dönüşüm oranı bir önceki haftaya göre oldukça artmış ve tüm çeşitlerde tüm haftalarda görülen en yüksek embriyodan bitki dönüşüm oranı tespit edilmiştir. Bu sonuca göre sırasıyla Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinden; %71,43, %66,67, %68,29 oranında embriyodan rejenerasyon gerçekleşmiştir. Bu sonuçlardan da anlaşıldığı gibi en yüksek elde edilen embriyolardan gelişen bitki oranı yine bir önceki haftada olduğu gibi Ufuk çeşidinden elde edilmiştir. Ancak Sedir çeşidinde, Meriç çeşidine göre bir önceki haftanın aksine daha yüksek oranda bitkicik elde edilmiştir. Tüm çeşitlerin embriyolarından elde edilen bitki oranı ise tüm denemelerde kayda alınan en yüksek orandır (%67,92).

12.04.2019 tarihinde kurulan denemede, bir önceki haftaya göre ortalama sıcaklığın yaklaşık 1 °C artış gösterdiği bir ortamda gelişen ovaryumlar kullanılmıştır. İlk iki haftanın aksine bu haftada en yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm oranı Sedir çeşidinde %64,25 oranında görülmüştür. Meriç çeşidinde ise embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyodan bitkiye dönüşüm oranı %63,18 olarak hesaplanmıştır. Dördüncü hafta denemelerinde de ortalama olarak tüm sıcaklık değerleri benzer bir şekilde seyretmiştir. Ufuk çeşidinde embriyodan gelişen bitki oranında bir önceki haftaya göre kayda değer bir değişim yaşanmaz iken; Meriç çeşidinde ise bu oran %40,63'e yükselmiştir. Bunun aksine Sedir çeşidinde ise düşüş tespit edilmiştir (%50,27). Elde edilen embriyoların hepsi göz önüne alındığında bitki oluşumu %50,36 olarak belirlenmiştir.

Beşinci hafta denemede kullanılan ovaryumların bitki üzerindeki minimum, ortalama ve maksimum sera içi sıcaklık dereceleri sırasıyla; 10,20 °C, 18,50 °C, 29,99 °C olarak kaydedilmiştir. Maksimum sıcaklık derecelerinin bu hafta içerisinde 30 °C'leri bulduğu günler olmuştur. İlk haftada en yüksek embriyo rejenerasyon oranını veren Ufuk çeşidinde 1 adet embriyo oluşmuş ve bu da bitkiye dönüşmemiştir. Bu haftadan sonra Ufuk çeşidinden elde edilen embriyo sayılarında düşüşler yaşanmıştır. Sedir çeşidinde ise 285 adet embriyodan 148 adedi bitkiye dönüşmüştür (%51,93). Meriç çeşidinde bu oran %39,81 olarak bulunmuştur. Bunun yanı sıra, Meriç çeşidinde bu haftada diğer haftalardaki oranlarına göre en yüksek sayıda (103 adet) embriyo elde edildiği

görülmektedir. Tüm çeşitlerden elde edilen toplam embriyo sayısına göre bitkiye dönüşüm oranı %48,59'dur.

Altıncı haftadan itibaren sıcaklıkların artışı yaklaşık olarak tüm sıcaklık ölçüm değerlerinde 2-3 °C olarak belirlenmiştir. Önceki haftalarda sıcaklık artışı 1 °C şeklinde gözlemlenirken, Mayıs ayının başında bu değer biraz daha artmıştır. Ufuk çeşidinde embriyo eldesi yine bir önceki haftada olduğu gibi oldukça düşüktür (2 adet). Yine bu haftada bitki oluşumu tespit edilememiştir. Meriç çeşidinde ise embriyodan bitkiye dönüşüm oranı %38,46 olarak belirlenmiştir. En yüksek embriyo sayısı ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranı yine bu haftada Sedir çeşidindedir (%59,30). Toplam embriyo sayısına göre bitki eldesi oranına bakıldığında bu oranın %55,45 olduğu saptanmıştır. Yedinci haftada kullanılan eksplantların donör bitki üzerindeki sera içi sıcaklıkları bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 1-2 °C düşmüştür. En yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm oranı ilk haftada olduğu gibi Ufuk çeşidinde görülmüştür. Ancak elde edilen embriyo sayısı oldukça düşüktür (3 adet embriyodan, 3 adet bitki gelişimi). En yüksek embriyo sayısı Sedir çeşidindedir (324 adet). Ancak tüm çeşitlere göre bu çeşit en düşük embriyodan bitkiye dönüşüm oranına (%47,84) sahiptir. Sedir çeşidinde dönüşüm oranı düşük olmasına rağmen diğer haftalara göre en yüksek bitki sayısına ulaşılmıştır (155 adet). Meriç çeşidinde ise elde edilen embriyolardan bitkiye dönüşüm oranı ise %61,36 olarak belirlenmiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyo sayılarına göre ise bu oran %49,87'dir.

17.05.2019 tarihinde kurulan denemede dikkate alınan sıcaklıklarda bir önceki düşüşün aksine 2-3 °C artış gözlenmiştir. Embriyo ve bitki oluşma oranlarında ise düşüşler saptanmıştır. Embriyodan bitkiye dönüşüm oranları ise Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinde sırasıyla; %50,00, %0,00, %41,75'tir. Ufuk çeşidinde sadece 4 adet embriyo olmasına rağmen, bu embriyoların yarısı bitkiye dönüşerek diğer çeşitler arasında en yüksek dönüşümüne sahip çeşit olmuştur. Meriç çeşidinde 1 adet embriyo oluşmuş, fakat bitki oluşumu gerçekleşmemiştir.

Bir haftalık ortalama gelişme sıcaklığı 24,50 °C olan donör bitkilerden alınan ovaryumlar 24.05.2019 tarihinde kültüre alınmış olup, tüm çeşitlerden toplamda 301 adet embriyo elde edilmiştir. Ufuk çeşidinden hiç embriyo elde edilemez iken, Meriçten de sadece 8 adet embriyo eldesi gerçekleşmiştir. Ancak bu embriyoların %61,54'ü bitkiye dönüşerek, diğer çeşitler arasında bu çeşit en yüksek dönüşüm oranına sahip olmuştur. Sedir çeşidinde ise bu oran %29,17'dir. Deneme sonucu diğer haftadaki denemelerle kıyaslandığında embriyo eldesi oldukça yüksek olmasına rağmen, embriyodan bitkiye dönüşüm oranının tüm denemelerdeki en düşük oran (%30,56) olduğu belirlenmiştir. Bir sonraki hafta olan 31.05.2019 tarihli denemede maksimum ortalama sıcaklık değeri tüm denemelerdeki en yüksek sıcaklık değerine ulaşılmıştır. Ortalama sıcaklıkların genel olarak yükselmesi, bitkinin fizyolojik aktivitesini olumsuz etkilemeye başlamış ve bitkilerden alınan eksplant sayılarında düşüşler yaşanmıştır. Bu durumdan en olumsuz etkilenen Meriç ve Sedir çeşitleridir. Meriç çeşidi özellikle bu hafta son defa kültüre alınmış, 4 adet embriyo elde edilmiş ve bu embriyoların hepsi de bitkiye dönüşmüştür (%100,00). Ufuk çeşidinde embriyodan bitkiye dönüşüm %44,44 iken, Sedir çeşidinde %64,29 oranında embriyodan bitkiye rejenerasyon gerçekleşmiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyo sayılarına göre bitkiye dönüşüm oranı %58,90'dır.

Haziranın ilk haftasında yaşanan sıcaklık değerlerinin mayıs ayının son haftasındaki değerlerden daha düşük olduğu Şekil 4.7’de görülmektedir. Özellikle gündüz sıcaklıklarında yaklaşık 2 °C’lik düşüş yaşanmasına rağmen, bitkinin yaşının artmasına da bağlı olarak, donör bitkilerden alınan ovaryum sayısında bir artış gözlenmemiştir. Deneme sonucuna göre Ufuk çeşidinde bu denemede 17 adet embriyo eldesi gerçekleşmiştir. Embriyodan bitkiye dönüşüm oranı %41,18 olarak belirlenmiştir. Meriç çeşidinden ovaryum kültüre alınamamıştır. Sedir çeşidinde ise, 39 adet embriyodan 31 adet bitki eldesi ile kendi içinde bu zamana kadar embriyodan bitkiye dönüşüm oranları arasındaki en yüksek değere (%79,49) ulaşılmıştır. Son kurulan denemede kullanılan ovaryumların donör bitki üzerindeki ortalama sera içi sıcaklığı 25,85 °C olarak belirlenmiştir. Bu denemede sadece Ufuk çeşidi kültüre alınabilmiş olup, bu çeşitten 11 adet embriyo eldesi gerçekleşmiştir. Bu embriyolardan 6 adedi bitkiye dönüşerek embriyodan bitkiye dönüşüm oranı %54,55 olarak hesaplanmıştır.

Çeşitlerin tamamından elde edilen embriyodan bitkiye dönüşüm oranları göz önüne alındığında ilk baştaki rejenerasyon oranlarının bitki yaşına da bağlı olarak yüksek olduğu, ancak bu oranların belirli bir eğimde bitkinin fizyolojik aktivitesiyle de bağlantılı olarak azaldığı görülmektedir (Şekil 4.3). Ancak 10. haftada yaşanan maksimum sıcaklık stresi tüm çeşitlerden embriyodan bitkiye dönüşüm oranını artırmıştır. Haziran ayında ise sıcaklık stresinin sürekliliği ile de ilişkili olarak bazı çeşitlerde bitki ölümü gerçekleşmemesine rağmen çiçek dökümleri gerçekleşmiş ve eksplant kültüre alınamamıştır. Bu olayın aksine 03.05.2019 tarihinde kayıt altına alınan sonuçlara göre, bitkinin maruz kaldığı sıcaklıklardaki ani artış da (ortalama sıcaklık için; 18,50 °C-21,27 °C) bize donör bitkinin yaşadığı stresin, embriyodan bitkiye dönüşümü çok fazla değiştirmediklerini (Bkz. 5. ve 6. hafta) göstermektedir. Bir diğer sıcaklık stresine bağlı dikkat çekici nokta ise, 05.04.2019 tarihinde eksplant olarak değerlendirilen ovaryumların sera içi sıcaklığındaki ani düşüş, yine embriyodan bitkiye toplam rejenerasyon oranını %53,97’den %67,92’ye yükseltmiştir.

Bu sezon tüm denemelerdeki embriyodan bitkiye dönüşüm oranlarının donör bitki üzerindeki kültüre alınacak ovaryumun sera içi sıcaklığı ile ilişkilendirilmesinin tek başına yeterli olmadığı söylenebilir.

4.2. 2019 Yılı Güz Sezonu Hıyarda Ovaryum Kültürü Yöntemi ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Bulgular

4.2.1. Donör bitki yaşının hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi

2019 Güz sezonu hıyar donör bitkileri 31.08.2019 tarihinde seralara dikilmiştir ve denemelere 27.09.2019 tarihinde başlanmıştır. Ufuk hibrit çeşidinden 408 adet, Meriç hibrit çeşidinden 435 adet, Sedir hibrit çeşidinden 394 adet olmak üzere toplamda 1273 adet ovaryum denemeye tabi tutulmuştur. 2019 Güz sezonunda kullanılan bitkilerin haftalık olarak kültüre alınan ovaryum sayısı, embriyo sayısı ve bitki sayıları Çizelge 4.3’te verilmiş olup, embriyo oluşum oranları (Şekil 4.8), bitki oluşum oranları (Şekil 4.9) ve elde edilen embriyo sayısına göre bitki dönüşüm oranları (Şekil 4.10) alt başlıklarda incelenmiştir.

Çizelge 4.3. 2019 Güz sezonu haftalık kültüre alınan ovaryum sayıları, gelişen embriyo ve bitki sayıları

Hafta Tarih		1 27.09	2 04.10	3 11.10	4 18.10	5 25.10	6 01.11	7 08.11	8 15.11	9 22.11	10 28.11
Çeşitler											
Ufuk	O.S.	30	58	48	39	50	45	40	36	40	22
	E.S.	12	26	8	2	11	17	0	1	0	77
	B.S.	1	5	2	0	0	1	0	0	0	4
Meriç	O.S.	30	54	48	41	52	45	40	50	45	30
	E.S.	2	2	0	11	0	14	20	3	21	0
	B.S.	0	0	0	3	0	0	7	0	8	0
Sedir	O.S.	30	63	48	39	51	45	40	35	28	15
	E.S.	56	5	110	83	3	8	5	83	46	0
	B.S.	14	0	32	33	0	0	2	19	18	0
Toplam	O.S.	90	175	144	119	153	135	120	121	113	67
	E.S.	70	33	118	96	14	39	25	87	67	77
	B.S.	15	5	34	36	0	1	9	19	26	4

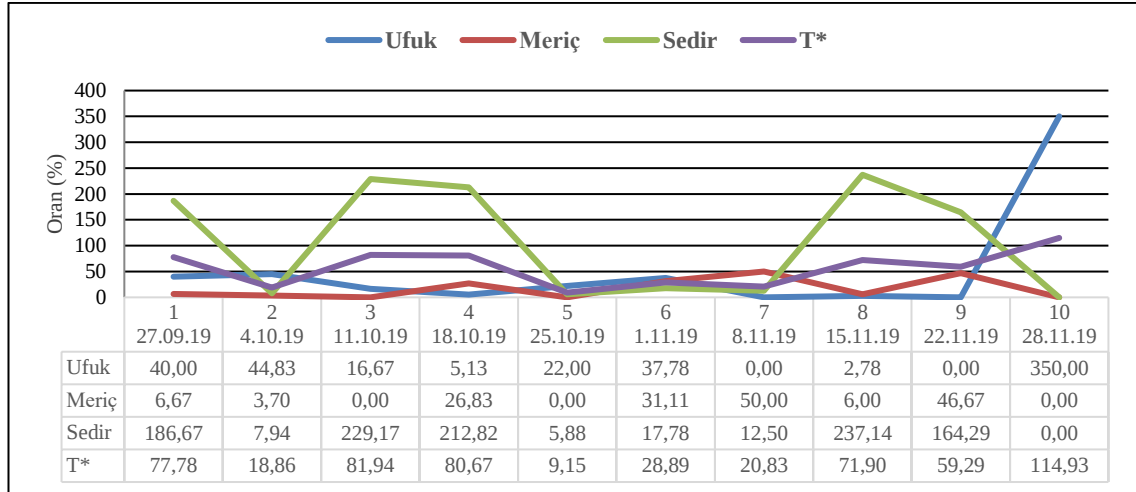
Not: O.S.; Ovaryum Sayısı (Adet), E.S.; Embriyo Sayısı (Adet), B.S.; Bitki Sayısı (Adet)

4.2.1.1. Donör bitki yaşının embriyo oluşumu üzerine etkisi

Kültüre alınan ovaryumlardan gelişen embriyolar genel olarak direkt embriyogenesis şeklinde indüksiyona uğramıştır. Bazı ovaryumlardan direkt olarak gelişen embriyolar daha sonra embriyojenik kallusa dönüşmüş ve ovaryum başına düşen embriyo sayısında artışa neden olmuştur. Embriyo gelişim oranları çeşide göre farklılık göstermekle birlikte, 2019 Bahar sezonu çalışmalarında donör bitki yaşına göre de farklılık göstermiştir. Donör bitki yaşının gynogenesis yolu ile embriyo ve bitki eldesinde önemli bir faktör olduğu geçmiş dönemde yapılan çalışmada görülmüştür. Bu bölümde güz dönemi değerlendirmesinde de aynı olguya rastlanıp rastlanmayacağı değerlendirilmiştir.

2019 yılı Güz dönemi çalışmasının ilk denemesinde en yüksek embriyo oluşum oranı (%186,67) Sedir çeşidinde tespit edilmiştir. Ufuk çeşidinde %40,00, Meriç çeşidinde %6,67 oranında embriyo oluşmuştur. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyo oluşum oranı ise %77,78'dir. İlk hafta elde edilen sonuçlara göre 2019 Bahar sezonuna göre oldukça düşük oranlarda embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Özellikle Meriç çeşidi oldukça düşük oranda tepki vermiştir (Şekil 4.8).

Ekim ayının 4'ünde kurulan denemeye göre en yüksek embriyo gelişimi bir önceki haftanın aksine Ufuk çeşidinde gerçekleşmiştir. Embriyo oluşum oranı %44,83 olarak bulunmuştur. Bir önceki hafta en yüksek embriyo oluşum oranına sahip Sedir çeşidinde ise embriyo oluşum oranı oldukça düşerek, bu oran %7,94 olarak saptanmıştır. Meriç çeşidinde ise embriyo oluşumu ilk haftada olduğu gibi ümitvar bir sonuç doğurmamış olup ve hatta yaklaşık olarak yarı yarıya (%3,70) düşme eğilimi göstermiştir. Tüm denemelere göre en yüksek sayıda (175 adet) ovaryum kültüre alınan bu haftada, toplam ovaryumlardan %18,86 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir.



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo oluşum oranı

Şekil 4.8. 2019 Güz sezonu donör bitki yaşına göre embriyo oluşum oranları (%)

Üç hafta yaşındaki donör bitkilerden alınan ovaryumlarda, ilk haftada olduğu gibi en yüksek embriyo gelişimi Sedir çeşidinde gerçekleşmiş ve embriyo oluşum oranı %229,17'ye yükselmiştir. Toplamda 48 adet ovaryumdan 110 adet embriyo gelişmiştir. En yüksek ikinci embriyo oluşum oranı (%16,67) ise Ufuk çeşidinde tespit edilmiş, bu değer bir önceki haftaya göre düştüğü saptanmıştır. İlk iki hafta düşük oranlarda embriyo gelişimi olan Meriç çeşidinde ise hiç embriyo gelişimi gerçekleşmemiştir. Tüm çeşitlerden toplamda 118 adet embriyo elde edilerek en yüksek embriyo sayısına ulaşılmış ve %81,94 oranında ikinci en yüksek embriyo oluşum oranı tespit edilmiştir.

18 Ekim 2019 tarihinde dört hafta yaşında olan donör bitkilerden alınan hıyar ovaryumlarının gynogenesis yolu ile embriyo oluşturma yüzdesi toplamda %80,67'dir. Bir önceki haftada olduğu gibi en yüksek embriyo oluşum oranı %212,82 oranıyla yine Sedir çeşidinde gerçekleşmiştir. Ancak ilk haftada ikinci en yüksek embriyo oluşum oranına sahip Ufuk çeşidi bu haftada üçüncü sıraya düşmüştür (%5,13). Meriç çeşidinde ise genel olarak bu haftadan sonra az bir oranda da olsa artış olmaya başlamıştır. Meriç çeşidinin bu haftadaki embriyo oluşum oranı %26,83'tür. Beşinci haftada kültüre alınan ovaryumların embriyo oluşturma yeteneği tüm güz dönemi boyunca elde edilen en düşük oran olarak bulunmuştur (%9,15). Özellikle Sedir çeşidinde embriyo oluşum oranı oldukça sınırlı bir seviyede kalmış olup, %5,88'e düşmüştür. Meriç çeşidinde de üçüncü haftada olduğu gibi embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir. Bu haftada en yüksek embriyo oranı %22,00 ile Ufuk çeşidinde saptanmıştır.

1.11.2019 tarihli denemedeki ovaryumların embriyo gelişim oranlarına bakıldığında, en yüksek tepki veren Ufuk çeşidi (%37,78) olurken; en düşük tepki veren Sedir çeşidi (%17,78) olmuştur. Meriç çeşidinden ise %31,11 oranında embriyo gelişmiştir. Toplamda tüm çeşitlerden %28,89 oranında embriyo oluşumu kaydedilmiştir. Yedinci haftada ise, Meriç çeşidinde embriyo oluşumu kendi içerisindeki en yüksek oran olan %50,00'a ulaşmıştır. Ufuk çeşidinde embriyo oluşumu gerçekleşmez iken, Sedir çeşidinde de oldukça sınırlı oranda (%12,50) embriyo oluşmuştur. Sedir çeşidinde üç hafta arka arkaya embriyo oluşum oranının düşük olması dikkat çekici bir durumdur. Sera

koşullarında donör bitkinin yaşadığı bir stres faktörüne bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Kasım ayının ikinci haftasında sekiz hafta yaşında olan donör bitkilerden alınan ovaryumlardan gelişen embriyo oluşum oranlarına bakıldığında, Sedir çeşidinde bu haftada ani bir yükselme görülmüş ve embriyo gelişim oranı %237,14'e çıkmıştır. Güz dönemi boyunca Sedir'de görülen en yüksek oran olduğu tespit edilmiştir. Meriç çeşidi %6,00, Ufuk çeşidi ise %2,78 embriyo oluşum oranı göstermiştir. Toplamda %71,90 oranında embriyo oluşmuştur.

22.11.2019 tarihinde kültüre alınan ovaryumlardan Ufuk çeşidinde embriyo gelişimi görülmez iken; Meriç çeşidinde bu oran %46,67'ye yükselmiştir. Sedir çeşidi diğer çeşitler arasında en yüksek embriyo oluşum oranına sahip olurken, bir önceki haftaya göre embriyo oluşum oranı %164,29'a düşmüştür. Toplamda %59,29 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir.

Kasım ayının son haftasına kadar bitkiler kültüre alınabilmiş ve daha sonra sera içerisinde bitkilerin sökümleri gerçekleşmiştir. Son üç haftada Sedir çeşidinden alınabilen eksplant sayısında düşüş gözlemlenmiştir. Ufuk çeşidinde görülen en yüksek embriyo oluşum oranına (%350,00) ulaşılmıştır. Oluşan embriyoların direkt olarak gelişen embriyodan oluşmuş embriyojenik kallustan geliştiği görülmüştür. Meriç ve Sedir çeşitlerinde ise embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir.

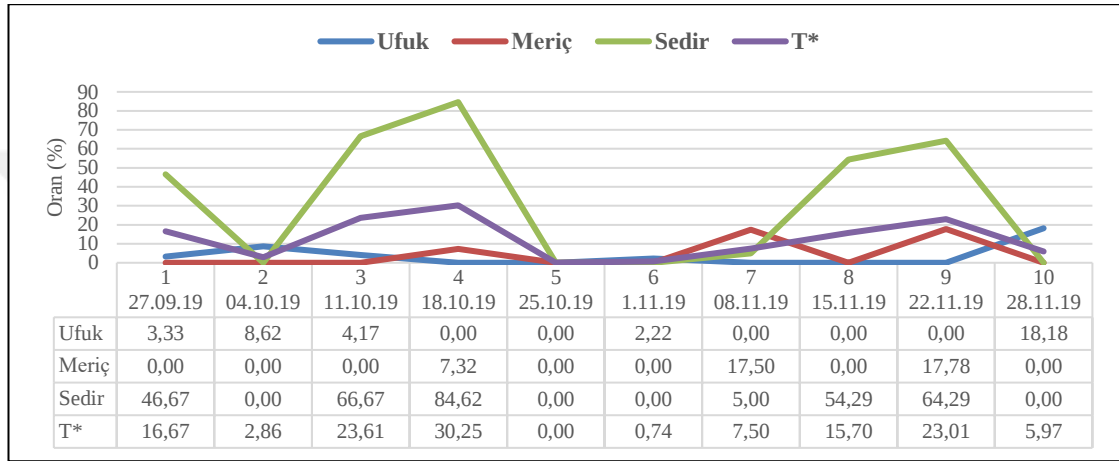
Bu sezonda bahar döneminin aksine bitki yaşının gynogenesis ile embriyo oluşturma üzerine doğrudan bir etkisi görülmemiştir. Farklı dönemlerde yükselen ve düşen embriyo oluşum oranlarına ulaşılmıştır. Tüm çeşitlerden genel anlamda elde edilen embriyo oranlarına bakıldığında ikinci hafta hariç ilk dört haftada donör bitki yaşının etkisinden söz edilebilir. İkinci haftada çeşitler bazında yaşanan olumsuz farklı bir etmenden kaynaklı embriyo oranında düşüş olduğu düşünülmektedir. Ekim ayının son haftası ve kasım ayının ilk haftasının sonundaki süreçte donör bitkide durgun bir dönem yaşandığı grafikte açıkça görülmektedir. Bu dönemden sonra Sedir çeşidinde tekrar bir embriyo artışı gözlenmiştir. Ufuk çeşidinde 2019 Bahar sezonunda da görüldüğü gibi bir artan bir azalan embriyo oluşumu gerçekleşmektedir. Bu çeşitte bu sezonda donör bitki yaşının artmasına bağlı olarak embriyo oluşumu azalması tek taraflı olarak düşünülmemelidir.

Bahar döneminin aksine Meriç çeşidinin de Ufuk çeşidi gibi donör bitki yaşına bağlı bir embriyo gelişimi göstermediği görülmüştür. Özellikle 6., 7. ve 9. hafta yaşında olan donör bitkilerin ovaryumlarından gelişen en yüksek embriyo oranları bu durumu açıkça ispatlamaktadır. Aslında 2019 Bahar sezonunda da Meriç çeşidinde kısa gün koşullarının yaşandığı dönemde embriyo sayılarında artış yaşanmış olması ve 2019 Güz sezonunda da gün uzunluğunun kısalmaya başlaması ile embriyo oluşumunun artması bu çeşidin bitki yaşından ziyade fotoperiyottan daha çok etkilendiği düşüncesini uyandırmaktadır. Sedir çeşidinde bir artan, bir azalan oranda embriyo oluşumu gözlemlenmiştir. Özellikle 2., 5., 6. ve 7. haftalarda azalan oranda bir embriyo seyri gerçekleştiren bu çeşitte 8. ve 9. haftalarda embriyo oluşum oranlarının yüksek artmış olması bu çeşitte de donör bitki yaşının bu sezonda etkili olmadığını göstermiştir.

2019 Güz döneminde Ufuk çeşidinden 154 adet, Meriç'ten 73 adet ve Sedir'den 399 adet embriyo olmak üzere toplamda 626 adet embriyo elde edilmiştir. Kültüre alınan ovaryum sayısına göre toplamda embriyo eldesi oranı %50,61 olarak bulunmuştur.

4.2.1.2. Donör bitki yaşının bitki oluşumu üzerine etkisi

Kültüre alınan ovaryum sayısına göre elde edilen bitki sayılarının oransal açıdan değerlendirildiği bu bölümde 2019 Bahar sezonuna göre oldukça daha az bir oranda bitki eldesi oranına rastlanmıştır. Çalışmaya göre kültüre alınan 1237 adet ovaryumdan toplamda 149 adet bitki gelişmiş olup, toplam bitki gelişim oranı %12,05 olarak bulunmuştur.



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen bitki oluşum oranı

Şekil 4.9. 2019 Güz sezonu donör bitki yaşına göre bitki oluşum oranları (%)

Bir hafta yaşında olan donör bitkilerden kültüre alınan ovaryumlardan elde edilen bitki oranlarına bakıldığından, Sedir çeşidinde %46,67 oranında bitki oluşmuştur (Şekil 4.9). Diğer çeşitler arasında bu haftaki en yüksek bitki eldesi (14 adet) bu çeşitte gerçekleşmiştir. Ufuk çeşidinde ise sadece 1 adet bitki gelişimi gözlemlenirken, Meriç çeşidinde hiç bitki elde edilmemiştir. Tüm çeşitlerden toplamda elde edilen bitki oranı %16,67 olarak hesaplanmıştır. Eylül ayının sonu ekim ayının başına kayan ikinci haftada Sedir ve Meriç çeşitlerinde hiç bitki oluşumu gerçekleşmez iken, Ufuk çeşidinde ise %8,62 (5 adet) oranında bitki elde edilmiştir.

11.10.2019 tarihli haftada Sedir çeşidinden elde edilen bitki oranında (%66,67) artış yaşanmıştır. Bu oran diğer çeşitler arasında elde edilen en yüksek oran olarak belirlenmiştir. Toplamda 32 adet bitki elde edilmiştir. Ufuk çeşidi ise %4,17 (2 adet) oranında bitki oluşturarak ikinci sırada en yüksek elde edilen bitki oranına sahip olmuştur. Meriç çeşidinde ilk iki haftada olduğu gibi yine bitki oluşumu gerçekleşmemiştir.

Dört hafta yaşında olan donör bitkilerden kültüre alınan eksplantlardan, Sedir çeşidinden elde edilen bitki oranında denemeler boyunca görülen en yüksek değere ulaşılmıştır. Bunun yanı sıra hafta içerisinde tüm çeşitler arasında elde edilen en yüksek değer de Sedir çeşidinde saptanmıştır. Bu haftada Meriç çeşidinde %7,32 oranında bitki

elde edilirken, Ufuk çeşidinde hiç bitki gelişimi gerçekleşmemiştir. Tüm çeşitlerden toplamda %30,25 oranında bitki elde edilmiştir.

25.10.2019 tarihinde kurulan denemede tüm çeşitlerden bitki gelişiminin hiç olmaması, sera içerisinde karşılaşılan olumsuz bir faktörden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Bir sonraki haftada da Meriç ve Sedir çeşitlerinden yine hiç bitki gelişimi olmaz iken, Ufuk çeşidinden de %2,22 oranında (1 adet) bitki elde edilerek, bir önceki hafta bitki eldesi oranını etkileyen sebepten kaynaklı olabileceği kanısına varılmıştır. Embriyo oluşumu açısından bu iki haftada Ufuk çeşidinden diğer çeşitlere göre daha fazla embriyo oluşumu gerçekleşirken, bitki eldesi oranında aynı başarı görülememiştir. Embriyo ve bitki oluşumu için aynı çeşidin farklı tepkiler de verebileceği görülmüştür.

Kasım ayının ilk haftasında, geçen iki haftanın aksine Meriç ve Sedir çeşitlerinden bitki elde edilmiş olup, Ufuk çeşidinden bitki elde edilememiştir. Meriç çeşidinden %17,50 oranında bitki oluşumu gerçekleşirken bu oran Ufuk çeşidinde %5,00'dır. Toplamda gelişen bitki oranı %7,50 olarak bulunmuştur. Sekiz hafta yaşında olan donör bitkilerden alınan ovaryumlarda en yüksek bitki eldesi Sedir çeşidinde (%54,29) bulunmuştur. Ufuk ve Meriç çeşitlerinde bitki gelişimi gerçekleşmemiştir. Bu haftada kültüre alınan toplam ovaryum sayısına göre bitki eldesi oranı %15,70'tir.

22.11.2019 tarihinde kültüre alınan ovaryumlardan sadece Meriç ve Sedir çeşitlerinde bitki elde edilirken, bitki eldesi oranı açısından bu çeşitlerin başarısı sırasıyla %17,78 ve %64,29 olarak bulunmuştur. Ufuk çeşidinde bir önceki haftada olduğu gibi hiç değişim olmamıştır. Tüm çeşitlerden bu haftada toplamda 26 bitki (%23,01) elde edilmiştir. Son denemeye bakıldığında ise sadece Ufuk çeşidinden %18,18 oranında bitki elde edilmiştir. Meriç ve Sedir çeşitlerinde bitkiye rastlanmamıştır.

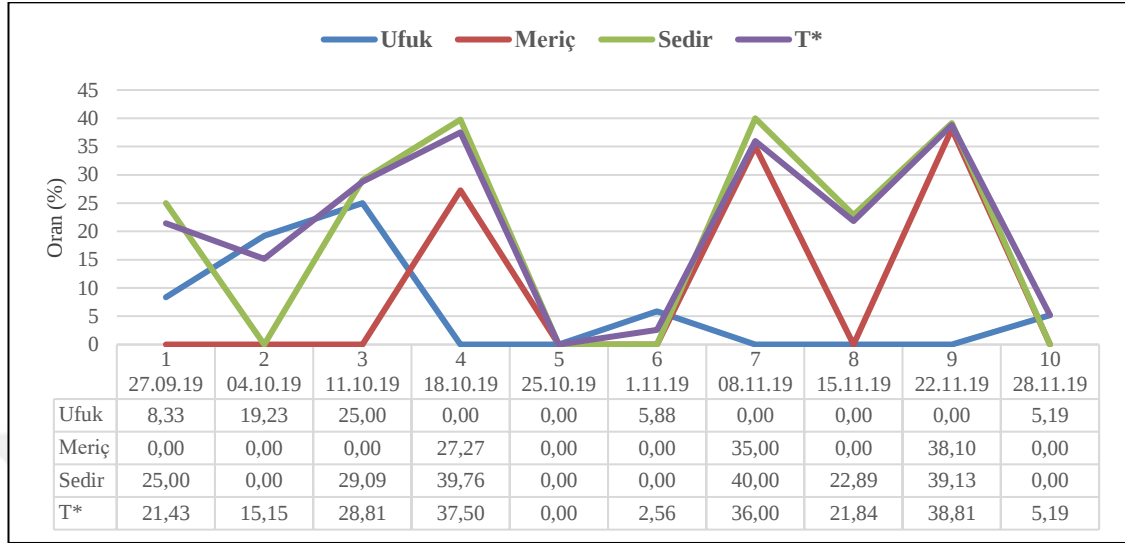
Donör bitki yaşının kültüre alınan ovaryum sayısına göre bitki oluşturma oranları değerlendirildiğinde, tüm çeşitlerde toplamda elde edilen bitki oranına göre oldukça sınırlı bir seviyede etki ettiğini söylemek mümkündür. İkinci hafta hariç ilk dört hafta verileri incelendiğinde donör bitki yaşının etkili olabileceği, ancak tamamen buna bağlı bir sonuç çıkarmanın doğru olmayacağı savunulabilir. 2019 Bahar döneminin aksine elde edilen bitki oranlarında genel bir düşüklük olduğu, bahar dönemi sonuçlarında donör bitki yaşının bitki eldesi açısından etkili olduğu, ancak güz döneminde donör bitki yaşından ziyade, farklı faktörlerin daha etkili olabileceği kanısına varılmıştır. Tam net bir sonuç gözlemlenemediği için 2020 yılı bahar ve güz dönemleri ile bu sonucun desteklenmesinin daha net bir sonuç oluşturacağı düşünülmüştür.

4.2.1.3. Donör bitki yaşının elde edilen embriyoya göre bitkiye dönüşüm oranları üzerine etkisi

2019 Güz döneminde kültüre alınan ovaryumlardan çeşitlere göre indüksiyonu sağlanmış 626 adet embriyonun bitkiye dönüşüm oranları hesaplanmış olup, donör bitki yaşı ile bu oranın ilişkisinin olup olmadığı bu bölümde değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda ilk hafta verilerine en yüksek embriyo oluşumu (56 adet) Sedir çeşidinde gerçekleşirken, bu embriyoların %25,00'ı bitkiye dönüşmüştür (Şekil 4.10). En yüksek ikinci embriyodan bitkiye dönüşüm %8,33 oranıyla Ufuk çeşidinde

gerçekleşirken, Meriç çeşidinde 2 adet embriyo oluşmasına rağmen embriyolar rejenerasyona uğramamıştır. Tüm çeşitlerden toplamda %21,43 oranında embriyodan bitki eldesi saptanmıştır.



T*: Tüm çeşitlerden toplam elde edilen embriyo sayısına göre bitkiye dönüşüm oranı

Şekil 4.10. 2019 Güz sezonu donör bitki yaşına göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)

İki hafta yaşında olan donör bitkilerden alınan ovaryumlardan gelişen embriyolardan, ilk hafta embriyodan bitkiye dönüşüm oranı en yüksek olan Sedir çeşidinde, bu haftada hiç embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. En yüksek bitki oluşumu ise Ufuk çeşidinde %19,23 oranında görülürken, Meriç çeşidinde oluşan embriyolar bitkiye dönüşmemiştir. Üçüncü hafta eksplantlarından gelişen embriyo sayısı toplamda 34 adet bulunmuş olup, bitkiye dönüşüm oranı %28,81 olarak belirlenmiştir. En yüksek embriyodan bitki eldesi oranı Sedir çeşidinde %29,09 oranında gerçekleşirken, Ufuk çeşidinde de %25,00 oranında embriyodan bitkiye dönüşüm görülmüştür. Meriç çeşidinde ise hiç embriyo oluşumu gerçekleşmediği için rejenerasyon da söz konusu olmamıştır.

18.10.2019 tarihinde kültüre alınan eksplantlardan ilk haftadan bu yana embriyo oluşumu gerçekleşmeyen Meriç çeşidinde bu hafta embriyo oluşmuş ve bu embriyoların %27,27'si bitkiye dönüşmüştür. Ufuk çeşidinde ise bu haftada hiç embriyo tespit edilememiştir. Sedir çeşidinde ise elde edilen 83 adet embriyodan 33'ü bitkiye dönüşerek, %39,76 embriyodan bitkiye dönüşüm oranı elde edilmiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen dönüşüm oranı ise %37,50 olarak hesaplanmıştır.

Beşinci haftada toplamda 14 adet embriyo elde edilmesine rağmen, tüm çeşitlerde bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. Altıncı hafta ise embriyo oluşumu açısından tüm çeşitlerden toplamda 39 adet embriyo elde edilmesine rağmen embriyodan bitki oluşumu sonucu sadece 1 bitki elde edilmiştir (%2,56). Elde edilen bitki Ufuk çeşidine ait olup, embriyodan elde edilen bitki oranı %5,88 olarak bulunmuştur. Meriç ve Sedir çeşitlerinden bitki oluşmamıştır.

Kasım ayının ilk gününe gelen denemede toplamda 25 adet embriyo oluşmuş olup, embriyonun bitkiye dönüşüm oranı %36,00'dır. Embriyodan bitkiye dönüşüm oranı açısından çeşitler karşılaştırıldığında ise bir önceki hafta bitki elde edilemeyen Sedir ve Meriç çeşitlerinde embriyonun bitkiye dönüşümünün gerçekleştiği, bu durumun aksine Ufuk çeşidinde bitki oluşmadığı görülmüştür. Sedir çeşidinde %40,00, Meriç çeşidinde %35,00 oranında embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir.

15.11.2019 tarihinde ise donör bitkiden kültüre alınan ovaryumlardan gelişen toplam 87 adet embriyodan sadece 83 adedi Sedir çeşidine aittir. Embriyoların bitkiye dönüşüm oranı ise bu çeşitte %22,89 olarak hesaplanmıştır. Ufuk ve Meriç çeşitlerinde ise bitki oluşumu gerçekleşmemiştir. Dokuzuncu haftada Ufuk çeşidinden bir önceki haftada olduğu gibi bitki eldesi saptanmamış olup, Meriç ve Sedir çeşitlerinde sırası ile embriyodan bitkiye dönüşüm oranı %38,10 ve %39,13 olarak bulunmuştur. Toplamda 26 adet bitki gelişmiştir (%38,81). Son denemede ise bundan önceki son 3 haftada embriyodan bitki dönüşümü gerçekleşmeyen Ufuk çeşidinde bu haftada %5,19 oranında bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir. Elde edilen embriyo sayısı 77 adet olmasına rağmen, bunların sadece 4 tanesi bitkiye dönüşmüştür. Meriç ve Sedir çeşitlerinde ise hiç embriyoya rastlanmamıştır.

2019 Bahar sezonu çalışmalarında embriyonun bitkiye dönüşümü ile donör bitki yaşı arasında doğrudan bir ilişki bulunmadığı görülmüştür. Güz döneminde yapılan çalışmada bu kanıyı destekler nitelikte bir sonuç ortaya çıkarmıştır. Tüm çeşitler açısından değerlendirildiğinde en yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm 4., 7. ve 9. haftalarda görülmüştür. Embriyo sayısının düşük olduğu haftalarda, bağlantılı olarak embriyonun bitkiye dönüşüm oranı da düşük bulunmuştur. En yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm oranı 9. haftada %38,81 oranında gerçekleşmiştir. Çeşitler açısından embriyodan bitki eldesi oranı ve donör bitki yaşı incelendiğinde, Ufuk çeşidi en yüksek embriyo oranını son denemede gösterirken, en yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm oranını ise 3. haftada göstermiştir. Meriç çeşidi ise 9. haftada en yüksek orana ulaşmıştır. Sedir çeşidinde ise en yüksek oran 8.11.2019 tarihli 7. denemede tespit edilmiştir. Bu sezonda bu konu hakkında çıkarılan sonuç, embriyo rejenerasyon başarı oranı donör bitkinin yaşına bağlı olmamakla birlikte, çeşitlere göre de farklı zamanlarda gerçekleşebilir, şeklindedir.

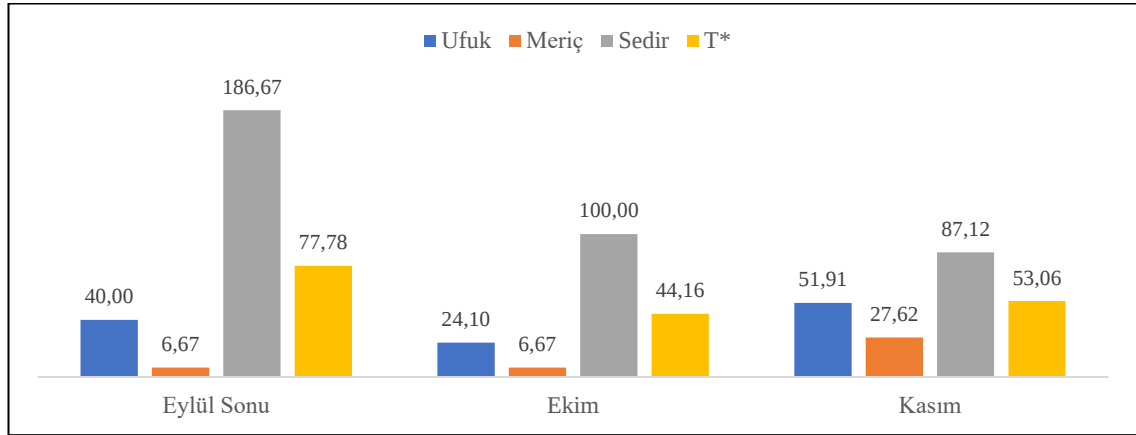
4.2.2. Donör bitkinin yetiştirilme aylarının ovaryum kültürü üzerine etkisi

2019 Güz sezonu denemelerinde kültüre alınan ovaryumlar toplamda 10 hafta denemeye tabi tutulmuştur. Eylül ayının son haftası başlayan denemeler kasım ayının son haftasında sonlandırılmıştır. Toplamda 3 aylık yetiştiricilik dönemi değerlendirilmiş olup, bitkinin yetiştirilme aylarının hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkileri embriyo oluşum (Şekil 4.11), bitki oluşum (Şekil 4.12) ve embriyodan bitkiye dönüşüm (Şekil 4.13) oranları açısından değerlendirilmiştir.

4.2.2.1. Aylara göre embriyo oluşum oranları

Eylül ayı denemelerinde bir hafta değerlendirilmiş olup, en yüksek embriyo oluşum oranı Sedir çeşidinde %186,67 oranında tespit edilmiştir. En düşük embriyo oluşum oranı ise %6,67 ile Meriç çeşidinde olurken, Ufuk çeşidinde bu oran %40,00

olarak bulunmuştur. Tüm çeşitlerden kültüre alınan ovaryum sayısına göre embriyo oluşum oranı %77,78'dir (Şekil 4.11).



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo oluşum oranı

Şekil 4.11. 2019 Güz sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyo oluşum oranları (%)

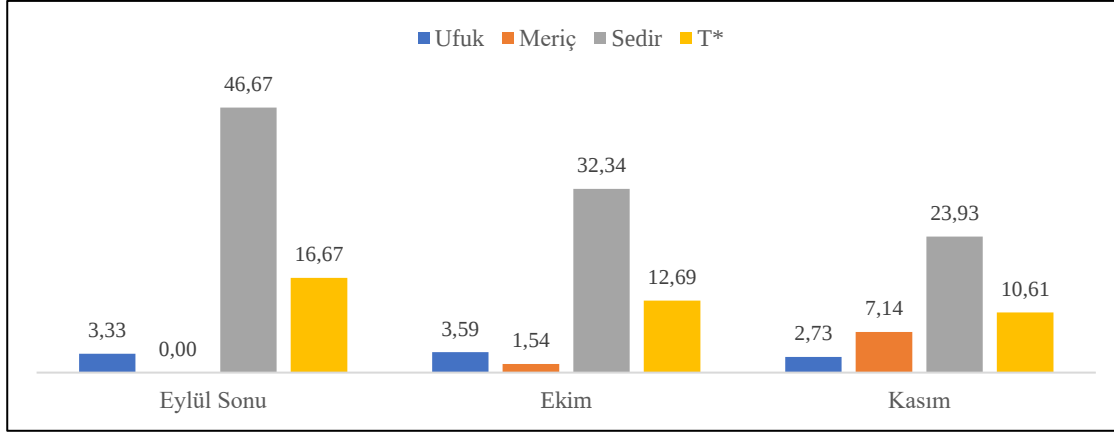
Ekim ayında dört hafta üzerinden değerlendirme yapılmış olup, tüm çeşitlerden toplamda embriyo oluşum oranı %44,16'dır. Bu ayda da eylül ayında olduğu gibi Sedir çeşidinde en yüksek oranda embriyo elde edilmiştir. Bu çeşidin embriyo oluşum oranı %100,00 olarak hesaplanmıştır. Meriç çeşidinde ise bir önceki aydaki embriyo oluşum oranı bu ayda da değişmemiştir. Ayrıca ikinci en iyi yanıt veren çeşit %24,10 oranı ile Ufuk olarak belirlenmiştir.

Kasım ayı verilerine göre Sedir çeşidi %87,12 oran ile birinci, Ufuk çeşidi ise %51,91 oran ile ikinci olmuştur. Meriç çeşidinde de geçen iki aya göre en yüksek oranda embriyo oluşumu gerçekleşmiş ve sayısal olarak değerlendirildiğinde %27,62 oranına ulaşılmıştır. Toplamda kültüre alınan ovaryum sayısına göre embriyo oluşum oranı %53,06'dır.

Aylar bazında genel olarak bir değerlendirme yapıldığında toplam kültüre alınan ovaryum sayısına göre en iyi yanıt alınan ay eylül ayı olurken, en az yanıt ekim ayında alınmıştır. Sedir çeşidi için eylül ayı en yüksek oranda yanıt alınan ay olurken, embriyo oluşumu bakımından en az yanıt alınan ay kasım ayı olarak saptanmıştır. Ufuk çeşidinde en yüksek embriyo oluşum oranına kasım ayında ulaşılırken, en düşük ekim ayında ulaşılmıştır. Meriç çeşidinde ise en yüksek kasım ayında embriyo elde edilirken, eylül ve ekim aylarında yaklaşık aynı oranlarda embriyo bulgusuna rastlanmıştır.

4.2.2.2. Aylara göre bitki oluşum oranları

Bitki oluşumu açısından eylül ayı değerlendirildiğinde en yüksek bitki eldesi Sedir çeşidinde %46,67 oranında görülmüştür. Ufuk çeşidinde ise oldukça sınırlı bir oranda bitki bulgusuna (%3,33) rastlanmıştır. Meriç çeşidinde bitki oluşmamıştır. Kültüre alınan ovaryum sayısına göre tüm çeşitlerden ortalama olarak %16,67 oranında bitki rejenere olmuştur (Şekil 4.12).



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen bitki oluşum oranı

Şekil 4.12. 2019 Güz sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre bitki oluşum oranları (%)

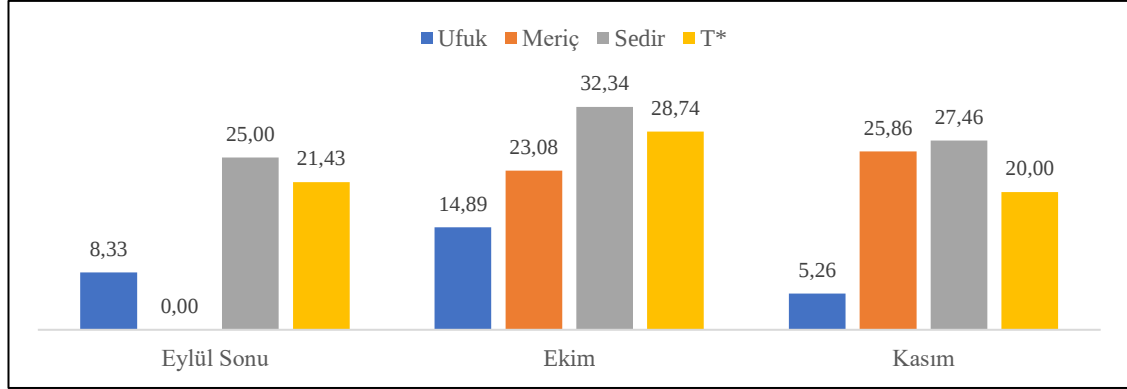
Ekim ayı verilerine göre Sedir çeşidi bir önceki aya göre düşüş yaşamış, elde edilen bitki oranı bakımından değerlendirildiğinde %32,34 oranına ulaşılmıştır. Oran olarak %3,59 ile Ufuk çeşidi bu ayda ikinci olurken Meriç çeşidinden elde edilen bitki oranı %1,54'tür. Tüm çeşitlerden kültüre alınan ovaryum sayısına göre elde edilen bitki oranı %12,69 olarak bulunmuştur.

Bitki oluşumu açısından kasım ayı değerlendirmesinde ise %23,93 oran ile Sedir çeşidi birinci olurken, %7,14 oranı ile Meriç çeşidi ikinci olmuştur. Ufuk çeşidinde ise bu oran %2,73 olarak kaydedilmiştir. Ortalama bitki oluşum oranı ise %10,61 olarak gerçekleşmiştir.

Aylar bazında kültüre alınan ovaryum sayısına göre bitki oluşum oranları değerlendirildiğinde eylül ayı tüm çeşitlerde ortalama açıdan en iyi ay olarak bulunurken, en az yanıt alınan ay kasım ayı olmuştur. Çeşitler bazında değerlendirildiğinde Ufuk çeşidi yaklaşık olarak eylül ve ekim aylarında yakın tepki oranına sahip olmasına rağmen en yüksek oran ekim ayında elde edilmiştir. Kasım ayında en düşük orana rastlanmıştır. Meriç çeşidi için en yüksek yanıt alınan ay kasım ayı olarak belirlenmiş olup, en az yanıt alınan ay eylül sonu olarak bulunmuştur. Sedir çeşidinde ise, en yüksek oran eylül ayı sonunda gerçekleşirken, en az oran Kasım ayında elde edilmiştir.

4.2.2.3. Aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları

2019 Güz sezonu elde edilen embriyo sayısına göre aylık bitki dönüşüm bulguları incelendiğinde eylül ayı sonunda tüm çeşitlerden %21,43 oranında bitki elde edilmiştir. Embriyodan bitkiye dönüşüm oranı açısından en yüksek oran veren çeşit %25,00 oran ile Sedir olurken, ikinci çeşit %8,33 oran ile Ufuk olmuştur. Meriç çeşidinden ise hiç bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir (Şekil 4.13).



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyodan bitkiye dönüşüm oranı

Şekil 4.13. 2019 Güz sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)

Ekim ayı verilerine bakıldığında ise %32,34 oran ile Sedir çeşidi birinci olurken, %23,08 oran ile Meriç ikinci olmuştur. Ufuk çeşidinde ise bu oran %14,89 olarak hesaplanmıştır. Tüm çeşitlerde embriyodan bitkiye dönüşüm oranı bir önceki aya göre artış göstermiş olup, ortalama elde edilen oran %28,74 olarak bulunmuştur.

Kasım ayı verilerine göre Sedir çeşidi bir önceki aya göre %27,46 oranına düşmüştür. Ancak oransal açıdan değerlendirildiğinde bu çeşit diğer çeşitlere göre en yüksek başarı oranına sahip olduğu görülmektedir. Bu ayda da ikinci olan çeşit %25,86 oran ile Meriç olurken, %5,26 oran ile bir önceki aya göre düşüş yaşayan Ufuk çeşidi üçüncü olmuştur. Toplamda elde edilen embriyo sayısına göre gelişen bitki oranı bu ayda %20,00 olarak bulunmuştur.

Ekim ayı tüm çeşitlerden elde edilen bitki oranı açısından en yüksek oranda sonuç elde edilen ay olarak belirlenirken, en az yanıt alınan ay kasım ayı olmuştur. Çeşitler açısından değerlendirildiğinde Ufuk çeşidi için en iyi yanıt ekim ayında elde edilirken, en kötü yanıt alınan ay kasım olarak kaydedilmiştir. Meriç çeşidinde ise eylül ayı en az tepki alınan ay olarak bulunmuş, ekim ayı ise bu çeşitte en yüksek oranın elde edildiği ay olarak tespit edilmiştir. Sedir çeşidinde ekim ayı en yüksek eylül sonu en düşük bitkicik elde edilme oranına ulaşılan ay olarak belirlenmiştir.

4.2.3. Donör bitki genotipinin hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi

Hıyarda gynogenesis yolu ile embriyo ve bitki elde etmede en belirleyici faktörlerden birinin çeşit olduğu bilinmektedir. 2019 Bahar dönemi çalışmaları sonuçlarına göre bu ifade açıkça desteklenmektedir.

Embriyo oluşumu açısından 2019 Bahar döneminde en iyi çeşit Sedir olarak tespit edilmiştir. Güz döneminde embriyo oluşumu en yüksek olarak bulunan çeşit %101,27 oran ile Sedir çeşidi olmuştur (Çizelge 4.4). Ancak bahar sezonunda yakaladığı embriyo rejenerasyon oranını (%444,18) bu sezonda yakalayamamıştır. Bu çeşidin embriyo oluşum kabiliyetinin diğer çeşitlere göre yüksek olduğu anlaşılmaktadır. 2019 Bahar sezonunda en yüksek ikinci en yüksek embriyo indüksiyon oranına sahip çeşit %104,58 oranı ile Meriç olurken, 2019 Güz sezonunda aynı çeşit %16,78 oran ile üçüncü sıraya yerleşmiştir. Bunun yanı sıra Ufuk çeşidi ise 2019 Bahar döneminde %67,33 embriyo

oluşum oranına sahip iken, mevcut dönemde bu oran %37,75'tir. Ancak geçen döneme kıyasla bu dönemki oran daha düşük olmasına rağmen, embriyo oluşumu açısından 2019 Güz döneminde en yüksek ikinci çeşit sıralamasına yerleşmiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen ortalama embriyo başarı oranı ise %50,61 olarak bulunmuştur.

Kültüre alınan ovaryum sayısına göre elde edilen bitki oranları oldukça düşük olmasına rağmen çeşitler arasında başarı oranlarında farklılıklar görülmüştür. Bitki eldesi açısından en iyi çeşit embriyoda olduğu gibi Sedir çeşidi olmuştur. 2019 Bahar sezonunda da en yüksek bitki eldesi oranına sahip bu çeşidin, bu dönemdeki başarı oranı %29,95'tir. Embriyo oluşum başarı sıralamasının aksine bitki eldesi oranı açısından ikinci en iyi çeşit %4,14 oran ile Meriç çeşidi bulunmuştur. Ufuk çeşidinde ise bitki oluşum oranı %3,19 olarak hesaplanmıştır. Toplam elde edilen bitki oranı ise %12,05 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Donör bitkinin çeşidine göre embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranı (%)

Çeşitler	Kültüre Alınan Ovaryum Sayısı (Adet)	Embriyo Sayısı (Adet)	Embriyo Oluşum Oranı (%)	Bitki Sayısı (Adet)	Bitki Oluşum Oranı (%)	Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Oranı (%)
<i>Ufuk</i>	408	154	37,75	13	3,19	8,44
<i>Meriç</i>	435	73	16,78	18	4,14	24,66
<i>Sedir</i>	394	399	101,27	118	29,95	29,57
<i>Toplam</i>	1237	626	50,61	149	12,05	23,80

En yüksek embriyo ve bitki sayısına sahip çeşitte en yüksek oranda rejenerasyon gerçekleşmiştir. Bahar döneminde en yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm oranına Ufuk çeşidi sahip olurken, 2019 Güz döneminde Sedir çeşidi bu sırayı (%29,57) almıştır. Ufuk çeşidi ise %8,44 bitki eldesi oranına sahip olarak üçüncü çeşit olarak bulunmuştur. Meriç çeşidi 2019 Bahar sezonunda da olduğu gibi, bu dönemde de ikinci olmuş ve %8,44 embriyo rejenerasyon başarısı göstermiştir.

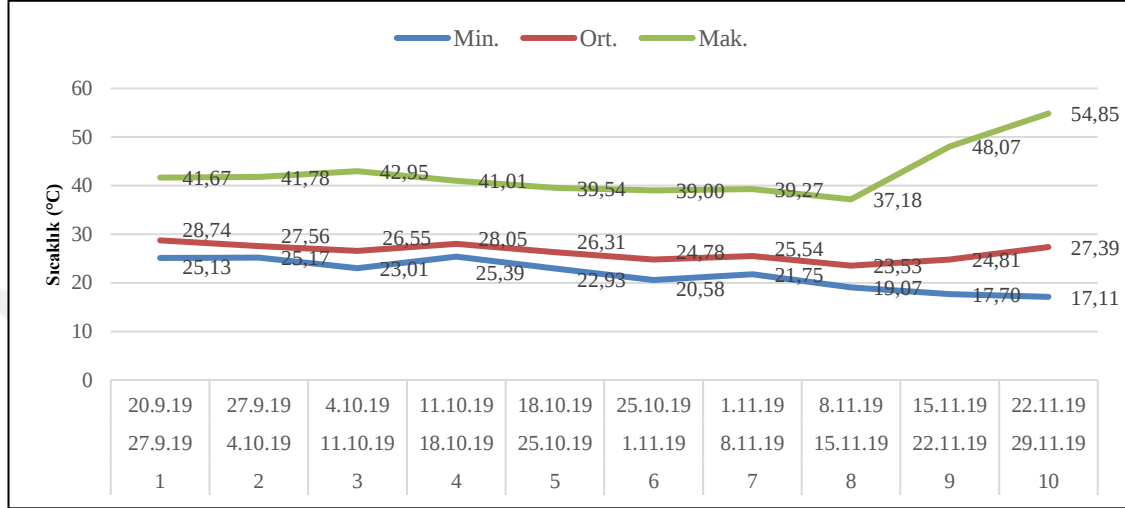
Tüm çeşitlerde embriyo oluşum, bitki oluşum ve elde edilen embriyoların bitkiye dönüşüm oranlarının çeşide göre farklı tepkiler verdiğini, en yüksek embriyo oranına sahip çeşitte, en yüksek bitki oluşumu gerçekleştirebileceği anlaşılmıştır. Bununla birlikte şu ana kadar değerlendirilen bölümlere bakıldığında çeşidin embriyogenesis ve bitkiye rejenerasyonu belirleyen en belirleyici faktörlerden biri olduğu net olarak görülmektedir.

4.2.4. Donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların sera içi sıcaklığının hıyarda gynogenesis üzerine etkisi

2019 Güz sezonunda kullanılan eksplant sayıları göz önünde bulundurularak, 2019 Bahar dönemindeki gibi elde edilen embriyo ve bitki oluşum, embriyodan bitkiye dönüşüm oranları bulunmuş ve tablolarda verilmiştir (Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10). Bitki gelişim durumuna bağlı olarak kültüre alınan ovaryum sayıları değişiklik

göstermiştir. Bitkinin yaşlanma evresinde, çeşitlere göre değişmekle birlikte, ilk denemelere göre daha az sayıda uygun aşamada olan ovaryum bulunabilmiştir.

Bitkiler sera koşullarına 31.08.2019 tarihinde dikilmiştir. Bitkilerin seraya dikiminden 4 hafta sonra ilk deneme kurulmuştur. Denemelerde kullanılan ovaryumların sera içi sıcaklıklarının haftalık ortalamaları hesaplanmış olup; minimum, ortalama ve maksimum olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. 2019 Güz sezonu donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların sera içi sıcaklığı grafiği (°C)

Elde edilen verilere göre 2019 Bahar sezonu ile 2019 Güz sezonu arasında büyük farklılıklar olduğu görülmüş olup, hıyarda gynogenesis tekniği için donör bitkinin yetiştirilme koşulları ve mevsimin önemli bir etmen olduğu saptanmıştır. Çalışmamıza göre, donör bitkinin yetiştirildiği koşullardaki sıcaklık verilerinin özellikle ovaryumun gelişim aşamasında uygun sıcaklık koşullarının sağlanmasının oldukça önemli olduğu düşünülmektedir. Güz dönemindeki genel sıcaklık verileri bahar dönemine göre biraz daha yüksek bulunmuştur. Güz sezonunda özellikle kasım ayında sıcaklığın artmış olması ısıtma sistemlerinin bu dönemde faaliyette olmasına bağlanmaktadır. Bahar döneminde ısıtma sistemlerinden faydalanılmamıştır. Bunun yanı sıra bitkilerin sera içerisindeki konumu da sıcaklık artışına etkili olmuştur. Bahar döneminde donör bitkilerin etrafında bitkilerin bulunması sıcaklık seviyelerini belirli bir düzeyde tutmuştur. Güz döneminde ise donör bitkiler sera yürüyüş yolunun (beton) yanına dikilmiştir. Kasım ayının ortasında donör bitkilerin diğer yanındaki bitkiler sökülüş ve sıcaklık artışına sebep olmuştur.

4.2.4.1. Sera içi sıcaklığın embriyo oluşum oranı üzerine etkisi

27 Eylül 2019 tarihinde kurulan ilk denemede kültüre alınacak ovaryumların bir haftalık sera içi sıcaklığı ortalama olarak 28,74 °C'dir (Şekil 4.14). Minimum ve maksimum sıcaklık dereceleri de oldukça yüksek bulunmuş olup, sırasıyla 25,13 °C ve 41,67 °C olarak ölçülmüştür. En yüksek embriyo oluşum oranı (%186,67) Sedir çeşidinde tespit edilmiştir (Şekil 4.8). Ufuk çeşidinde %40,00, Meriç çeşidinde %6,67 oranında

embriyo oluşmuştur. Tüm çeşitlerden elde edilen ovaryum indüksiyon oranına bakıldığında %77,78'dir.

Eylül ayının sonu ekim ayının ilk günlerine denk gelen bir haftalık sıcaklık değişim ortalaması bir önceki haftaya yaklaşık 1 °C düşmüştür. Ancak minimum ve maksimum sıcaklık değerlerinde kayda değer bir değişim görülmemiştir. 4 Ekim 2019 tarihli denemeye göre en yüksek embriyo gelişimi Ufuk çeşidinde gerçekleşmiştir. Embriyo gelişim oranı %44,83 olarak bulunmuştur. Bir önceki hafta en yüksek embriyo oluşum oranına sahip Sedir çeşidinde ise embriyo oluşum oranı oldukça düşerek, %7,94 olarak saptanmıştır. Bu düşüşün, kültüre alınma zamanında yaşanan olumsuz bir etmenden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Meriç çeşidinde ise embriyo oluşumu bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak yarıya (%3,70) düşmüştür. Tüm denemelere göre en yüksek sayıda (175 adet) ovaryum kültüre alınan bu haftada, toplam ovaryumlardan %18,86 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir.

Üçüncü hafta denemelerinde kullanılan ovaryumların minimum ve ortalama sera içi sıcaklık değerlerinin sırasıyla 23,01 °C ve 26,55 °C'ye düştüğü görülmüştür. Ancak maksimum sıcaklık değeri 42,95 °C'ye çıktığı tespit edilmiştir. İlk haftada olduğu gibi en yüksek embriyo gelişimi Sedir çeşidinde gerçekleşmiş ve embriyo oluşum oranı %229,17'ye yükselmiştir. Toplamda 48 ovaryumdan 110 adet embriyo gelişmiştir. En yüksek ikinci embriyo oluşum oranı (%16,67) ise Ufuk çeşidinde tespit edilmiş, bu değer bir önceki haftaya göre düştüğü saptanmıştır. Meriç çeşidinde ise hiç embriyo gelişmemiştir. Toplamda 118 adet embriyo elde edilerek en yüksek embriyo sayısına ulaşılmış ve %81,94 oranında embriyo oluşumu tespit edilmiştir.

Ortalama sıcaklığın 28,05 °C olduğu sera koşullarında 11 Ekim 2019 ve 18 Ekim 2019 tarihleri arasında gelişen hıyar ovaryumlarının gynogenesis yolu ile embriyo oluşturma yüzdesi toplamda %80,67'dir. Maksimum sıcaklık değeri bir önceki haftaya göre 2 °C düşmüş ve minimum hissedilen sıcaklık değeri 25,39 °C'ye çıkmıştır. Kayıt altına alınan sıcaklık değerlerinin ilk hafta ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiş olup, ilk haftada olduğu gibi en yüksek embriyo oluşum oranı %212,82 oranıyla yine Sedir çeşidinde gerçekleşmiştir. Ancak ilk haftada ikinci en yüksek embriyo oluşum oranına sahip Ufuk çeşidi bu haftada üçüncü sıraya gerilemiştir (%5,13). Meriç çeşidinde ise genel olarak bu haftadan sonra az bir oranda da olsa artış olmaya başlamıştır. Meriç çeşidinin bu haftadaki embriyo oluşum oranı %26,83'tür. Beşinci haftada kültüre alınan ovaryumların ise minimum ve ortalama sera içi gelişme sıcaklığı sırasıyla 22,93 °C ve 26,31 °C olarak kayıt altına alınmıştır. Maksimum sıcaklık bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 1 °C düşmüştür. Ancak Sedir çeşidinde embriyo oluşum oranı oldukça sınırlı bir seviyede gelişmiş olup, %5,88 olarak tespit edilmiştir. Meriç çeşidinde de yine embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir. Bu haftada en yüksek embriyo oranı %22,00 ile Ufuk'ta saptanırken, toplamda oran ise %9,15'lere düşmüştür. Minimum sıcaklıktaki değişimin bu düşüşte etkili olabileceği düşünülmektedir.

Maksimum, ortalama ve minimum sıcaklık sırasıyla 39,00 °C, 24,78 °C ve 20,58 °C koşullarında gelişen altıncı denemedeki ovaryumların embriyo gelişim oranlarına bakıldığında, en yüksek tepki veren Ufuk çeşidi (%37,78) olurken; en düşük tepki veren Sedir çeşidi (%17,78) olmuştur. Meriç çeşidinden ise %31,11 oranında embriyo gelişmiştir. Toplamda tüm çeşitlerden %28,89 oranında embriyo oluşumu kaydedilmiştir. Yedinci haftada ortalama sıcaklık bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 1 °C artış

göstererek 25,54 °C'ye ulaşmıştır. Meriç çeşidinde embriyo oluşumu kendi içerisindeki en yüksek oran olan %50,00'a ulaşmıştır. Ufuk çeşidinde embriyo oluşumu gerçekleşmez iken, Sedir çeşidinde oldukça sınırlı oranda (%12,50) embriyo oluşmuştur. Sedir çeşidinde 3 hafta arka arkaya embriyo oluşum oranının düşük olması dikkat çekici bir durumdur. Sera koşullarında donör bitkinin yaşadığı bir stres faktörüne bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Kasım ayının ikinci haftasında sera koşulları sıcaklık ortalamaları denemeler boyunca maksimum (37,18 °C) ve ortalama (23,53 °C) değerlerde görülen en düşük sıcaklık değerleri olmuştur. Sedir çeşidinde bu haftada ani bir yükselme görülmüş ve embriyo gelişim oranı %237,14'e çıkmıştır. Güz dönemi boyunca Sedir çeşidinde görülen en yüksek orana ulaşılmıştır. Bu durumun aksine Meriç çeşidi %6,00'a düşmüştür. Ufuk çeşidi ise %2,78 embriyo oluşum oranı göstermiştir. Toplamda %71,90 oranında embriyo oluşmuştur.

22.11.2019 tarihinde kültüre alınan ovaryumların donör bitkilerinin minimum, ortalama ve maksimum sera içi sıcaklıkları sırasıyla 17,70 °C, 24,81 °C ve 48,07 °C olarak ölçülmüştür. Maksimum sıcaklık değerinin artışında ısıtma sistemlerinin kullanılmasının yanı sıra, donör bitkilerin etrafındaki bitkilerin sökülmesinin de etkili olabileceği düşünülmektedir. Son iki haftada yakın çevresinde bitkilerin olmaması yetiştiricilik koşullarındaki sıcaklığa etki etmiştir. Bu haftada Ufuk çeşidinde embriyo gelişimi görülmez iken; Meriç çeşidinde bu oran %46,67'ye yükselmiştir. Sedir çeşidi diğer çeşitler arasında en yüksek embriyo oluşum oranına sahip olurken, bir önceki haftaya göre embriyo oluşum oranı %164,29'a düşmüştür. Toplamda %59,29 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir.

Kasım ayının son haftasına kadar bitkiler kültüre alınabilmiş ve daha sonra sera içerisinde bitkilerin sökümü gerçekleşmiştir. Son üç haftada Sedir çeşidinden alınabilen eksplant sayısında düşüş gözlemlenmiştir. Son hafta sıcaklık verilerine göre maksimum sıcaklık değeri oldukça artmış 54,85 °C'ye ulaşmıştır. Minimum sıcaklık değeri ise denemeler boyunca kaydedilen en düşük sıcaklık değerine ulaşmış olup 17,11 °C olarak belirlenmiştir. Maksimum ve minimum sıcaklık değerleri arasındaki fark yaklaşık olarak 38 °C'ye çıkmıştır. Ufuk çeşidinde görülen en yüksek embriyo oluşum oranına (%350,00) ulaşılmıştır. Meriç ve Sedir çeşitlerinde ise embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir.

Ufuk çeşidi bir önceki sezonda görüldüğü gibi yüksek sıcaklığa olumlu tepki vermiştir. 2019 Güz sezonunda genel olarak ölçülen bütün sıcaklık seviyeleri oldukça yüksek olarak belirlenmiştir. Ufuk çeşidinde bahar dönemindeki kadar yüksek oranda embriyo elde edilmesinde ilk 6 hafta boyunca embriyo gözlenmiştir. Ancak son denemede artış olması bu çeşitte kısa gün koşullarında embriyogenesis oluşumunun artabileceğini de düşündürmektedir. Meriç çeşidinde de 6. haftadan sonra genel olarak embriyo oluşumu artış göstermiştir. Bu çeşit en düşük sıcaklık koşullarının yaşandığı 8. haftada (ort. 23,53 °C) %6,00 oranında embriyo oluşumu gerçekleştirirken, ortalama sıcaklığın 24,78 °C olduğu haftada embriyo oluşum oranı %31,11 olarak bulunmuştur. Bu çeşitte embriyo oluşumuna bu sezonda ovaryum sera içi sıcaklığının net bir şekilde etkisi olduğu düşünülmemektedir.

Sedir çeşidinde 1., 3. ve 4. haftalarda yüksek oranlarda embriyo oluşumu saptanırken, 5. haftadan 8. haftaya kadar bu oranlar düşük seviyelerde seyretmiştir.

Sekizinci ve 9. haftalarda bir anda yükselen embriyo oluşumu, 10. haftada hiç gözlenmemiştir. Sekizinci haftada yaşanan ani sıcaklık düşüşü embriyo oluşumunu uyarmış olabilir. Ancak bu çeşit bir önceki sezonda yüksek sıcaklıklara çok da olumlu bir tepki vermemiştir. 2019 Bahar sezonunda en yüksek embriyo oluşturduğu sıcaklık seviyeleri yaklaşık minimum 10 °C, ortalama 18 °C ve maksimum 29 °C olarak bulunmuştur. Aynı sıcaklık seviyeleri bu sezonda yaşanmamış ve genel olarak bütün ölçüm değerlerinde mevsim yüksek seyretmiştir. Birinci sezonda elde edilen embriyo oluşum oranları ikinci sezonda oldukça düşmüş ve daha düşük oranlarda embriyo oluşmuştur. Mevsim ortalamasının yüksek seyretmesi bu çeşidin embriyo oluşum oranını olumsuz etkilemiş olabilir. Aynı durum Meriç ve Ufuk çeşitlerinde de görülmektedir.

2019 Bahar sezonunun son döneminde yaşanan sıcaklık stresinden 2019 Güz sezonunda daha yüksek oranda sıcaklık stresi yaşanmıştır. Ancak çiçek dökümleri gerçekleşen Sedir ve Meriç çeşitlerinde bu sezonda çiçek dökümü gerçekleşmemiştir. O dönemde gerçekleşen çiçek dökümü ıslah seralarında uygulanan gübreleme programından da kaynaklı olabileceği konusunda bizi düşündürmüştür. Özellikle son dönemde donör bitkiler dışında serada bulunan diğer bitkilerin tohumluk amacı ile kullanılması ve meyve tutumundan sonra tohumu alınacak meyvelerin olgunlaşmasını hızlandırıcı bir gübreleme programı uygulanması çiçek dökümlerine sebep olabilir.

4.2.4.2. Sera içi sıcaklığın bitki oluşum oranı üzerine etkisi

Donör bitkinin yetiştirme koşullarındaki stres faktörünün ovaryumdan gynogenesis yolu ile gelişen embriyolar üzerine etkili olduğu düşünülmektedir. Özellikle sera içi sıcaklık faktöründen genel anlamda etkilendiği görülmüştür. Ancak sıcaklık tek başına belirleyici bir faktör olarak bulunmamıştır. Stres etmeninin ortadan kaldırılmasına rağmen, bitkinin belirli bir süre daha olumsuz tepki verebileceği görülmüştür. Stres etmeninin genel anlamda embriyo oluşumunu olumsuz etkilediği düşünülmektedir. Çeşide göre farklı tepkilerin de gözlemlenebileceği söylenebilir. 2019 Bahar döneminde genel anlamda daha düşük sıcaklık koşulları tespit edilmiş olup o dönemde yaşanan koşulların embriyo oluşumu için daha uygun koşullar olabileceği kanısına varılmıştır. 2019 Güz döneminde Ufuk çeşidinden 154 adet, Meriç'ten 73 adet ve Sedir'den 399 adet embriyo olmak üzere toplamda 626 adet embriyo elde edilmiştir (Çizelge 4.4).

Donör bitkinin ovaryumlarının sera koşullarındaki gelişim sıcaklıklarının gynogenesis yolu ile haploid embriyo ve bitki eldesine etkisi üzerine yapılan değerlendirmede, embriyo oluşumunda sıcaklığın genel anlamda etkili bir faktör olduğu görülmüştür. 2019 Bahar sezonuna göre oldukça yüksek oranda embriyo ve bitki eldesine ulaşılrken, 2019 Güz döneminde bu oran oldukça düşmüştür. Özellikle bitki eldesinde çok fazla düşüş görülmüştür. Elde edilen embriyoların bitkiye dönüşme oranları ise oldukça sınırlı kalmıştır. Tüm çeşitlerden toplamda 62 adet bitki gelişmiş olup, yüksek sıcaklık koşullarında yetişen donör bitkilerin embriyodan bitkiye dönüşme kabiliyetlerinin de düştüğü görülmüştür. Kültüre alınacak ovaryumun donör bitki üzerindeki gelişme periyodu süresince bir haftalık sera içi sıcaklığı kayıt altına alınarak değerlendirme yapılan çalışmada, 2019 Güz sezonunda kültüre alınan ovaryum sayısına göre elde edilen bitki sayısı bu başlık altında değerlendirilmiştir.

İlk haftaki sıcaklık verilerine göre ortalama sıcaklık 28,74 °C olarak ölçülmüştür (Şekil 4.14). Maksimum sıcaklık değeri 41,67 °C, minimum sıcaklık değeri ortalaması

ise 25,13 °C'dir. Sedir eşidinde %46,67 oranında bitki gelişmiştir (şekil 4.9). Diğer eşitler arasında bu haftaki en yüksek bitki eldesi (14 adet) bu çeşitte gerçekleşmiştir. Ufuk eşidinde ise sadece 1 adet bitki gelişimi gözlemlenirken, Meriç eşidinde hiç bitki elde edilmemiştir. Tüm çeşitlerden toplamda elde edilen bitki oranı %16,67 olarak hesaplanmıştır. Eylül ayının sonu ekim ayının başına kayan ikinci haftada donör bitkinin sera içi sıcaklıkları, 25,17 °C (min.), 27,56 °C (ort.), 41,78 °C (mak.)'dir. Bu haftada Sedir ve Meriç eşitlerinde bitki elde edilmemiştir. Ufuk eşidinde ise %8,62 (5 adet) oranında bitki elde edilmiştir. Bu haftada sıcaklıklar bir önceki haftaya göre çok fazla değişmemesine rağmen bitki eldesi oldukça sınırlı kalmıştır.

Maksimum sıcaklığın 42,95 °C'ye yükseldiği, ortalama sıcaklığın 26,55 °C ve minimum sıcaklığın 23,01 °C'ye düştüğü hafta olan üçüncü haftada Sedir eşidinde elde edilen bitki oranında (%66,67) artış yaşanmıştır. Bu oran diğer çeşitler arasında elde edilen en yüksek oran olarak belirlenmiştir. Toplamda 32 adet bitki elde edilmiştir. Ufuk eşidi ise %4,17 (2 adet) oranında bitki oluşturarak ikinci sırada en yüksek elde edilen bitki oranına sahip olmuştur. Meriç eşidinde ilk iki haftada olduğu gibi yine bitki oluşumu gerçekleşmemiştir. Dördüncü haftada ise ortalama sıcaklığ değerinde bir önceki haftaya göre yaklaşık 1,5 °C'lik bir artış saptanmıştır. Sedir çeşidinden gelişen bitki oranında denemeler boyunca görülen en yüksek değere ulaşılmıştır. Bunun yanı sıra tüm haftalar içerisinde tüm çeşitler arasında elde edilen en yüksek değerde bitki bu haftada Sedir eşidinde saptanmıştır. Bu haftada Meriç eşidinde %7,32 oranında bitki elde edilirken, Ufuk eşidinde hiç bitki gelişimi gerçekleşmemiştir. Tüm çeşitlerden toplamda %30,25 oranında bitki elde edilmiştir.

25.10.2019 tarihinde kurulan denemede kullanılan ovaryumların sera içi ortalama sıcaklığı 26,31 °C olarak bulunmuştur. Ancak tüm çeşitlerden bitki gelişimi hiç olmamıştır. Sıcaklığın bir düşüp, bir yükselmesinin bunda etkili olabileceği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra sera içinde karşılaşılan olumsuz bir faktörün de etkili olabileceği düşünülmektedir. Bir sonraki haftada da Meriç ve Sedir çeşitlerinden yine hiç bitki gelişimi gerçekleşmemiştir. Ufuk çeşidinden de %2,22 oranında (1 adet) bitki elde edilerek sınırlı bir bitki oranı elde edilmiştir. Sıcaklığ bu hafta da minimum ve ortalama olarak sıcaklığ değerlerinin sırasıyla, 20,58 °C ve 24,78 °C olduğu görülmüş olup, bir önceki haftaya göre bu değerlerin düştüğü tespit edilmiştir. Sıcaklığ seviyesinin düşmesinin de bitki oluşumunu olumsuz etkilediği görülmüştür.

Kasım ayının ilk haftası sera içi sıcaklığ ölçümleri minimum, ortalama ve maksimum olarak sırasıyla; 21,75 °C, 25,54 °C ve 39,27 °C'dir. Bir nceki haftaya göre ortalama ve minimum sıcaklığ seviyelerinde artış görülmüştür. Bu haftada Meriç ve Sedir çeşitlerinden bitki elde edilmiş olup, Ufuk çeşidinden hiç bitki elde edilememiştir. Meriç çeşidinden %17,50 oranında bitki eldesi gerçekleşirken bu oran Ufuk eşidinde %5,00 olarak tespit edilmiştir. Sekizinci haftada ise sera içi sıcaklıklarında tekrar bir düşüş yaşanarak, denemeler boyunca ortalama olarak en düşük sıcaklığ seviyesine (23,53 °C) ulaşılmıştır. En yüksek bitki eldesi bu haftada Sedir eşidinde (%54,29) bulunmuştur. Ufuk ve Meriç eşitlerinde bitki gelişimi gerçekleşmemiştir. Bu haftada kültüre alınan toplam ovaryum sayısına göre bitki eldesi oranı %15,70'tir.

22.11.2019 tarihinde kültüre alınan ovaryumların sera içi maksimum sıcaklığ 48,07 °C olarak ölçülmüştür. Bu yükselmenin aksine minimum sıcaklığ seviyesi de 17,70 °C olarak bulunmuştur. Meriç ve Sedir eşitlerinde bitki elde edilirken, bitki eldesi oranı

açısından bu çeşitlerin başarısı sırasıyla %17,78 ve %64,29 olarak bulunmuştur. Ufuk çeşidinde bir önceki haftada olduğu gibi hiç değişim olmamıştır. Tüm çeşitlerden bu haftada toplamda 26 adet bitki (%23,01) elde edilmiştir. Son denemeye bakıldığında ise; sera içi sıcaklık düzeylerinde ortalama ve maksimum değerlerde yüksek bir artış görülmüştür. Denemeler boyunca en yüksek seviyeye ulaşılmıştır. Son iki haftada maksimum sıcaklık seviyesindeki artışın sebebi, embriyo eldesinde de anlatıldığı gibi sera içi ısıtma ve donör bitkilerin çevresindeki bitki yoğunluğunun azalması olarak söylenebilir. Onuncu haftada sadece Ufuk çeşidinden %18,18 oranında bitki elde edilmiştir. Meriç ve Sedir çeşitlerinde bitkiye rastlanmamıştır.

Araştırmamızın bu döneminde gynogenesis yolu ile bitki eldesi oranına sıcaklığın etkili bir faktör olduğu görülmüş olup, çeşitlerin farklı sıcaklık seviyelerine farklı tepkiler verdiği tespit edilmiştir. Haftalık sıcaklık değişiminin mikro çapta etkili olabileceği, makro açıdan bakılırsa mevsimsel ortalama donör bitki yetiştirme sıcaklığının yüksek olmasının, embriyo indüksiyon ve bitki oluşumuna olumsuz bir etki yarattığı görülmektedir. Bahar döneminde oldukça yüksek olan bu oranlar güz döneminde oldukça sınırlı seviyelerdedir. Üç çeşitte de bitki eldesi oranları bir önceki sezona göre oldukça düşmüş olup, yine bitki eldesi oranı bakımından en iyi çeşit Sedir olarak belirlenmiştir. Sıcaklığın etkisi embriyo oluşumundaki paralellik doğrultusunda bitki oluşumunda da görülmüştür.

4.2.4.3. Sera içi sıcaklığın embriyodan bitkiye dönüşüm oranı üzerine etkisi

Donör bitkiden kültüre alınacak olan ovaryumların gelişim sıcaklıklarının embriyo indüksiyon ve bitki oluşturma yüzdesi açısından önemli bir faktör olduğu, ancak uzun vadede donör bitkinin mevsim ortalamasına göre tepki oranının daha fazla olduğu çalışmamızda da açıkça görülmektedir. Bitki eldesi oranları daha önceden de belirtildiği üzere kültüre alınan ovaryumlara göre hesaplanmıştır. Ancak embriyodan bitkiye dönüşüm oranı elde edilen embriyo sayısına göre hesap edilmiş ve bu başlık altında değerlendirme yapılmıştır. Elde edilen embriyodan bitki oluşum oranları donör bitkiden alınan ovaryumların sera içi sıcaklıkları birlikte değerlendirilmiş olup, donör bitkiden gelişen ovaryumların gelişme sıcaklığının embriyodan bitki eldesi etkisi üzerine değinilmiştir.

Çalışmamızda ilk hafta verilerine göre ovaryumların sera içi sıcaklığı ortalama olarak 28,74 °C bulunmuş olup, maksimum sıcaklık 41,67 °C olarak kayıt altına alınmıştır (Şekil 4.14). En yüksek embriyo oluşumu (56 adet) Sedir çeşidinde gerçekleşirken, bu embriyoların %25,00'ı bitkiye dönüşmüştür (Şekil 4.10). İkinci olarak en yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm %8,33 oranıyla Ufuk çeşidinde gerçekleşmiştir. Meriç çeşidinde 2 adet embriyo oluşmasına rağmen bitki gelişimi gerçekleşmemiştir. Tüm çeşitlerden ortalama %21,43 oranında embriyo rejenerasyonu kayıt altına alınmıştır. İkinci hafta sıcaklık koşulları ile ilk hafta sıcaklık koşulları arasında çok fazla bir değişim olmamasına rağmen, ilk hafta bitkiye dönüşüm oranı en yüksek olan Sedir çeşidinde hiç embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. En yüksek bitkiye dönüşüm ise Ufuk çeşidinde %19,23 oranında görülmüştür. Meriç çeşidinde yine bu haftada da embriyodan bitkiye dönüşüm görülmemiştir.

Ortalama olarak 26,55 °C sera içi sıcaklık ortalamasına sahip üçüncü hafta eksplantlarından gelişen embriyo sayısı toplamda 34 adet bulunmuş olup, embriyoların

bitkiye dönüşüm oranı %28,81 olarak belirlenmiştir. Minimum sıcaklık değerinin yaklaşık olarak bir önceki haftaya göre 2 °C düştüğü bu haftada en yüksek bitki dönüşümü Sedir çeşidinde %29,09 oranında gerçekleşirken, Ufuk çeşidinde de %25,00 oranında embriyodan bitkiye dönüşüm olmuştur. Meriç çeşidinde ise hiç embriyo oluşumu gerçekleşmediği için rejenerasyon da söz konusu olmamıştır. Dördüncü hafta ovaryumlarının sera içi sıcaklığı ilk hafta ile yaklaşık olarak benzer derecelerde olurken, bitki dönüşüm oranları çeşide göre farklılık göstermiştir. İlk hafta embriyo sayısı ve oluşan bitki sayısı düşük olan Meriç çeşidinde, dördüncü haftada %27,27 oranında embriyo rejenerasyonu gerçekleşmiştir. Ufuk çeşidinde ise bu haftada bitki bulgusu tespit edilememiştir. Sedir çeşidinde ise elde edilen 83 adet embriyodan 33'ü bitkiye dönüşerek, %39,76 embriyodan bitkiye dönüşüm oranı elde edilmiştir. 25.10.2019 tarihinde kullanılan ovaryumların sera içi ortalama sıcaklık dördüncü haftaya göre 2 °C düşmüştür. Toplamda 14 adet embriyo elde edilmesine rağmen, tüm çeşitlerden hiç bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. Altıncı hafta sıcaklık koşulları ortalama olarak yaklaşık 2 °C düşmüştür. Embriyo oluşumu açısından tüm çeşitlerden toplamda 39 adet embriyo elde edilmesine rağmen embriyo rejenerasyonu sonucu sadece 1 adet bitki elde edilmiştir (%2,56). Elde edilen bitki Ufuk çeşidine ait olup, embriyodan elde edilen bitki oranı %5,88 olarak bulunmuştur. Meriç ve Sedir çeşitlerinden bitki oluşmamıştır.

Ortalama ovaryum sera içi sıcaklıklarının bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 1 °C arttığı yedinci haftada toplamda 25 adet embriyo oluşmuş olup, embriyonun bitkiye dönüşüm oranı %36,00'dır. Embriyoların bitki oluşum kabiliyeti açısından çeşitler karşılaştırıldığında ise bir önceki hafta bitki elde edilemeyen Sedir ve Meriç çeşitlerinde bu haftada bitki oluştuğu, tam aksine Ufuk çeşidinde hiç bitki oluşmadığı görülmüştür. Sedir çeşidinde %40,00, Meriç çeşidinde %35,00 oranında embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir. Haftalar arasında sıcaklık dereceleri açısından çok fazla bir fark olmamasına rağmen çeşitlere göre farklı oranlarda embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşmiş olması, donör bitki üzerinde bulunan ovaryumun sera içi sıcaklığının gynogenesisi çok fazla etkileyen bir etmen olmadığına işaret etmektedir. 15.11.2019 tarihinde ise donör bitkiden kültüre alınan ovaryumların bitki üzerindeki ortalama ve maksimum sera içi sıcaklıkları denemeler boyunca kayıt altına alınan en düşük sıcaklıklar olarak belirlenmiştir. Ortalama sıcaklık 23,53 °C olarak kaydedilmiştir. Bu haftada tüm çeşitlerden 87 adet embriyo elde edilmesine rağmen en yüksek embriyo sayısı (83 adet) Sedir çeşidinde olmuştur. Embriyodan bitkiye dönüşüm oranı ise %22,89 olarak hesaplanmıştır. Ufuk ve Meriç çeşitlerinde ise bitki oluşumu gerçekleşmemiştir. Dokuzuncu haftada ise maksimum ovaryum sera içi sıcaklığında yüksek bir artış gerçekleşmiştir. Maksimum kaydedilen sıcaklık bir önceki hafta ile karşılaştırıldığında 37,18 °C'den 48,07 °C'ye yükselmiştir. Ancak minimum sıcaklıklar ise son iki haftada kayıt altına alınan en düşük seviyelere ulaşmıştır. Bu haftada Ufuk çeşidinden bir önceki haftada olduğu gibi bitki dönüşümü saptanmamış olup, Meriç ve Sedir çeşitlerinde sırası ile bitki dönüşüm oranı %38,10 ve %39,13 olarak bulunmuştur. Toplamda 26 adet bitki gelişmiştir (%38,81). Son denemede maksimum ovaryum sera içi sıcaklığı 54,85 °C olarak belirlenmiştir. Bundan önceki son üç haftada bitki oluşumu gerçekleşmeyen Ufuk çeşidinde bu haftada %5,19 oranında bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir. Meriç ve Sedir çeşitlerinde ise hiç embriyo bulgusuna rastlanmamıştır.

Çalışmamızda elde edilen embriyolardan bitkiye dönüşüm oranları incelendiğinde, donör bitki üzerinde iken kültüre alınacak ovaryumların sera içi

sıcaklığının embriyodan bitkiye dönüşüm oranı üzerine çok bir etkisi olmadığı görülmüştür. 2019 Bahar döneminde de embriyodan bitkiye dönüşüm-sıcaklık değerlendirmelerinde de buna benzer bir sonuca ulaşılmıştır. Aynı sıcaklık derecelerinde farklı çeşitlerin, farklı tepkiler verdiği saptanmıştır. Bunun yanı sıra maksimum yüksek sıcaklıkların yaşandığı son iki haftada gelişen bazı çeşitlere ait ovaryumlarda embriyodan bitki farklılaşması açısından farklı tepkiler verdiği görülmüş olup, ilk hafta yüksek rejenerasyon oranı görülebiliyor iken, diğer hafta hiç embriyo rejenere olmadığı bulgusuna ulaşılmıştır. Bu da donör bitkinin sera içi sıcaklığının embriyoların bitkiye dönüşümüne çok bir etkisinin olmadığını açıkça göstermektedir.

4.3. 2020 Yılı Bahar Sezonu Hıyarda Ovaryum Kültürü Yöntemi ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Bulgular

4.3.1. Donör bitki yaşının hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi

2020 Bahar sezonunda donör hıyar bitkileri 12.02.2020 tarihinde seralara dikilmiş olup, 20.03.2020 tarihinde ilk çiçekler gözlenmiş ve ilk deneme kurulmuştur. Ufuk çeşidinden 551 adet, Meriç çeşidinden 578 adet, Sedir çeşidinden 583 adet olmak üzere toplamda 1712 adet ovaryum kültüre alınmıştır.

Donör bitkilerden her hafta bir defa olmak üzere 13 defa deneme kurulmuştur. Çeşitlere göre kültüre alınan ovaryum sayısı, embriyo sayısı ve bitki sayıları Çizelge 4.5'te verilmiştir. Bu sayılara göre hesaplanan embriyo oluşum oranları (Şekil 4.15), bitki oluşum oranları (Şekil 4.16) ve elde edilen embriyo sayısına göre bitki dönüşüm oranları (Şekil 4.17) alt başlıklarda verilmiştir. 2020 Bahar sezonu donör bitkinin yaşının gynogenesis üzerine etkisi aşağıdaki başlıklarda detaylı bir şekilde incelenmiştir.

Çizelge 4.5. 2020 Bahar sezonu haftalık kültüre alınan ovaryum sayıları, gelişen embriyo ve bitki sayıları

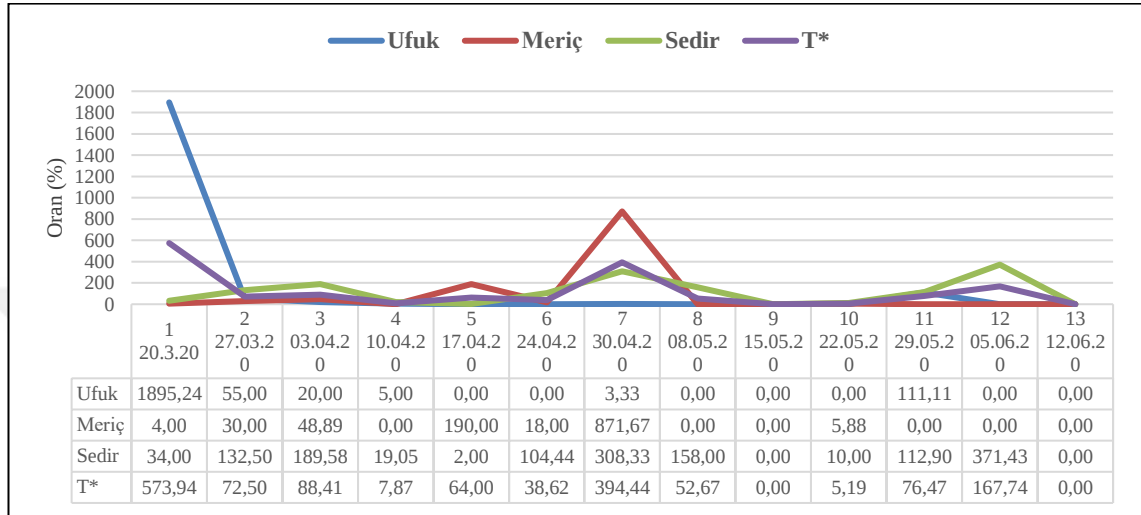
Hafta Tarih		1 20.03	2 27.03	3 03.04	4 10.04	5 17.04	6 24.04	7 30.04	8 08.05	9 15.05	10 22.05	11 29.05	12 05.06	13 12.06
Çeşitler														
Ufuk	O.S.	42	40	45	40	50	50	60	50	50	53	27	24	20
	E.S.	796	22	9	2	0	0	2	0	0	0	30	0	0
	B.S.	41	5	2	1	0	0	0	0	0	0	22	0	0
Meriç	O.S.	50	40	45	45	50	50	60	50	50	51	27	27	33
	E.S.	2	12	22	0	95	9	523	0	0	3	0	0	0
	B.S.	0	1	14	0	5	4	92	0	0	0	0	0	0
Sedir	O.S.	50	40	48	42	50	45	60	50	50	50	31	42	25
	E.S.	17	53	91	8	1	47	185	79	0	5	35	156	0
	B.S.	3	11	72	3	1	13	41	9	0	2	0	58	0
Toplam	O.S.	142	120	138	127	150	145	180	150	150	154	85	93	78
	E.S.	815	87	122	10	96	56	710	79	0	8	65	156	0
	B.S.	44	17	88	4	6	17	133	9	0	2	22	58	0

Not: O.S.; Ovaryum Sayısı (Adet), E.S.; Embriyo Sayısı (Adet), B.S.; Bitki Sayısı (Adet)

4.3.1.1. Donör bitki yaşının embriyo oluşumu üzerine etkisi

Çalışmada donör bitki yaşının embriyo oluşumu üzerine 2020 Bahar sezonu değerlendirilecek olunursa, çeşitlerin farklı dönemlerde farklı tepkiler verebileceği görülmüştür. Ufuk çeşidinden ilk hafta kültüre alınan ovaryumlardan %1895,24 oranında embriyo elde edilirken, Meriç ve Sedir çeşitlerinde bu oran sırasıyla %4,00 ve %34,00

olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.15). Ufuk çeşidinde tespit edilen bu oran diğer haftalarla kıyaslandığında hem kendi içerisinde hem de diğer çeşitler içerisinde en yüksek orandır. Elde edilen embriyoların büyük bir oranı, direkt embriyogenesis yolu ile gelişmiş bitki dokusunun kallusa dönüşmesi ile elde edilmiştir. Bu hafta toplamda 142 tane ovaryum kültüre alınmış olup, elde edilen embriyo sayısı 815 adettir (Çizelge 4.5). Tüm çeşitlerden toplamda kültüre alınan ovaryum sayısına göre ortalama olarak %573,94 oranında embriyo gelişmiştir.



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo oluşum oranı

Şekil 4.15. 2020 Bahar sezonu donör bitki yaşına göre embriyo oluşum oranları (%)

27.03.2020 tarihinde kurulan denemelerde tüm çeşitlerden ortalama olarak %72,50 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Bir önceki haftaya göre bu haftada Ufuk çeşidinde gözlemlenen ani düşüş (%55,00) ortalama embriyo oluşum oranını etkilemiştir. En yüksek embriyo oluşum oranı %132,50 (53 adet) ile Sedir çeşidinde gözlemlenirken, en düşük embriyo oluşumu %30,00 oran ile Meriç çeşidinde tespit edilmiştir.

Nisanın ilk haftasında kültüre alınan ovaryumlardan elde edilen en yüksek embriyo oranı bir önceki haftada da olduğu gibi yine Sedir çeşidinde, %189,58 oranında gözlemlenmiştir. Ufuk çeşidinde ise, geçen haftalara göre embriyo eldesinde düşüşler devam etmiştir. Geçen iki haftaya göre Meriç çeşidi %48,89 oranında embriyo eldesi ile Ufuk çeşidinin önüne geçmiştir. Toplamda bu haftada 138 adet ovaryum kültüre alınmış olup, bunlardan ortalama olarak %88,41 oranında embriyo oluşumuna rastlanmıştır.

Dört hafta yaşında olan donör bitkilerden alınan eksplantların deneme sonuçlarına bakıldığında en iyi yanıt %19,05 oranı ile Sedir çeşidinde tespit edilirken, geçen üç haftaya göre bu haftada ortalama embriyo oluşum oranlarında ciddi bir düşüş (%7,87) görülmüştür. Bu düşüşün çeşidin yaşadığı bir stres etmenine, gerekse kültüre alındıktan sonra gelişen farklı bir etmene bağlı olabileceği düşünülmektedir. Meriç çeşidinde hiç embriyo bulgusuna rastlanmamış olup, Ufuk çeşidinde de oldukça sınırlı oranda (%5,00) embriyo oluşumu gerçekleşmiştir.

17.04.2020 tarihinde beş hafta yaşında olan donör bitkilerden alınan ovaryumların embriyo oluşturma yüzdesi tüm çeşitlerde ortalama olarak %64,00 oranında bulunmuştur. Meriç çeşidi %190,00 oranı ile geçen diğer haftalara göre bu haftada tüm çeşitler arasında ilk defa en yüksek oranı veren çeşit olmuştur. Aynı zamanda 13 hafta ayrı ayrı kıyaslandığında, Meriç çeşidinde en yüksek ikinci embriyo eldesi 95 adet embriyo (%190,00) ile bu haftada saptanmıştır. Ufuk çeşidinde hiç embriyo oluşmazken, Sedir çeşidinde ise kültüre alınan 50 ovaryumdan sadece 1 adet embriyo oluşmuştur.

2020 Nisan ayının üçüncü haftasında altı hafta yaşında olan donör bitkilerin embriyo oluşturma başarısı Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerine göre sırasıyla %0,00; %18,00 ve %104,44'tür. Geçen iki haftada düşüşler yaşayan Sedir çeşidinde en yüksek oranda embriyo eldesi gerçekleşirken, Meriç çeşidinde bu oran bir önceki haftaya göre düşmüştür. Ortalama olarak tüm çeşitlerden elde edilen başarı oranı ise %38,62 oranında tespit edilmiştir.

30.04.2020 tarihli deneme sonuçlarına göre embriyo oluşumlarında ciddi bir yükseliş gözlenmiştir. Tüm denemelerdeki ve hatta şu ana kadar yapılmış tüm sezonlardaki en yüksek embriyo sayısına (523 adet) ulaşan Meriç çeşidinde %871,67 oranında embriyo saptanmıştır. İlk denemede Ufuk çeşidinde gelişmiş olan embriyojenik kallusun bu haftada Meriç çeşidinde gelişerek bu artışa neden olduğu düşünülmektedir. Sedir çeşidinde de diğer haftalara oranla en yüksek ikinci embriyo oluşum oranı tespit edilmiştir. Ufuk çeşidinde ise 2 adet embriyo elde edilmiştir. Ortalama olarak %394,00 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiş olup, bu oranla bu sezonda elde edilen haftalar arasındaki en yüksek seviyeye ulaşılmıştır.

Mayıs ayının ilk haftasında kurulan denemelere göre %158,00 oranı ile tek embriyo oluşumu Sedir çeşidinde gerçekleşmiştir. Toplam kültüre alınan 150 adet ovaryum baz alındığında ortalama embriyo oluşum oranı %52,67 olarak bulunmuştur. Bir önceki haftada oldukça yüksek oranda embriyo elde edilen Meriç çeşidinde bu haftadan sonra sadece onuncu haftada oldukça sınırlı bir oranda embriyo elde edilmiş olup, diğer haftalarda embriyo bulgusuna rastlanmamıştır. Bitki yaşının bu çeşit üzerine doğrudan bir etkisi olduğu düşünülmektedir. 15.05.2020 tarihli denemede hiçbir çeşitte embriyo eldesi gerçekleşmemiştir.

On hafta yaşında olan donör bitkilerden alınan eksplantların embriyo başarı yüzdelere bakıldığında bir önceki haftaya göre çok bariz bir farklılık görülmemiş olup, sadece Sedir çeşidinde %10,00, Meriç çeşidinde ise %5,88 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Tüm çeşitlerden toplamda 8 adet embriyo elde edilmiştir.

Mayıs haftasının son haftasına denk gelen denemede ise, Ufuk ve Sedir çeşitlerinde ciddi bir yükseliş gözlenerek, sırasıyla %111,11 ve %112,90 oranlarında embriyo saptanmıştır. Ufuk çeşidinde elde edilen en yüksek ikinci embriyo eldesi bu haftada tespit edilmiştir. Tüm çeşitlerde bu haftada ortalama olarak %76,47 oranında (65 adet) embriyo elde edilmiştir.

Haziran ayının ilk haftasında 12 hafta yaşında olan bitkilerden alınan örneklerle göre embriyo oluşumu sadece Sedir çeşidinde gerçekleşmiş olup, diğer çeşitlerde embriyo oluşmamıştır. Sedir çeşidinde elde edilen bu oranın (%371,43), Sedir çeşidinin tüm denemelerdeki başarı yüzdeleri arasında tespit edilen en yüksek oran olduğu

görülmüştür. Toplam kültüre alınan ovaryum sayısına göre embriyo oluşturma başarı oranı ise %167,74'tür. Haziran ayının ikinci haftasında kurulan denemede ise hiçbir çeşitte embriyo bulgusuna rastlanmamıştır.

2019 Bahar sezonunda toplamda 13 haftalık değerlendirmeye göre çeşitlerin farklı dönemlerde farklı tepkiler verdiği gözlenmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde Ufuk çeşidinin donör bitki yaş değişiminden etkilendiği, ancak embriyo oluşturmada doğrudan donör bitki yaşına bağlamanın doğru olmadığı düşünülmektedir. İlk dört haftada embriyo oluşumunda giderek düşen bir ivme görüldüğü, ancak bu ivmenin 11. haftada tekrar yükselişe geçtiği ve son iki haftada tekrar düştüğü görülmüştür. Uygun eksplant kültüre alınabildiği takdirde embriyo oluşumunda artışlar olabileceği yorumlanabileceği gibi, donör bitkinin farklı dönemlerde durgunluk evresine geçtiği de yorumlanabilir. Hıyar bitkisinin üretim amaçlı yetiştirildiği zaman bitkinin durgunluk dönemlerinin olduğu, bu durgunluk döneminin belirli bir zamandan sonra tekrar aktif döneme geçtiği gözlenmiştir. Çeşit açısından bu durgunluk dönemlerinin farklılık gösterebileceği, bunun yanı sıra gynogenesis çalışmalarına yanıt verme açısından da bitkinin fizyolojik olarak yapısının da etken olabileceği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra Ufuk çeşidinde geçen sezonlarda ovaryumun sera içinde gelişimi esnasında yaşadığı artan sıcaklık stresinin olumlu etki yarattığı tespit edilmiştir. Bu sebeple bu sezonda 10. haftadaki yüksek sıcaklığın embriyo oluşumunu tetiklediği düşünülmektedir.

Meriç çeşidinde genel bir değerlendirme yapılacak olunursa nisan ayı sonuna kadar tepki verebildiği görülmüştür. Buradan da anlaşılabileceği üzere donör bitki yaşının bu sezonda etkili bir faktör olduğu düşündürmektedir. Ancak 2019 Güz sezonu bulgularına göre bu çeşitte kasım ayından itibaren embriyo oluşum oranlarında artış saptanmıştır. Bu sonuç daha çok bu çeşidin yetiştiricilik esnasında fotoperiyottan daha çok etkilenen bir çeşit olduğu düşüncesini uyandırmaktadır. Ayrıca donör bitki üzerinde bulunan çiçek miktarının uzun gün koşullarında düştüğü, kısa gün koşullarında ise arttığı gözlenmiştir. Şu ana kadar değerlendirilen 2019 Bahar sezonunda da benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Bu sezonda da kısa gün koşullarında embriyo oranının yüksek olmuş olması bu çeşidin fotoperiyottan etkilendiğini ispatlar niteliktedir.

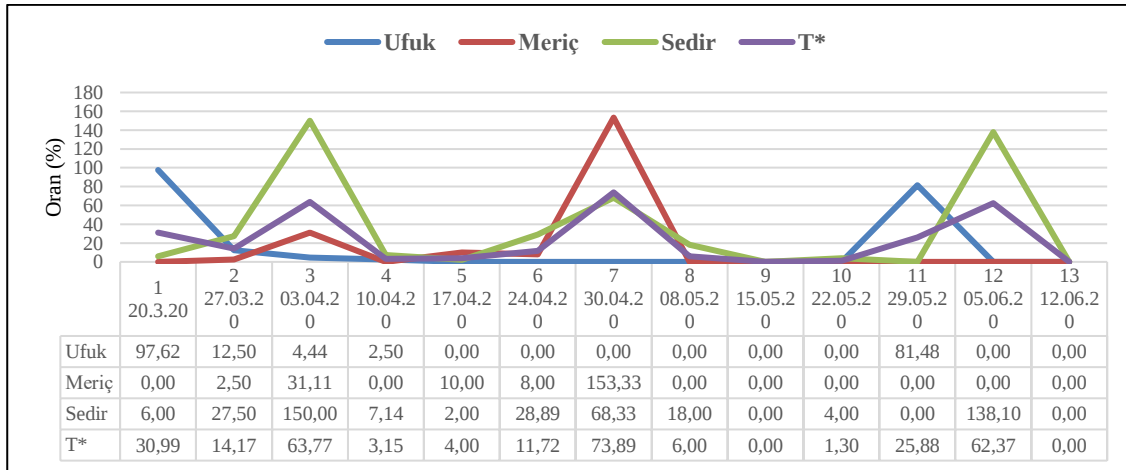
Sedir çeşidinde elde edilen embriyo oranları değerlendirildiğinde donör bitki yaşının etkili olabileceği düşünülmektedir. Ancak tek başına bitki yaşından etkilendiği söylemek doğru bir yorum olmaz. Çünkü 12. haftada tüm haftalarda elde edilen en yüksek oranda bitki eldesi gerçekleşmiştir. İlk 8 haftaya kadar bir artan, bir azalan oranda embriyo kesintisiz embriyo elde edilmiş olması bitki yaşının etkili olabileceği düşüncesini uyandırmaktadır. İlk iki sezonda da Sedir çeşidinde yaklaşık 4-5 hafta boyunca embriyo oluşumlarının artmış olduğu görülmüştür. Buna benzer sonucun burda da oluşmuş olması şu ana kadar kısmen bitki yaşının etkisi olduğunu göstermektedir. Ancak geçmiş sezonlarda da görüldüğü gibi ilerleyen haftalarda da embriyo oluşumları artmıştır. Bu da bitkinin fizyolojik aktivitesine bağlı bir durum olarak düşünülebilir. Bu çeşidin yetiştiricilik esnasında yaşadığı stres koşullarına çok hassas olduğu, bitkide büyüme ucu körelmesi olabildiği görülmüştür. Herhangi bir olumsuz etmene karşı bu bitkide görülen fizyolojik değişimlerin de embriyo eldesinde farklı sonuçlar elde etmeye neden olabileceği düşünülmektedir. Tüm kültüre alınan ovaryum sayılarına göre değerlendirilme yapıldığında, bitki yaşının kısmen etkili bir faktör olduğu görülmüştür. Ancak 11. ve 12. haftalarda tekrar artış yaşanması sadece bitki yaşına bağlı olarak yorum yapılmaması gerektiğini işaret etmektedir.

4.3.1.2. Donör bitki yaşının bitki oluşumu üzerine etkisi

Embriyo oluşumunun donör bitkinin yaşına çeşitlere göre değişmekle birlikte, 2019 Bahar sezonundaki gibi kısmen de olsa bağlı bir faktör olduğu bu sezonki çalışmamızda da saptanmıştır. Kültüre alınan ovaryum sayısına göre elde edilen bitki sayısının embriyo oluşum oranlarındaki gibi donör bitki yaşı ile bağlantılı olabileceği düşünülmüş ve bu bölümde değerlendirmesi yapılmıştır. Çalışmamıza göre bir hafta yaşında alınan örneklerden elde edilen bitki elde oranlarına bakıldığında, bitki oluşumu en fazla Ufuk çeşidinde (%97,62; 41 adet) görülürken, Sedir çeşidinde bu oran sadece %6,00 olarak tespit edilmiştir. Meriç çeşidinde ise bitki oluşumu gözlenmemiştir. Tüm çeşitlerden toplamda kültüre alınmış 142 adet ovaryumdan %30,99 oranında bitki gelişmiştir (Şekil 4.16).

27.03.2020 tarihinde kurulan deneme sonuçlarına göre bitki oluşturma oranı bakımından en iyi yanıt veren donör bitki çeşidi %27,50 oranı ile Sedir olarak belirlenmiştir. Ufuk çeşidi ise bu haftada ikinci olurken, %2,50 oranı ile Meriç çeşidinde 1 adet bitki oluşmuştur.

Nisan ayının ilk haftasında kültüre alınan ovaryumlardan toplamda 88 adet bitki gelişmiştir. Bu sonuç hafta bazında tüm çeşitlerde toplamda elde edilen en iyi ikinci sonuçtur. Oransal açıdan bitki eldesine bakıldığında ise en iyi yanıt %150,00 oranı ile Sedir çeşidinden alınmıştır. Sedir çeşidi açısından bu sezonda en iyi yanıt alınan hafta donör bitki yaşı 3 hafta yaşı olduğu hafta olarak belirlenmiştir. Meriç çeşidinde ise %31,11 oranında bitki eldesi oranı bulunurken, Ufuk çeşidinde ise bu oran geçen haftalara göre giderek düşmüş ve %4,44 seviyesine gerilemiştir. 10.04.2020 tarihli denemede ise tüm çeşitlerdeki bitki eldesi oranı çok sınırlı kalmıştır. Bu haftanın sonuçlarına göre Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinde sırasıyla %2,50, %0,00 ve %7,14 oranında bitki oluştuğu tespit edilmiştir. Bir sonraki hafta olan 17.04.2020 tarihli denemede ise Meriç çeşidinde biraz da olsa bir yükselme (%10,00) gözlenmeye başlamıştır. Ancak Ufuk çeşidinde hiç bitki elde edilemezken, Sedir çeşidinde sadece 1 adet bitki elde edilebilmiştir.



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen bitki oluşum oranı

Şekil 4.16. 2020 Bahar sezonu donör bitki yaşına göre bitki oluşum oranları (%)

24.04.2020 tarihinde altı hafta yaşında olan donör bitkilerin bitki elde oranlarına bakıldığında en yüksek oran %28,89 Sedir çeşidinde olmuştur. Ufuk çeşidinde 5. haftadaki gibi yine hiç bitki oluşumu gerçekleşmemiştir. Meriç çeşidinde ise yalnızca 4 adet bitki oluşmuştur (%8,00). Toplamda tüm çeşitlerden alınan 145 adet ovaryumdan sadece 17 adet bitki elde edilebilmiştir.

Yedi hafta yaşında olan donör bitkilerin bitki dönüşüm oranları Meriç ve Sedir çeşitlerinde artışa geçerek ortalama %73,89'a yükselmiştir. Tüm denemeler boyunca tüm çeşitlerde haftalık olarak kültüre alınan ovaryumlardan ortalama elde edilen en iyi bitki oranına bu haftada ulaşılmıştır. Meriç çeşidinde embriyo oluşum yüzdesine paralel olarak bitki oluşum yüzdesinde de ciddi bir yükseliş saptanmıştır. Diğer çeşitler arasında %153,33 oran ile en yüksek yanıt alınan çeşit olarak tespit edilmiştir. Sedir çeşidinde ise bitki eldesi oranı %68,33'tür. Ufuk çeşidinden yine hiç bitki bulgusuna rastlanmamıştır.

Mayıs ayının ilk haftasında kültüre alınan ovaryumlardan elde edilen bitki oranlarına bakıldığında Meriç çeşidi ani bir düşüş yaşamış ve hiç bitki elde edilememiştir. Sedir çeşidinde de bir önceki haftaya göre düşüş saptanırken, bitki eldesi oranı %18,00 olarak tespit edilmiştir. Ufuk çeşidinde bitki elde edilememiştir. Toplam bitki eldesi oranına bakıldığında ise %6,00 olarak tespit edilmiştir. 15.05.2020 tarihli denemede ise tüm çeşitlerde hiç bitki oluşumu gerçekleşmemiştir.

On hafta yaşında olan donör bitkilerden alınan örneklerle bakıldığında ise sadece Sedir çeşidinden 2 adet bitki elde edilebilmiştir. Mayıs ayının son haftasına gelen dönemde ise bitki eldesi oranı tüm çeşitlerden toplamda kültüre alınan ovaryum sayısına göre ortalama olarak %25,88 olarak tespit edilmiştir. Ufuk çeşidinde 6 haftadan sonra ilk defa bitkiye rastlanmıştır. Ufuk çeşidinde bitki eldesi oranı %81,48 olarak tespit edilmiş olup, tüm haftalar arasındaki ikinci en iyi sonuca ulaşılmıştır. Meriç ve Sedir çeşitlerinde ise bitki gelişimi gerçekleşmemiştir.

Haziran ayının ilk haftasında 12 haftalık olan donör bitkilerin bitki oluşturma yüzdeleri tüm çeşitlerde ortalama olarak %62,37 olarak bulunmuştur. Ufuk ve Meriç çeşitlerinde hiç bitki gelişimi görülmezken, Sedir çeşidinde tüm haftalar boyunca görülen ikinci en iyi oran düzeyi (%138,10) tespit edilmiştir. 13 hafta yaşında olan donör bitkilerden ise hiç bitki elde edilememiştir.

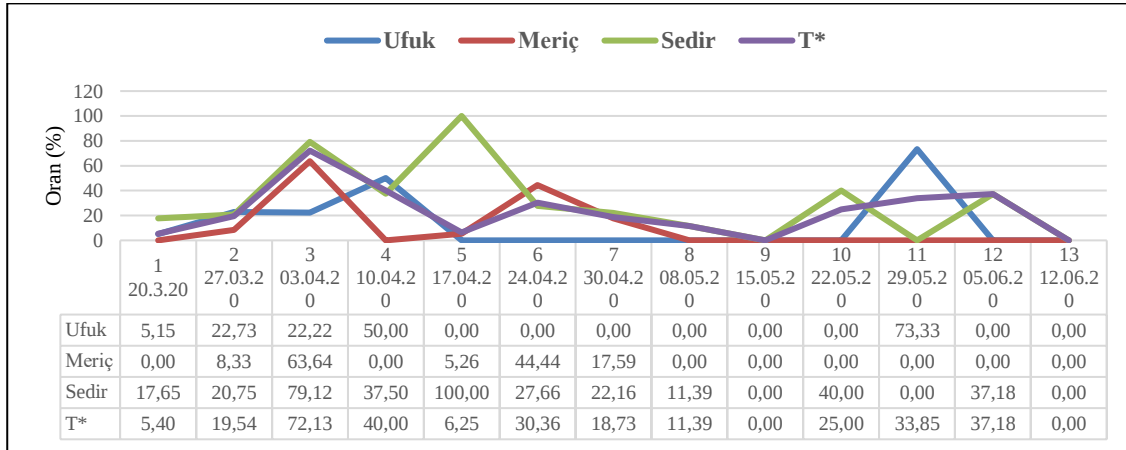
Çalışmamızda çeşitlerin bitki elde oranlarında farklı dönemlerde farklı tepkilerin alınabileceği görülmüştür. Donör bitki yaşının gynogenesis yolu ile bitki eldesini etkileyebilen bir etmen olarak düşünülebileceği gibi, doğrudan etkileyen bir etmen olmadığı da söylenebilir. İleri yaştaki donör bir bitkiden de çeşitlere de bağlı olarak, bitki elde edilebileceği çalışmamızda açıkça görülmektedir. Örneğin Ufuk çeşidinde 5. haftadan, 11. haftaya kadar hiç bitki elde edilemezken, 11. haftada bu çeşitte ikinci en iyi başarı oranı yakalanmıştır. Bu çeşidin 2019 ve 2020 sezonunda yüksek sıcaklıklara olumlu tepki verdiği görülmüştür. 10. haftada yaşanan ani sıcaklık artışı bu çeşidin bitki oluşturma yeteneğine de olumlu yansımıştır. Meriç çeşidinde ise mayıs ayından itibaren hiç bitki bulgusuna rastlanmamıştır. Bu çeşidin bitki yaşından etkilenebildiği düşünüleceği gibi, fotoperiyottan da etkilendiği düşünülmektedir. Sedir çeşidi ise istikrarlı bir bitki eldesi oranı göstermemiş olup, farklı dönemlerde farklı tepkiler vermiştir. Mayıs ayının ilk haftasına kadar geçen süreçte bu çeşitte hemen hemen her denemede bitki elde edilebiliyorken, mayıs ayının ikinci haftasından sonraki bazı haftalar

hiç bitki vermediği de görülmüştür. Bu çeşidin az da olsa donör bitki yaşından etkilendiği görülmektedir. Stres koşullarına hassas bir yapısı bulunan bu çeşidin olumsuz koşullarda bitki fizyolojisine bağlı olarak anormal sonuçlar doğurabileceği düşünülmektedir.

4.3.1.3. Donör bitki yaşının elde edilen embriyoya göre bitkiye dönüşüm oranları üzerine etkisi

Çalışmamızda kültüre alınan ovaryumların bitkiye dönüşme yetenekleri açısından değerlendirildiğinde farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Embriyo oluşum oranı yüksek olan çeşitlerin, embriyodan bitkiye dönüşüm oranlarının çok yüksek olmadığı saptanmıştır. İlk hafta tüm denemelerdeki en yüksek embriyo oranına sahip olan Ufuk çeşidinde embriyodan elde edilen bitki oranı %5,15 ile sınırlı kalmış olup, bu çeşit başarı oranı açısından ikinci sırada yer almıştır. Sedir çeşidi ise %17,65 oranla bu haftadaki en yüksek oranı veren çeşit olmuştur. Meriç çeşidinde ise elde edilen 2 adet embriyonun hiçbirisi bitkiye dönüşmemiştir. Ortalama embriyodan bitkiye rejenerasyon oranı ise tüm çeşitlerde %5,40 olarak bulunmuştur (Şekil 4.17).

Mart ayının son haftasına denk gelen 2 hafta yaşında olan donör bitki ovaryum örneklerinden ise ortalama olarak %19,54 oranında bitki oluşumu gerçekleşmiş olup, elde edilen 87 embriyodan 17 adet bitki elde edilmiştir. En yüksek oran %22,73 oranı ile Ufuk çeşidinde olmuştur. Sedir çeşidinde bu oran %20,75 iken; Meriç çeşidinde de %8,33'tür. 03.04.2020 tarihli denemede en iyi çeşit %79,12 ile Sedir çeşidi olmuştur. Bu oran hem kendi içerisinde hem de diğer çeşitler arasında tespit edilen en yüksek ikinci orandır. Bu haftada en yüksek ikinci embriyo rejenerasyon oranı ise Meriç çeşidinde saptanmıştır. Bu çeşitte 22 adet embriyodan 14 adet bitki gelişmiştir. Ufuk çeşidi ise bir önceki hafta ile ortalama olarak aynı rejenerasyon oranına sahip olmuştur. Tüm çeşitlerden toplamda tespit edilen embriyodan bitkiye dönüşüm oranı ise %72,13'tür.



T*: Tüm çeşitlerden toplam elde edilen embriyo sayısına göre bitkiye dönüşüm oranı

Şekil 4.17. 2020 Bahar sezonu donör bitki yaşına göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)

Dört hafta yaşında ovaryumu kültüre alınan donör bitkilerden tüm çeşitlerden ortalama olarak %40,00 oranında embriyodan bitkiye dönüşme gerçekleşmiştir. En iyi çeşit ise bu hafta %50,00 oran ile Ufuk çeşidi olmuştur. Meriç çeşidinde embriyo

oluşmadığı için bitki elde edilememiştir. Sedir çeşidinde ise 8 embriyodan 3 adet bitki gelişerek, %37,50 oranında bitki elde edilmiştir. Beşinci hafta olan 17.04.2020 tarihli denemede tüm çeşitlerden ortalama %6,25 oranında embriyodan bitki eldesi gerçekleşmiş olup, Sedir çeşidinde elde edilen 1 adet embriyo doğrudan bitkiye dönüşmüş ve başarı oranı %100,00 olarak bulunmuştur. Meriç çeşidinde ise 95 adet embriyodan 5 tanesi bitkiye dönüşerek %5,26 başarı oranına ulaşılmıştır. 24.04.2020 tarihinde kültüre alınan ovaryumlardan toplamda 56 adet embriyo elde edilmiştir. Bunların bitkiye dönüşüm oranı ise %30,36 olarak tespit edilmiştir. En iyi yanıt alınan çeşit %44,44 oranı ile Meriç olurken, ikinci çeşit ise %27,66 oranı ile Sedir olarak tespit edilmiştir. Ufuk çeşidinde ise hiç embriyo elde edilemediği için bitki oluşmamıştır.

Yedi hafta yaşında olan donör bitkilerden elde edilen embriyolara bakıldığında en iyi yanıt alınan çeşit, 523 adet embriyo elde edilen Meriç çeşidi olarak bulunmuştur. Oluşan embriyoların bitkiye dönüşüm oranı ise %17,59 olarak bulunmuş ve bu çeşitte toplamda 92 adet bitki elde edilmiştir. Embriyo sayısı bakımından ikinci olan Sedir'in ise bitkiye dönüşüm oranı %22,16 olarak kaydedilmiştir. Bu çeşit embriyonun bitkiye dönüşmesi açısından birinci olan çeşittir. Ufuk çeşidinde gözlemlenen 2 adet embriyo bitkiye dönüşmemiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen tüm embriyoların bitkiye dönüşüm oranına bakıldığında %18,73'tür.

Mayıs ayının ilk haftasında sadece Sedir çeşidinden embriyo elde edilmiş olup, embriyonun bitkiye dönüşüm oranı ise %11,39 olarak bulunmuştur. 15.05.2020 tarihli denemede ise hiçbir çeşitte embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir. On hafta yaşında olan donör bitkilerden kültüre alınan tüm ovaryumlardan ise %25,00 oranında bitkiye dönüşüm görülmüştür. Sedir çeşidinde %40,00 oranında embriyodan bitkiye dönüşüm tespit edilmiştir. Mayıs ayının son haftasında ise sadece Ufuk çeşidinde %73,33 oranında bitki gelişimi gerçekleşmiştir. Sedir çeşidinden 30 adet embriyo gelişmesine rağmen, bitkiye dönüşüm görülmemiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen ortalama rejenerasyon oranı ise %33,85'tir. Oniki hafta yaşında olan donör bitkilerden ise embriyodan bitkiye dönüşme oranı sadece Sedir çeşidinde görülmüş olup, bu da oransal açıdan %37,18 olarak belirlenmiştir. Diğer çeşitlerden hiç embriyo oluşmamıştır. Çalışmanın 2020 Bahar ayında son hafta kültüre alınan ovaryumlardan hiç embriyo oluşumu gerçekleşmemiş ve dolayısıyla bitki de elde edilmemiştir.

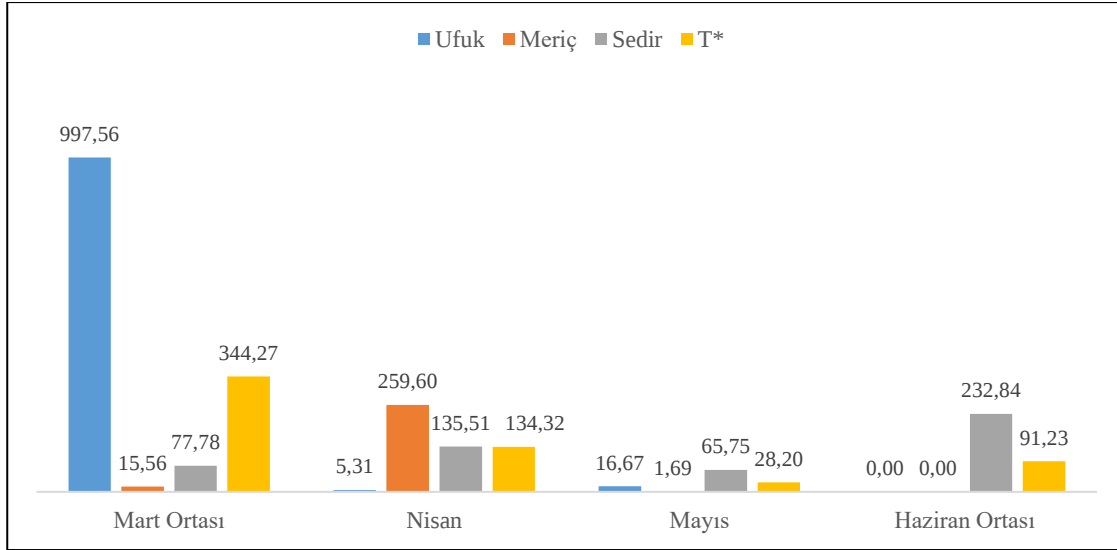
Donör bitki yaşı açısından 2020 Bahar sezonu değerlendirildiğinde, Ufuk çeşidinde ilk 4 haftada bitkiye dönüşüm gözlenirken, Meriç çeşidinde ise genel olarak 8. haftaya kadar dönüşüm gerçekleşmiştir. Sedir çeşidinde de bitkiye dönüşüm kesintisiz olarak 9 haftaya kadar görülürken, oransal açıdan haftalar bu üç çeşitte de değerlendirildiğinde haftalara göre artan ve azalan oranlara ulaşılmıştır. Sedir çeşidinde çoğu haftada embriyo rejenerasyonu gerçekleşmiştir. Ufuk çeşidinde ise embriyo rejenerasyonu ilk dört haftada ve 11. haftada görülmüştür. Meriç çeşidinde de 7. haftadan sonra embriyo rejenerasyonu saptanmamıştır. Ancak buradan çıkan sonuç 2019 Bahar ve Güz sezonu ile karşılaştırıldığında genel olarak embriyonun bitkiye dönüşmesi açısından donör bitki yaşının çok etkili bir faktör olmadığı anlaşılmaktadır. Bu dönemde bitkiye dönüşüm oranının bitki yaşına bağlı olarak ilerlemesinin sebebi, bazı haftalarda çeşitlerde elde edilen embriyo sayısının ya düşük bir seviyede görülmesi ya da hiç görülmemesi olabilir (Çizelge 4.5, Bkz. Ufuk 5., 6., 7., 8., 9. hafta).

4.3.2. Donör bitkinin yetiştirilme aylarının ovaryum kültürü üzerine etkisi

Mart ayının ikinci haftasında ilk defa deneme kurulan 2020 Bahar sezonu, haziran ayı ortasına kadar devam etmiştir. Donör bitkilerin gelişim gösterdiği aylara göre embriyo oluşum oranları, bitki oluşum oranları ve elde edilen embriyo sayısına göre oluşan bitki oranları Şekil 4.18, Şekil 4.19 ve Şekil 4.20’de verilmiştir.

4.3.2.1. Aylara göre embriyo oluşum oranları

2020 Bahar sezonu embriyo oluşum bulguları aylık olarak incelendiğinde mart ayında Ufuk çeşidinden oldukça yüksek sayılabilecek bir oranda (%997,56) embriyo oluşumuna ulaşılmıştır. İkinci en yüksek oran ise %77,78 oran ile Sedir olurken, Meriç çeşidinde bu oran %15,56 olarak kaydedilmiştir. Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo oluşum oranı bu ayda %344,27 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.18).



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo oluşum oranı

Şekil 4.18. 2020 Bahar sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyo oluşum oranları (%)

Nisan ayı verilerine göre bir önceki ayda oldukça yüksek oranda embriyo elde edilen Ufuk çeşidinden bu ayda diğer çeşitlere göre en düşük oranda (%5,31) embriyo oluştuğu görülmüştür. Meriç çeşidinde ise %259,60 oranında embriyo oluşmuş olup, bu ayda görülmüş en yüksek orana ulaşılmıştır. Sedir çeşidinde embriyo oluşum oranı %135,51 olarak saptanmıştır. Ortalama embriyo oluşum oranı ise %134,32’dir.

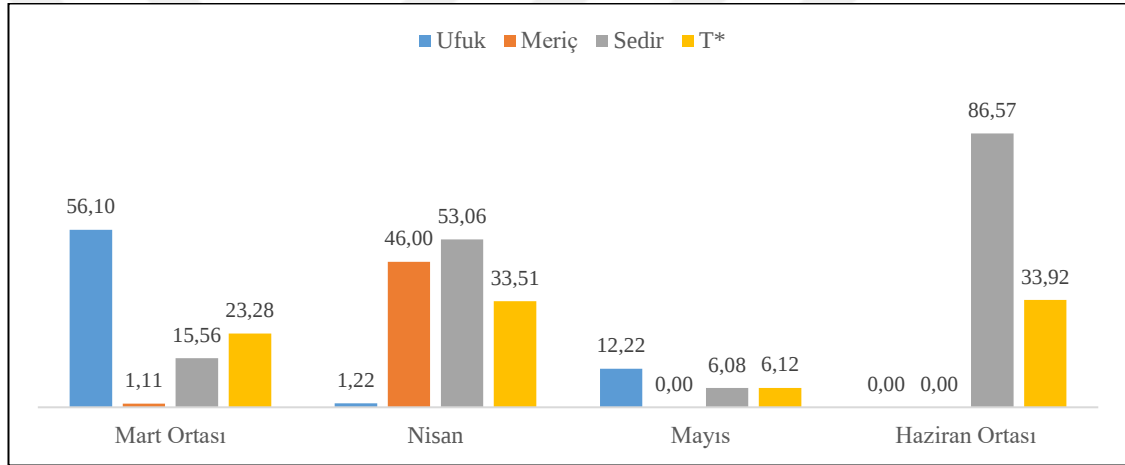
Mayıs ayında kurulan denemelere göre ortalama embriyo oluşum oranı %28,20 olarak bulunmuş olup, bu ayda en iyi çeşit ise %65,75 oran ile Sedir olarak belirlenmiştir. Bunun yanı sıra %16,67 oran ile Ufuk çeşidi ikinci olurken, Meriç çeşidinde bu oran %1,69’dur.

Embriyo oluşum oranı ortalama olarak %91,23 bulunan 2 haftalık haziran ayı değerlendirilmesinde ise sadece %232,84 oranında Sedir’de embriyo oluşmuştur.

Tüm aylar bazında ortalama değerde bir değerlendirilme yapıldığında ise, Ufuk çeşidindeki başarı yüzdesinin yüksek olmasına bağlı olarak, en iyi yanıt alınan dönem mart ortası-nisan ayı arasındaki dönem olarak bulunmuştur. En az sonuca ulaşılan ay ise ortalama değerde mayıs ayı olarak tespit edilmiştir. Ufuk çeşidi için mart ayı ideal olarak görülürken, haziran ayı en verimsiz ay olarak tespit edilmiştir. Meriç çeşidinde ise nisan ayı embriyo oluşumu açısından en iyi tepki alınan ay iken, en az yanıt alınan ay haziran ayı olarak belirlenmiştir. Sedir çeşidinde ise en yüksek başarı oranına haziran ayında ulaşılmış olup, en düşük embriyo oluşumu mayıs ayında gerçekleşmiştir.

4.3.2.2. Aylara göre bitki oluşum oranları

Kültüre alınan ovaryum sayısına göre mart ayında Ufuk çeşidinde %56,10 oranında bitki oluşmuştur. Sedir çeşidi bu ayda %15,56 oranında bitki oluşturarak ikinci olurken, Meriç çeşidinden sadece %1,11 oranında bitki oluşmuş ve bu çeşit üçüncü olmuştur. Tüm çeşitlerden elde edilen bitki oranı mart ayında %23,28'dir (Şekil 4.19).



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen bitki oluşum oranı

Şekil 4.19. 2020 Bahar sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre bitki oluşum oranları (%)

Nisan ayı denemelerine göre en iyi yanıt veren çeşit %53,06 oranı ile Sedir olarak saptanırken, ikinci en iyi yanıt %46,00 oran ile Meriç çeşidinde olmuştur. Bu ayda Ufuk çeşidinden oldukça sınırlı sayıda bitki elde edilmiş oransal açıdan değerlendirildiğinde %1,22 oranına ulaşılmıştır. Ortalama bitki oluşum oranı ise %33,51 olarak hesaplanmıştır.

Mayıs ayında bitki eldesi oranı açısından en iyi çeşit Ufuk olurken (%12,22), ikinci çeşit ise Sedir (%6,08) olmuştur. Meriç çeşidinde ise hiç bitki oluşmamıştır. Ortalama bitki eldesi oranı bu ayda %6,12 olarak bulunmuştur.

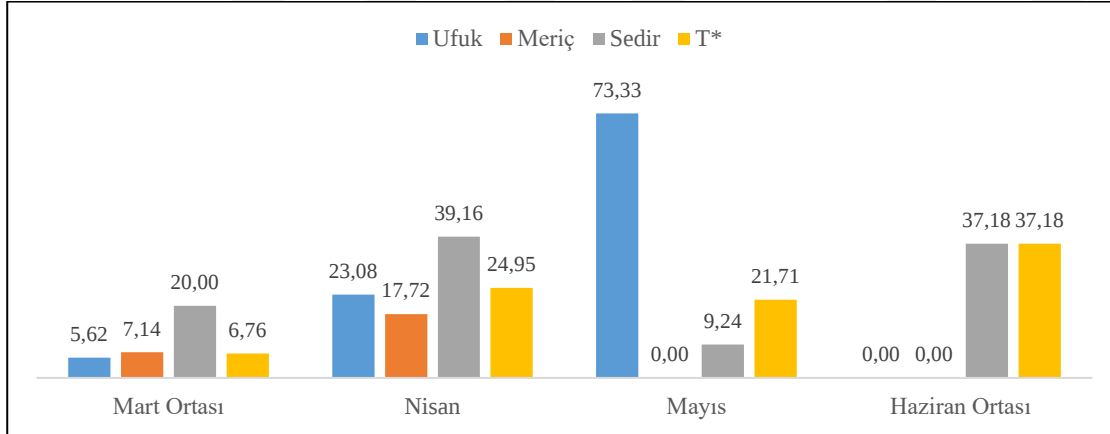
Haziran ayı denemeleri değerlendirildiğinde ise sadece Sedir çeşidinden %86,57 oranında bitki dönüşümü gerçekleşmiştir. Kültüre alınan ovaryum sayısına göre bu haftada ortalama bitki eldesi oranı %33,92'dir.

Tüm aylara baktığımızda ortalama bitki oluşum oranı en yüksek haziran ayında gerçekleşirken, en düşük ise mayıs ayında gerçekleştiği görülmüştür. Ufuk çeşidi için mart ayı en yüksek yanıt alınan ay olarak bulunurken, haziran ayında ise en düşük oran kaydedilmiştir. Meriç çeşidi için nisan ayı bitki eldesi açısından en iyi yanıt alınan ay olarak tespit edilmiştir. Bunun aksine bu çeşit için mayıs ve haziran ayları en az oranın hesaplandığı aylar olarak belirlenmiştir. Sedir çeşidinde ise en yüksek bitki eldesine haziran ayında ulaşılrken, en düşük bitki eldesi mayıs ayında görülmüştür.

4.3.2.3. Aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları

Bu sezonda elde edilen verilere göre aylar bazında elde edilen embriyo sayısına göre embriyo oluşum yüzdeleri değerlendirildiğinde, Ufuk çeşidinde mart ayında en yüksek embriyo eldesine ulaşılmasına rağmen, elde edilen bitki oranı oldukça sınırlı (%5,62) oranda gerçekleşmiştir. Ayrıca Ufuk çeşidi bu orana ulaşarak bu ayda en düşük oranda bitki eldesi gerçekleştirmiştir. Bu ay da birinci en yüksek oran %20,00 bitki oranı ile Sedir çeşidinden elde edilirken, %7,14 oran ile Meriç üçüncü olmuştur. Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen oran ise %6,76'dır (Şekil 4.20).

Nisan ayında kurulan denemelere göre bir önceki ayda en yüksek yanıt alınan Sedir çeşidi tekrar ilk sıraya yerleşmiş ve %39,16 oranında bitki oluşturmuştur. Ufuk çeşidi %23,08 oranı ile ikinci olurken, Meriç çeşidinde bu oran %17,72'dir. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyo sayısına göre bitki oranı ise mart ayına göre artış göstermiş olup, oransal açıdan %24,95'e ulaşmıştır.



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo sayısına göre bitki oluşum oranı

Şekil 4.20. 2020 Bahar sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyo rejenerasyon oranları (%)

Mayıs ayı verilerine göre elde edilen embriyo sayısına göre bitki oluşum oranı açısından %73,33 oran ile Ufuk çeşidinden en yüksek oran elde edilirken, %9,24 oran ile Sedir çeşidinde ikinci en yüksek oran elde edilmiştir. Meriç çeşidinden ise hiç bitki oluşmamıştır. Ortalama bitki oranı ise %21,71 olarak hesaplanmıştır.

Bu sezon ovaryumların son defa kültüre alındığı haziran ayı deneme sonuçlarına göre elde edilen embriyolardan sadece %37,18 oranıyla Sedir çeşidinden bitki elde edilmiştir.

4.3.3. Donör bitki genotipinin hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi

2020 Bahar sezonunda embriyo oluşum ve bitki eldesi oranları açısından en iyi yanıt alınan çeşit bu sezonda uzun tip olan Ufuk çeşidi olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Özellikle ilk haftadaki denemede oldukça yüksek oranda embriyo elde edilmiştir. Gelen embriyoların embriyojenik kallus dokusundan gelişmesi de bu embriyo başarı yüzdesini artıran bir etmendir. Ufuk çeşidinin ortalama embriyo oluşturma yüzdesi %156,26 olarak hesaplanmıştır. Embriyo başarı yüzdesi ikinci olan çeşit ise geçen iki sezonda en iyi yanıt alınan çeşit olarak belirlenen Sedir çeşididir. Embriyo eldesi çoğu haftalarda gözlemlenmiş olan bu çeşidin ortalama embriyo oluşturma yüzdesi %116,12 olarak belirlenmiştir. Sedir ve Meriç çeşitlerinin embriyo oluşum oranlarının da birbirine yakın seyrettiği Çizelge 4.6'da açıkça görülmektedir. Kültüre alınan ovaryum sayısına göre en yüksek bitki eldesi oranı ise toplam embriyo oluşum oranında ikinci çeşit olan Sedir çeşidinde olduğu görülmüştür. Toplamda bu çeşitte 213 adet bitki elde edilmiş olup, oransal açıdan bakıldığında bitki eldesi oranı %36,54 olarak hesaplanmıştır. İkinci en yüksek bitki oluşumu ise 116 adet bitki (%20,07) ile Meriç çeşidinde gerçekleşirken, Ufuk çeşidinde ise, bu sayı 71 (%12,89) adet olarak belirlenmiştir. En yüksek embriyo eldesine sahip Ufuk çeşidinde, bu sezonda en düşük bitki dönüşümü görülmüştür.

Çizelge 4.6. Donör bitkinin çeşidine göre bitki oluşum, embriyo oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)

Çeşitler	Kültüre Alınan Ovaryum Sayısı (Adet)	Embriyo Sayısı (Adet)	Toplam Embriyo Oluşum Oranı (%)	Bitki Sayısı (Adet)	Toplam Bitki Oluşum Oranı (%)	Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Oranı (%)
<i>Ufuk</i>	551	861	156,26	71	12,89	8,25
<i>Meriç</i>	578	666	115,22	116	20,07	17,42
<i>Sedir</i>	583	677	116,12	213	36,54	31,46
<i>Toplam</i>	1712	2204	128,74	400	23,36	18,15

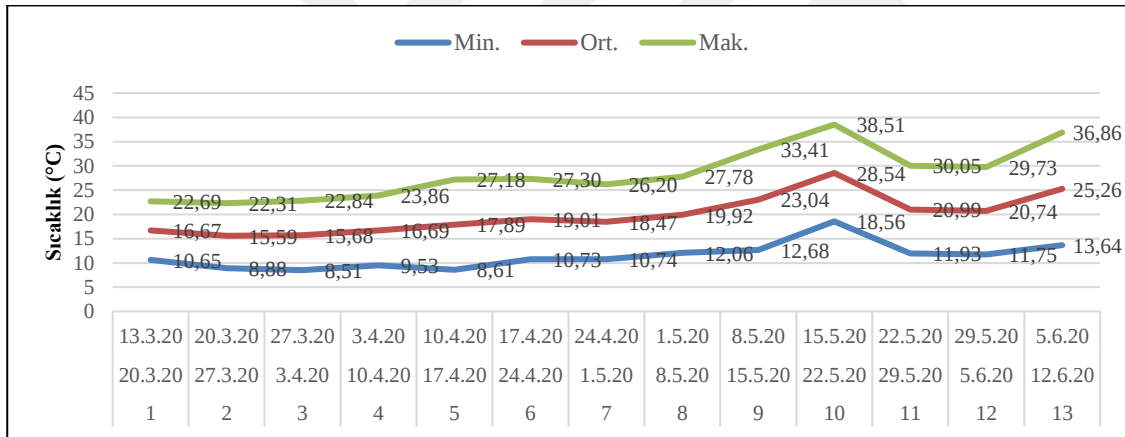
Elde edilen embriyolara göre bitki oluşum oranlarına bakıldığında ise Sedir çeşidi birinci olurken (%31,46), ikinci çeşit ise %17,42 oranı ile Meriç çeşidi olmuştur. Ufuk çeşidinde bu oran %8,25 ile sınırlı kalmıştır.

Çalışmamızın bu sezonunda embriyo oluşumu açısından en az yanıt alınan tipin dikenli tip olan Meriç çeşidi, en yüksek yanıt alınan tipin Beith Alpha tip olan Ufuk çeşidi olduğu görülmüştür. Bitki oluşum oranları açısından ise en az yanıt veren çeşidin Ufuk çeşidi olduğu saptanmış olup, en yüksek bitki verebilme potansiyeline sahip çeşidin Sedir olduğu belirlenmiştir. Embriyojenik kallustan çoğalan embriyoların, direkt

embriyogenesis yolu ile meydana gelmiş bitki dokularından çoğalması bunların genetik açıdan aynı embriyoların olduğu yorumunu doğurmaktadır. Embriyo sayısı ne kadar artarsa artsın, embriyo rejenerasyon kabiliyetlerinin de bu artışa paralel bir artışın olacağı düşünülmemelidir.

4.3.4. Donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların sera içi sıcaklığının hıyarda gynogenesis üzerine etkisi

2020 Bahar sezonunda bitkiler sera koşullarına 13.02.2020 tarihinde dikilmiştir. Bitkilerin seraya dikiminden 5 hafta sonra ilk deneme kurulmuştur. Denemelerde kullanılan ovaryumların sera içi sıcaklıklarının bir haftalık kayıtlarının ortalaması alınarak minimum, ortalama ve maksimum olarak değerlendirilmiştir. Şekil 4.21'deki sıcaklık değişim grafiğine göre Şekil 4.15, Şekil 4.16 ve Şekil 4.17 grafikleri değerlendirilmiş olup, donör bitki yaşına göre elde edilen embriyo, bitki ve elde edilen embriyo sayısına göre bitki dönüşüm oranları ayrı başlıklar altında karşılaştırılmıştır. 2019 Bahar sezonunda donör bitkilerin yetiştirilme sıcaklıkları 2020 Bahar sezonuna göre genel olarak daha yüksek bir sıcaklık seyri izlemiştir. Bu durum bizim farklı sıcaklık koşullarında çeşitlerin gynogenesis yeteneklerini değerlendirebilmemize olanak sağlamıştır.



Şekil 4.21. 2020 Bahar sezonu donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların sera içi sıcaklığı grafiği (°C)

4.3.4.1. Sera içi sıcaklığın embriyo oluşum oranı üzerine etkisi

2020 Bahar sezonunda yürütülen çalışmada embriyo oluşumu açısından sıcaklığın etkisi incelendiğinde embriyo oluşum oranlarında farklılıklar görülmüştür (Şekil 4.15, Şekil 4.21). İlk denemede kullanılan ovaryumlar (13.3.2020-20.3.2020) ortalama olarak 16,67 °C sıcaklıkta yetişmiştir. Maksimum gözlemlenen sıcaklık değeri bu dönemde 22,69 °C, minimum sıcaklık değeri 10,65 °C olarak tespit edilmiştir. Embriyo eldesi oranlarına bakıldığında ise bu haftada Ufuk çeşidinden kültüre alınan ovaryumlardan %1895,24 oranında embriyo elde edilmiştir. Ufuk çeşidinde diğer haftalarla kıyaslandığında hem kendi içerisinde hem de diğer çeşitler içerisinde gözlemlenen en yüksek orana ulaşılmıştır. Meriç çeşidinden %4,00 ve Sedir çeşidinde de %34,00

oranında embriyo elde edilmiştir. Oluşan embriyoların büyük bir oranı, direkt embriyogenesis yolu ile gelişmiş bitki dokusunun kallusa dönüşmesi ile elde edilmiştir. Bu hafta toplamda 142 adet ovaryum kültüre alınmış olup, elde edilen embriyo sayısı 815 adettir. Toplamda kültüre alınan ovaryum sayısına göre tüm çeşitlerden ortalama %573,94 oranında embriyo gelişmiştir.

İkinci denemede kullanılan ovaryumların bitki üzerindeki gelişme sıcaklığı ortalama olarak 15,59 °C olarak ölçülmüştür. Denemeler boyunca en düşük ortalama sıcaklık değerleri bu haftada saptanmıştır. Bu haftada kültüre alınan tüm çeşitlerden ortalama olarak %72,50 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Bir önceki haftaya göre bu haftada Ufuk çeşidinde ani bir düşüş gerçekleşmiş olup, %55,00 oranında embriyo oluşmuştur. En yüksek embriyo oluşum oranı %132,50 oranı (53 adet) ile Sedir çeşidinde gözlemlenirken, en düşük embriyo oluşum oranı %30,00 ile Meriç çeşidinde tespit edilmiştir.

Nisan ayının ilk haftasını kapsayan dönemde üçüncü deneme kurulmuş olup, bir önceki haftaya göre tüm sıcaklık ölçümlerinde kayda değer bir farklılık görülmemiştir. Minimum hissedilen sıcaklık tüm denemelerde görülen sıcaklıklar arasındaki en düşük seviyeye ulaşmıştır (8,51 °C). Bu haftada kültüre alınan ovaryumlardan elde edilen en yüksek embriyo oranı bir önceki haftada da olduğu gibi yine Sedir çeşidinde, %189,58 oranında gözlemlenmiştir. Meriç çeşidinde yükseliş devam etmiş olup (%48,89), Ufuk çeşidinin önüne geçmiştir. Ufuk çeşidi giderek düşüş yaşamıştır. Toplamda bu haftada 138 adet ovaryum kültüre alınmış olup, bunlardan ortalama olarak %88,41 oranında embriyo elde edilmiştir.

Dördüncü denemede kültüre alınan ovaryumların bir haftalık sera içi sıcaklıkları tüm değerlerde geçen üç haftaya göre artış göstermiş olup, ortalama sıcaklık 16,69 °C olarak ölçülmüştür. Maksimum sıcaklık ise 23,86 °C olarak kayıt altına alınmıştır. Kültüre alınan eksplantların deneme sonuçlarına bakıldığında en başarılı çeşit %19,05 oranı ile Sedir çeşidi olarak tespit edilirken, geçen üç haftaya göre bu haftada ortalama embriyo oluşum oranlarında ciddi bir düşüş (%7,87) görülmüştür. Ufuk çeşidinde de oldukça düşük oranda (%5,00) embriyo oluşumu gerçekleşmiştir.

Denemelerde kullanılan ovaryumların ortalama sera içi sıcaklığı, 17.04.2020 tarihli denemede maksimum 27,18 °C, minimum 8,61 °C olarak ölçülmüştür. Maksimum sera içi sıcaklık değeri bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 3 °C artmıştır. Ancak minimum sıcaklık değeri bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 1 °C düşmüştür. Embriyo oluşturma oranı açısından, Meriç çeşidi %190,00 oranı ile geçen diğer haftalara göre bu haftada tüm çeşitler arasında ilk defa en yüksek yanıt alınan çeşit olmuştur. Aynı zamanda 13 hafta ayrı ayrı kıyaslandığında, en yüksek ikinci Meriç embriyo eldesi 95 adet embriyo ile bu haftada saptanmıştır. Ufuk çeşidinde hiç embriyo oluşmazken, Sedir çeşidinde ise kültüre alınan 50 ovaryumdan sadece 1 adet embriyo oluşmuştur. Bu haftada donör bitkilerden alınan ovaryumların embriyo oluşturma yüzdesi tüm çeşitlerde ortalama olarak %64,00 oranında bulunmuştur.

17.04.2020 ve 24.04.2020 tarihleri arasında minimum, ortalama ve maksimum sıcaklık değerleri sırasıyla 10,73 °C, 19,01 °C ve 27,30 °C'dir. Bir önceki haftaya göre minimum sıcaklık düzeyi yaklaşık olarak 2 °C yükselmiştir. Ancak maksimum sıcaklıklar arasında çok bir farklılık görülmemiştir. Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerine göre embriyo oluşum oranları sırasıyla %0,00, %18,00 ve %104,44'tür. Geçen iki haftada düşüşler yaşayan Sedir çeşidinde bu haftada en yüksek oranda embriyo eldesi gerçekleşirken, Meriç çeşidinde bu oran bir önceki haftaya göre düşmüştür. Meriç çeşidinde ise minimum sıcaklık değerinin yükselmesinden etkilendiği burada da saptanmıştır. Bu haftada tüm çeşitlerden elde edilen başarı oranı ise %38,62 oranında tespit edilmiştir.

Yedinci denemede kültüre alınan ovaryumların bir haftalık sera içi sıcaklık değerleri maksimum, ortalama ve minimum olarak sırasıyla 26,20 °C, 18,47 °C, 10,74 °C olarak ölçülmüştür. Maksimum sıcaklık değerine bakıldığında yaklaşık olarak altıncı haftaya göre 1 °C düşmüştür. Donör bitkilerin bu haftada embriyo oluşumlarında ciddi bir yükseliş gözlenmiştir. Tüm denemelerdeki en yüksek embriyo sayısına (523 adet) ulaşan Meriç çeşidinde %871,67 oranında embriyo saptanmıştır. Embriyoların çoğunun, direkt embriyogenesis yolu ile oluşmuş olan embriyojenik kallustan gelişerek bu artışa neden olduğu düşünülmektedir. Sedir çeşidinde de diğer haftalara oranla en yüksek ikinci embriyo oluşum oranı (%308,33) tespit edilmiştir. Ufuk çeşidinde ise 2 adet embriyo elde edilmiştir. Ortalama olarak %394,00 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiş olup, bu oranla bu sezonda elde edilen haftalar arasındaki en yüksek seviyeye ulaşılmıştır. Minimum sıcaklık değerinin yüksek olmasına rağmen Meriç çeşidinde oldukça yüksek oranda embriyo elde edilmesi, sadece düşük sıcaklık koşulları ile embriyogenesisin uyarılamayacağını göstermektedir. Sedir çeşidinde embriyo oranının yükselmesi maksimum ve minimum sıcaklık farkının düşmesine de bağlanabilir.

1.5.2019- 8.5.2019 tarihleri arasındaki ortalama sıcaklık değerleri bir önceki denemeye göre yaklaşık 1 °C artış göstermiş olup, ortalama sıcaklık değeri 19,92 °C olarak saptanmıştır. Minimum sıcaklık derecesinin de bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 1 °C arttığı görülmüştür. Embriyo oluşturma oranlarına bakıldığında ise, %158,00 oranı ile embriyo oluşumu sadece Sedir çeşidinde gerçekleşmiştir. Toplam kültüre alınan 150 adet ovaryum göz önüne alındığında ortalama embriyo oluşum oranı %52,67 olarak bulunmuştur. Bir önceki haftada oldukça yüksek oranda embriyo elde edilen Meriç çeşidinde bu haftadan sonra sadece onuncu haftada oldukça sınırlı bir oranda embriyo elde edilmiş olup, diğer haftalarda embriyo bulgusuna rastlanmamıştır. Sıcaklığın yükselmesine bağlı olarak bu sonuca ulaşılabileceği gibi, bitki yaşı, fotoperiyot gibi faktörlerin de etkili olduğu düşünülmektedir.

Mayıs ayının ikinci haftasından sonra sıcaklık değerlerinde artış görülmeye başlanmıştır. Bu artışa göre maksimum, ortalama ve minimum değerleri sırasıyla 33,41 °C, 23,04 °C, 12,68 °C olarak ölçülmüştür. Özellikle maksimum sıcaklık değeri yaklaşık olarak 6 °C artmıştır. Sıcaklığın ani yükselmesine bağlı olarak bu denemede hiçbir çeşitte embriyo eldesi gerçekleşmemiştir.

Onuncu haftada tüm denemelerdeki en yüksek sıcaklık değerlerine ulaşılmıştır. Maksimum ortalama sıcaklık değeri 38,51 °C olarak hesaplanan ovaryum gelişim haftasında, bazı günlerde sıcaklık değerleri 40 °C'nin üzerine çıkmıştır. Bu haftada yaşanan ani sıcaklık değişimi çoğu bitkide çiçek dökümüne sebep olmuştur. Minimum sıcaklık değeri de en yüksek değere ulaşmış olup, 18,56 °C olarak hesaplanmıştır. Maksimum ve minimum değerlerin artışı doğal olarak, ortalama sıcaklık artışına da sebep olmuştur. On hafta yaşında olan donör bitkilerden alınan eksplantların embriyo başarı yüzdelere bakıldığında bir önceki haftaya göre çok bariz bir farklılık görülmemiş olup, sadece Sedir çeşidinde %10,00, Meriç çeşidinde ise %5,88 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Tüm çeşitlerden toplamda 8 adet embriyo elde edilmiştir. Ortalama sıcaklıkların yükselmiş olması tüm çeşitlerde gynogenesis açısından olumsuz bir etki yaratmıştır.

Mayıs ayının son haftasında kültüre alınan ovaryumların sera içi maksimum sıcaklığı yaklaşık olarak 8 °C birden düşmüştür. Minimum sıcaklık değeri de 11,93 °C olarak kayıt altına alınmıştır. Ufuk ve Sedir çeşitlerinde embriyo oluşum oranlarında ciddi bir yükseliş gözlemlenmiş olup, sırasıyla %111,11 ve %112,90 olarak hesaplanmıştır. Ufuk çeşidinde elde edilen en yüksek ikinci embriyo eldesi bu haftada tespit edilmiştir. Minimum sıcaklık derecesinin düşmesine rağmen Meriç çeşidinde bir yükselme gözlenmemiştir. Tüm çeşitlerde bu haftada ortalama olarak %76,47 oranında (65 adet) embriyo elde edilmiştir.

Haziranın ilk haftası sera içi sıcaklıkları minimum, ortalama ve maksimum 11,75 °C, 20,74 °C ve 29,73 °C olarak belirlenmiştir. Sıcaklıklar genel olarak bir önceki haftaya ile yaklaşık değerlerde seyretmiştir. Haziran ayının ilk haftasında 12 hafta yaşında olan bitkilerden alınan örneklerle göre embriyo oluşumu sadece Sedir çeşidinde gerçekleşmiş olup, diğer çeşitlerde embriyo oluşmamıştır. Sedir çeşidinde elde edilen bu oranın (%371,43), bu çeşitte bu sezonda kurulan tüm denemelerdeki başarı yüzdeleri arasında tespit edilen en yüksek oran olduğu belirlenmiştir. Toplam kültüre alınan ovaryum sayısına göre embriyo oluşturma başarı oranı ise %167,74'tür.

2020 Bahar dönemi son denemede kullanılan ovaryum sera içi sıcaklıkları bir önceki haftaya göre ani bir artış göstermiş olup, tüm haftalar arasındaki en yüksek ikinci değere ulaşılmıştır. Buna göre minimum, ortalama ve maksimum değerleri sırasıyla 36,89 °C, 25,26 °C ve 13,64 °C ölçülmüştür. Haziran ayının ikinci haftasında kurulan denemede ise hiçbir çeşitte embriyo bulgusuna rastlanmamıştır.

2020 Bahar dönemi ovaryumun sera içi sıcaklığı açısından embriyo oluşumuna etkisi genel olarak değerlendirildiğinde, farklı sıcaklık sonuçlarında aynı çeşitte farklı oranlarda embriyo elde edildiği tespit edilmiştir. Meriç çeşidinin yüksek sıcaklığa gerek donör bitki üzerinde kültüre alınabilecek ovaryum sayısı bakımından, gerekse embriyo oluşumu bakımından çok net bir şekilde olumsuz tepki verdiği görülmüştür. Bu çeşidin minimum sıcaklık derecesinin düşük olduğu seviyelerde embriyo oluşturma oranını artırdığı, gynogenesis yolu ile embriyo verimini artırmak için ise, uygun minimum derecenin yaklaşık olarak 8 °C olduğu söylenebilir.

Ufuk çeşidinde sıcaklığın artması ile embriyo oluşum oranının genel olarak düştüğü belirlenmiştir. Bu çeşidin 2019 Bahar ve 2019 Güz döneminde yaşanan yüksek sıcaklık derecelerine olumlu tepki verdiği yapılan çalışmalarda görülmüştür. Ancak bu sezonda görülen 8., 9. ve 10. haftalardaki ani sıcaklık yükselişi olumlu etki yaratmanın aksine bu çeşitte 3 hafta boyunca embriyo oluşumunu engellemiştir. On birinci denemede ise embriyo oluşumu tekrar artarak %111,11'e ulaşmıştır. On birinci haftada yaşanan sıcaklık dereceleri yaklaşık olarak 2019 Bahar dönemi 6. hafta ile denk bulunmuştur. Ancak o sezonda elde edilen embriyo oluşum oranı %6,06 (çizelge) olarak belirlenmiştir. Buradan da anlaşılabileceği üzere embriyo oluşumu için bu çeşitte optimum bir sıcaklık seviyesinin bulunmadığı savunulabilir. Ancak iki haftadır yaşanan yüksek sıcaklıkların ardından ani sıcaklık düşüşünün bir etkisi olarak 11. haftada embriyo oluşumunda artış gözlenmiş olabilir. Ancak haziran ayının birinci haftasında da ölçülen sıcaklığın, mayıs ayının son haftası ile değişiklik göstermemiş olması ve 12. haftada embriyo bulgusuna rastlanmaması bu oran değişiminin sadece sıcaklığa bağlanmaması gerektiğini işaret etmektedir.

Sedir çeşidinde ise hemen hemen çoğu sıcaklık derecelerinde embriyo oluşumu gerçekleştirebileceği, ancak maksimum ve minimum sıcaklık değerleri arasındaki farkın azalmasının embriyo oluşumunu olumlu yönde etkilediği yapılan bu çalışmada açıkça görülmüştür. Özellikle beşinci haftada tespit edilen sıcaklık dereceleri arasındaki farkın açılmış olması bu çeşitte embriyo oluşum oranını %2,00 oranına düşürmüştür. Bunun yanında tüm çeşitlerde maksimum sıcaklık değerlerinin de embriyo oluşumunu etkilediği tespit edilmiştir. Artan ve azalan sıcaklık stresinin süresinin de donör bitkiden alınan ovaryumların embriyo oluşturma kabiliyeti üzerine etkisi olduğu saptanmıştır.

Bu sezon yapılan denemelere göre; embriyo oluşumu için tüm çeşitlerde optimum sıcaklık seviyeleri değişebilmektedir. Maksimum derecenin önemli olduğu kadar minimum sıcaklık derecesinin ve maksimum ve minimum arasındaki farkın da önemli olduğu, çeşitlere göre bu saptamaların farklı sonuçlar doğurabileceği bu sezonda açıkça görülmüştür. Ufuk çeşidinin ani artan yüksek sıcaklıktan hoşlanmadığı, Meriç çeşidinin minimum sıcaklık seviyesinden açıkça etkilendiği, Sedir çeşidinin ise maksimum ve minimum sıcaklık arasındaki farkın açılmasına olumsuz cevap verdiği bu sezonda embriyo oluşumunu belirleyici sonuçlardır.

4.3.4.2. Sera içi sıcaklığın bitki oluşum oranı üzerine etkisi

Çalışmamızda bitki eldesi açısından sıcaklığın etkisi incelendiğinde çeşitlere göre farklı oranlarda bitki oluşumu gözlemlendiği görülmüştür (Şekil 4.16). 20.02.2020 tarihinde kültüre alınan ovaryumlar ortalama olarak 16,67 °C sıcaklıkta gelişmiştir (Şekil 4.21). Maksimum gözlemlenen sıcaklık değeri bu dönemde 22,69 °C olarak tespit edilirken, minimum sıcaklık değeri 10,65 °C olarak tespit edilmiştir. Bu koşullarda gelişim göstermiş, kültüre alınmış ovaryumlardan bitki oluşumu en fazla Ufuk çeşidinde (%97,62; 41 adet) görülürken, Sedir çeşidinde bu oran sadece %6,00 olarak tespit edilmiştir. Meriç çeşidinde ise bitki oluşumu gözlenmemiştir. Tüm çeşitlerden toplamda kültüre alınmış 142 adet ovaryumdan %30,99 oranında bitki gelişmiştir.

27.03.2020 tarihinde denemede kullanılan ovaryumların bitki üzerindeki gelişme sıcaklığı ortalama olarak 15,59 °C olarak ölçülmüştür. Denemeler boyunca en düşük ortalama sıcaklık değerleri bu haftada saptanmıştır. Maksimum sıcaklık ortalaması bir önceki haftayla yaklaşık olarak aynı seyretmiştir. Ancak bu dönemde minimum hissedilen sıcaklıklar oldukça düşük (8,88 °C) seyretmiştir. Kültüre alınan ovaryumlara göre bitki oluşturma oranı bakımından değerlendirildiğinde Sedir’de %27,50 oranına ulaşılmış ve en yüksek oran olarak belirlenmiştir. Ufuk çeşidi ise bu haftada ikinci en yüksek orana ulaşan (%12,50) çeşit olurken, %2,50 oranı ile Meriç çeşidinde 1 adet bitki oluşmuştur.

03.04.2020 tarihinde üçüncü deneme kurulmuş olup, bir önceki haftaya göre tüm sıcaklık ölçümlerinde çok bir farklılık görülmemiştir. Minimum belirlenen sıcaklık değeri tüm denemelerde görülen sıcaklıklar arasındaki en düşük seviyeye ulaşmıştır. Nisan ayının ilk haftası olan bu haftada, kültüre alınan ovaryumlardan toplamda 88 adet bitki gelişmiştir. Bu sonuç hafta bazında tüm çeşitlerde toplamda elde edilen en iyi ikinci sonuçtur. Sedir çeşidinde oransal açıdan bitki eldesine bakıldığında ise bu haftada en yüksek (%150,00) sonuca ulaşılmıştır. Meriç çeşidinde ise %31,11 oranında bitki elde edilirken, Ufuk çeşidinde ise bu oran geçen haftalara göre giderek düşmüş ve %4,44 olarak belirlenmiştir. Bir önceki hafta ile çok farklılık olmamasına rağmen Sedir çeşidinde bitki eldesinde artış gözlenmesi bitki eldesinde donör bitki yetiştirme sıcaklığına bağlı bir faktör olmadığına işaret etmektedir.

Dördüncü denemede kültüre alınan ovaryumların bir haftalık sera içi sıcaklıkları tüm değerlerde geçen üç haftaya göre artış göstermiş olup, ortalama sıcaklık 16,69 °C olarak ölçülmüştür. Maksimum sıcaklık ise 23,86 °C, minimum sıcaklık değeri 9,53 °C olarak kayıt altına alınmıştır. Tüm çeşitlerdeki bitki eldesi oranı bu haftada çok sınırlı kalmıştır. Bu haftanın sonuçlarına göre Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinde sırasıyla %2,50, %0,00 ve %7,14 oranında bitki oluştuğu tespit edilmiştir. Yaklaşık olarak tüm ölçüm değerlerinde bir önceki haftaya göre 1°C’lik artış olmasına rağmen tüm çeşitlerde bitki oluşumu oldukça sınırlı oranda kalmıştır.

Denemelerde kullanılan ovaryumların sera içi ortalama sıcaklığı, beşinci denemede maksimum 27,18 °C diye belirlenmiş olup, minimum sıcaklık değeri 8,61 °C olarak ölçülmüştür. Maksimum sera içi sıcaklık değeri bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 3 °C artmıştır. Ancak minimum sıcaklık değeri bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 1 °C düşmüştür. Ayrıca maksimum ve minimum arasındaki fark 18,57 °C olarak belirlenmiştir. Meriç çeşidinde embriyo oranlarındaki artışa paralel olarak biraz da olsa bitki eldesinde bir yükselme tespit edilmiştir. Meriç çeşidinden %10,00 oranında bitki oluşmuştur. Ancak Ufuk çeşidinde hiç bitki elde edilemezken, Sedir çeşidinde sadece 1 adet bitki elde edilebilmiştir.

24.04.2020 tarihli denemede kullanılan ovaryumların sera içi sıcaklıkları, minimum, ortalama ve maksimum olarak sırasıyla 10,73 °C, 19,01 °C ve 27,30 °C’dir. 17.04.2020 tarihli denemedeki minimum sıcaklık değerine göre yaklaşık olarak 2 °C bir artış saptanmıştır. Donör bitkilerden, gynogenesis yolu ile bitki elde oranlarına

bakıldığında Sedir çeşidi %28,89 oranı ile birinci olmuştur. Ufuk çeşidinde 5. haftadaki gibi yine hiç bitki oluşumu gerçekleşmemiştir. Meriç çeşidinde ise yalnızca 4 bitki oluşmuştur (%8,00). Toplamda tüm çeşitlerden alınan 145 adet ovaryumdan sadece 17 adet bitki (%11,72) elde edilebilmiştir.

Yedinci denemede kültüre alınan ovaryumların bir haftalık sera içi sıcaklık değerleri maksimum, ortalama ve minimum olarak sırasıyla 26,20 °C, 18,47 °C, 10,74 °C olarak ölçülmüştür. Maksimum sıcaklık değerine bakıldığında yaklaşık olarak altıncı haftaya göre 1 °C düşmüştür. Bu haftada bitki oluşum oranları Meriç ve Sedir çeşitlerinde artışa geçerek ortalama %73,89'a yükselmiştir. Tüm çeşitlerde elde edilen en iyi bitki oranına bu haftada ulaşılmıştır. Meriç çeşidinde embriyo oluşum yüzdesine paralel olarak bitki oluşum yüzdesinde de ciddi bir yükseliş saptanmıştır. Bu çeşit, tüm çeşitler arasında %153,33 oran ile en yüksek yanıt alınan çeşit olarak tespit edilmiştir. Sedir çeşidinde ise bitki eldesi oranı %68,33'tür. Ufuk çeşidinden yine hiç bitki elde edilememiştir.

Mayıs ayının ilk haftasında ortalama sıcaklık değerleri bir önceki denemeye göre yaklaşık 1 °C artış göstermiş olup, sıcaklık değeri 19,92 °C olarak saptanmıştır. Elde edilen bitki oranlarına bakıldığında Meriç çeşidi ani bir düşüş yaşamış ve bu çeşitte hiç bitki gözlenmemiştir. Sedir çeşidinde ise bitki eldesi oranı %18,00 olarak tespit edilmiş olup, bir önceki haftaya göre düşüş saptanmıştır. Ufuk çeşidinde bu haftada da bitkiye rastlanmamıştır. Toplam bitki eldesi oranına bakıldığında ise %6,00 olarak tespit edilmiştir.

15.05.2020 tarihinden sonra sıcaklık değerlerinde artış yaşanmıştır. Bu artışa göre maksimum, ortalama ve minimum değerleri sırasıyla 33,41 °C, 23,04 °C, 12,68 °C olarak ölçülmüştür. Özellikle maksimum sıcaklık değeri yaklaşık olarak 6 °C artmıştır. Ancak hiçbir çeşitte bitki oluşumu gerçekleşmemiştir.

22.05.2020 tüm denemelerdeki en yüksek sıcaklık değerlerine ulaşılmıştır. Maksimum sıcaklık değeri 38,51 °C, ortalama sıcaklık değeri 28,54 °C ve minimum sıcaklık değeri 18,56 °C'dir. On hafta yaşında olan donör bitkilerden alınan örneklerle bakıldığında ise sadece Sedir çeşidinden 2 adet bitki elde edilebilmiştir.

Mayıs ayının son haftasında kültüre alınan ovaryumların sera içi maksimum sıcaklığı yaklaşık olarak 8 °C düşmüştür. Minimum sıcaklık değeri de 11,93 °C olarak kayıt altına alınmıştır. Bitki eldesi oranı tüm çeşitlerden toplamda kültüre alınan ovaryum sayısına göre ortalama olarak %25,88 olarak tespit edilmiştir. Ufuk çeşidinde 6 haftadan sonra ilk defa bitkiye rastlanmıştır. Ufuk çeşidinde bitki eldesi oranı %81,48 olarak tespit edilmiş olup, bu çeşitte tüm haftalar arasındaki ikinci en iyi sonuca ulaşılmıştır. Meriç ve Sedir çeşitlerinde ise bitkiye rastlanmamıştır.

05.06.2020 tarihli denemenin donör bitkilerinin sera içi sıcaklıkları minimum, ortalama ve maksimum 11,75 °C, 20,74 °C ve 29,73 °C olarak kayıt altına alınmıştır. Bir önceki hafta ile yaklaşık düzeylerde sıcaklıklar seyretmiştir. Donör bitkilerin bitki oluşturma yüzdeleri tüm çeşitlerde ortalama olarak %62,37 olarak bulunmuştur. Ufuk ve

Meriç çeşitlerinde hiç bitkiye rastlanmazken, Sedir çeşidinde ise tüm haftalar boyunca görülen ikinci en iyi oran düzeyi (%138,10) tespit edilmiştir.

12.06.2020 tarihli son denemede kullanılan ovaryum sera içi sıcaklıkları tüm haftalar arasındaki en yüksek ikinci değere ulaşmıştır. Ancak hiç bitki oluşumu gerçekleşmemiştir.

2020 Bahar döneminde kurulan denemeler değerlendirildiğinde en fazla bitki oluşum oranı, 7. hafta denemelerinde %73,89 oranında elde edilmiştir. Bu haftada ortalama sıcaklık 18,47 °C olarak tespit edilmiştir. Altıncı ve sekizinci haftada ortalama sıcaklık koşulları yedinci hafta ile çok farklı olmamasına rağmen; bu haftalarda bitki eldesi oranları istenen düzeylere ulaşmamıştır. Buna göre bitki eldesi için sıcaklığın doğrudan etkileyen bir faktör olmadığı düşünülmektedir. Bunun yanı sıra en yüksek bitki elde edilen 3. haftadaki sıcaklık dereceleri ile 7. haftadaki sıcaklık dereceleri arasında bir ilişki görülmemektedir. Üçüncü hafta ile yedinci hafta maksimum sıcaklık dereceleri arasındaki fark yaklaşık olarak 3 °C'dir. Ancak tüm çeşitlerde farklı sıcaklık derecelerine embriyo oluşturmada farklı yanıtlar verdiği belirlenmiştir. Bu sezonda çeşitler arasında sıcaklığa verilen tepkilerin farklı olabileceği, ancak sıcaklığın bitki eldesinden ziyade embriyo eldesini daha belirleyici bir faktör olduğu düşünülmektedir.

4.3.4.3. Sera içi sıcaklığın embriyodan bitkiye dönüşüm oranı üzerine etkisi

Çalışmada kullanılan ovaryum sayılarına göre bitki oluşum oranları bir önceki başlıkta değerlendirilmiştir. Şekil 4.17'de ise elde edilen embriyolardan rejenere olmuş bitki oranları belirtilmiştir. Embriyodan bitkiye dönüşüm ile donör bitkinin ovaryumlarının bir haftalık süreçte maruz kaldıkları sıcaklıklar arasındaki ilişki oransal olarak değerlendirilmiştir. 13.3.2020-20.3.2020 tarihleri arasında donör bitkiler ortalama olarak 16,67 °C sıcaklıkta yetişmiştir (Şekil 4.21). Minimum sıcaklık değeri 10,65 °C maksimum sıcaklık değeri ise 22,69 °C, olarak tespit edilmiştir. İlk hafta tüm denemelerdeki en yüksek embriyo oranına sahip olan Ufuk çeşidinde embriyodan bitkiye dönüşüm oranı %5,15 ile sınırlı kalmış olup, başarı oranı açısından diğer çeşitler arasında ikinci sırada yer almıştır. En iyi tepki alınan çeşit ise Sedir olarak belirlenmiş olup, embriyodan bitkiye dönüşüm oranı %17,65 olarak tespit edilmiştir. Meriç çeşidinde ise elde edilen 2 adet embriyonun hiçbiri bitkiye dönüşmemiştir. Ortalama elde edilen embriyo sayısına göre bitki oluşum oranı ise tüm çeşitlerde %5,40 olarak bulunmuştur.

İkinci haftada kullanılan ovaryumların bitki üzerindeki gelişme sıcaklığı ortalama olarak 15,59 °C, minimum sera içi sıcaklığı 8,88 °C olarak kayıt altına alınmıştır. Maksimum sıcaklık ortalaması (22,31 °C) bir önceki haftayla yaklaşık olarak yakın derecede belirlenmiştir. Mart ayının son haftasına denk gelen bu denemede donör bitki ovaryum örneklerinden ise ortalama olarak %19,54 oranında bitki dönüşümü gerçekleşmiş olup, elde edilen 87 adet embriyodan 17 adet bitki elde edilmiştir. Birinci olan çeşit ise %22,73 oranı ile Ufuk çeşidi olurken, Sedir çeşidinde bu oran %20,75, Meriç çeşidinde de %8,33'tür.

Üçüncü denemede bir önceki hafta ile yaklaşık değerlerde (mak. 22,84 °C, ort. 15,68 °C, min. 8,51 °C) sıcaklık ölçümleri saptanmıştır. Bu hafta yürütülen denemede en iyi çeşit %79,12 ile Sedir çeşidi olmuştur. Bu oran hem kendi içerisinde hem de diğer çeşitler arasında tespit edilen ikinci orandır. En yüksek ikinci embriyo rejenerasyon oranı ise Meriç çeşidinde saptanmıştır. 22 adet embriyodan 14 adet bitki (%63,64) gelişmiştir. Ufuk çeşidi ise bir önceki hafta ile yaklaşık olarak aynı rejenerasyon oranına sahip olmuştur. Tüm çeşitlerden toplamda tespit edilen embriyodan bitkiye dönüşüm oranı ise %72,13'tür.

Nisan ayının ikinci haftası kurulan denemede kültüre alınan ovaryumların bir haftalık sera içi sıcaklıkları tüm değerlerde artış göstermiş olup, ortalama sıcaklık 16,69 °C, maksimum sıcaklık ise 23,86 °C olarak kayıt altına alınmıştır. Ovaryumu kültüre alınan donör bitkilerden ortalama olarak %40,00 oranında embriyodan bitkiye dönüşme gerçekleşmiştir. Ufuk çeşidi %50,00 oran ile birinci çeşit olurken, Meriç çeşidinde ise embriyo oluşmadığı için bitki elde edilememiştir. Sedir de indüksiyona uğrayarak gelişen 8 embriyodan 3 adet bitki rejenere olmuş, %37,50 oranı elde edilmiştir.

Beşinci denemede bir haftalık donör bitki yetiştirme sıcaklık seyri maksimum 27,18 °C, minimum 8,61 °C olarak ölçülmüştür. Maksimum ve minimum sıcaklık dereceleri arasındaki fark bu haftada geçen haftalara göre giderek açılmıştır. Tüm çeşitlerden ortalama %6,25 oranında bitki dönüşümü gerçekleşmiş olup, Sedir çeşidinde elde edilen bir embriyo doğrudan bitkiye dönüşmüş ve başarı oranı %100,00 olarak belirlenmiştir. Meriç çeşidinde ise 95 adet embriyodan 5 tanesi bitkiye dönüşerek %5,26 başarı oranına ulaşılmıştır.

Nisan ayının üçüncü haftasına denk gelen altıncı haftada minimum, ortalama ve maksimum sıcaklık değerleri sırasıyla 10,73 °C, 19,01 °C ve 27,30 °C olarak kaydedilmiştir. Bir önceki haftaya ile yaklaşık aynı sıcaklık dereceleri yaşanmıştır. Kültüre alınan ovaryumlardan toplamda 56 adet embriyo elde edilmiştir. Bunların bitkiye dönüşüm oranı ise %30,36 olarak tespit edilmiştir. En iyi çeşit %44,44 oranı ile Meriç olurken, ikinci çeşit ise %27,66 oranı ile Sedir olarak tespit edilmiştir. Ufuk çeşidinde ise hiç embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir.

Nisan ayının son haftasında kültüre alınan ovaryumların bir haftalık sera içi sıcaklık değerleri maksimum, ortalama ve minimum olarak sırasıyla 26,20 °C, 18,47 °C, 10,74 °C olarak ölçülmüştür. Donör bitkilerden elde edilen embriyolara bakıldığında en iyi çeşit, 523 adet embriyo elde edilen Meriç çeşidi olarak bulunmuştur. Elde edilen embriyoların bitkiye dönüşüm oranı ise bu çeşitte %17,59 olarak bulunmuş, 92 adet bitki elde edilmiştir. Embriyo sayısı bakımından ikinci olan Sedir'in ise bitkiye dönüşüm oranı %22,16 saptanmış ve bitki dönüşümünde birinci sırada olduğu görülmüştür. Ufuk çeşidinde gözlemlenen 2 adet embriyo bitkiye dönüşmemiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen tüm embriyoların rejenerasyon oranına bakıldığında %18,73 olarak belirlenmiştir.

Mayıs ayının ilk haftasında ortalama sıcaklık değerleri bir önceki denemeye göre yaklaşık 1 °C artış göstermiş olup, ölçülen değer 19,92 °C olarak belirlenmiştir. Mayıs ayının ilk haftasında sadece Sedir çeşidinden embriyo elde edilmiş olup, elde edilen embriyodan oluşan bitki oranı ise %11,39 olarak bulunmuştur.

15.05.2020 tarihinden sonra sıcaklık değerlerinde artış görülmeye başlanmıştır. Bu artışa göre maksimum, ortalama ve minimum değerleri sırasıyla 33,41 °C, 23,04 °C, 12,68 °C olarak ölçülmüştür. Özellikle maksimum sıcaklık değeri yaklaşık olarak 6 °C artmıştır. Ancak hiçbir çeşitte embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir.

Maksimum ortalama sıcaklık değeri 38,51 °C olarak ölçülen 22.05.2020 tarihli 10. denemede ovaryum sera içi sıcaklığı tüm denemelerdeki en yüksek sıcaklık seviyesine ulaşmıştır. Bunun dışında baz alınan tüm sıcaklık değerlerinde en yüksek seviyede ölçüm yapılmıştır. Bu haftada embriyo oluşumu sadece Sedir çeşidinden gerçekleşmiş olup, %40,00 oranında embriyodan bitkiye dönüşüm saptanmıştır.

On birinci denemede kullanılan ovaryumların sera içi sıcaklığı ile onuncu haftada kullanılan ovaryumların sera içi sıcaklığı arasında yaklaşık 8 °C'lik bir artış olduğu belirlenmiştir. Minimum sıcaklık değeri ise 11. haftada 11,93 °C olarak kaydedilmiştir. Mayıs ayının son haftasında sadece Ufuk çeşidinde %73,33 oranında embriyo rejenerasyonu gerçekleşmiştir. Sedir çeşidinden 30 adet embriyo gelişmesine rağmen, embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen ortalama rejenerasyon oranı ise %33,85'tir.

Sera içi sıcaklıkları minimum, ortalama ve maksimum 11,75 °C, 20,74 °C ve 29,73 °C olarak belirlenen haziran ayının ilk haftasında kültüre alınan ovaryumlardan, sadece Sedir çeşidinde bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir. Oransal olarak değerlendirildiğinde ise %37,18'lik bir oran elde edilmiştir.

Son denemede ise, kültüre alınan ovaryumların sera içi sıcaklıkları, tüm haftalar arasındaki en yüksek ikinci değere ulaşılmıştır. Buna göre minimum, ortalama ve maksimum değerleri sırasıyla 36,89 °C, 25,26 °C ve 13,64 °C ölçülmüştür. Çalışmanın 2020 Bahar ayında son hafta kültüre alınan ovaryumlardan hiç embriyo oluşumu oluşmamış olup, dolayısıyla bitki eldesi gerçekleşmemiştir.

Tüm denemelerdeki embriyodan bitkiye dönüşüm oranlarının donör bitki üzerindeki kültüre alınacak ovaryumun sera içi sıcaklığı ile ilişkilendirilmesinin tek başına yeterli olmadığı söylenebileceğinin yanı sıra bitkinin maruz kaldığı yüksek sıcaklık stresinin Ufuk çeşidinde embriyonun bitkiye dönüşümünü olumlu etkilediği görülmüştür. Ancak Sedir çeşidinde ise iyi bir oranda embriyo oluşmasına rağmen bitki bulgusuna rastlanmadığı 11. hafta denemelerinde, yüksek sıcaklığın embriyodan bitkiye dönüşümde net bir etkisinin olup olmadığı netlik kazanmamıştır. Çeşitlere göre farklı sonuçlara ulaşılmıştır. En yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm oranlarının görüldüğü 3., 4. ve 12. haftalar arasında sıcaklık bakımından net bir ilişki bulunamamıştır.

4.4. 2020 Yılı Güz Sezonu Hıyarda Ovaryum Kültürü Yöntemi ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Bulgular

4.4.1. Donör bitki yaşının hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi

2020 Güz sezonunda donör hıyar bitkileri 31.08.2020 tarihinde seralara dikilmiş olup, 17.09.2020 tarihinde ilk deneme kurulmuştur. Ufuk çeşidinden 686 adet, Meriç çeşidinden 703 adet, Sedir çeşidinden 727 adet olmak üzere toplamda 2116 adet ovaryum

denemeye tabi tutulmuştur. Bu sezonda diğer sezonlara göre en yüksek oranda ovaryum kültüre alınmıştır.

Donör bitkilerden her hafta bir defa olmak üzere toplamda 15 defa deneme kurulmuştur. Çeşitlere göre kültüre alınan ovaryum sayısı, embriyo sayısı ve bitki sayıları Çizelge 4.7’de verilmiştir. Bu sayılara göre hesaplanan embriyo oluşum oranları (Şekil 4.22), bitki oluşum oranları (Şekil 4.23) ve elde edilen embriyo sayısına göre bitki dönüşüm oranları (Şekil 4.24) alt başlıklarda verilmiştir. 2020 Güz sezonu donör bitkinin yaşının gynogenesis üzerine etkisi aşağıdaki başlıklarda detaylı bir şekilde incelenmiştir.

Çizelge 4.7. 2020 Güz sezonu haftalık kültüre alınan ovaryum sayıları, gelişen embriyo ve bitki sayıları

Hafta		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Tarih		17.09	24.09	02.10	09.10	15.10	23.10	30.10	06.11	13.11	20.11	27.11	04.12	11.12	17.12	25.12
Çeşitler																
Ufuk	O. S.	60	54	54	51	47	39	59	45	50	45	45	42	32	30	33
	E. S.	18	2	0	10	0	0	4	1	2	0	91	9	0	0	2
	B. S.	1	0	0	8	0	0	4	0	1	0	35	2	0	0	1
Meriç	O. S.	60	57	58	59	48	40	49	51	50	45	45	45	30	30	36
	E. S.	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	4
	B. S.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Sedir	O. S.	60	60	60	60	48	45	62	54	50	45	45	45	30	30	33
	E. S.	20	47	473	197	185	508	1	8	0	33	3	13	7	7	0
	B. S.	8	12	221	56	67	161	0	3	0	16	0	10	4	1	0
Toplam	O. S.	180	171	172	170	143	124	170	150	150	135	135	132	92	90	102
	E. S.	38	49	473	207	185	508	5	12	2	33	94	22	7	7	6
	B. S.	9	12	221	64	67	161	4	3	1	16	35	12	4	1	5

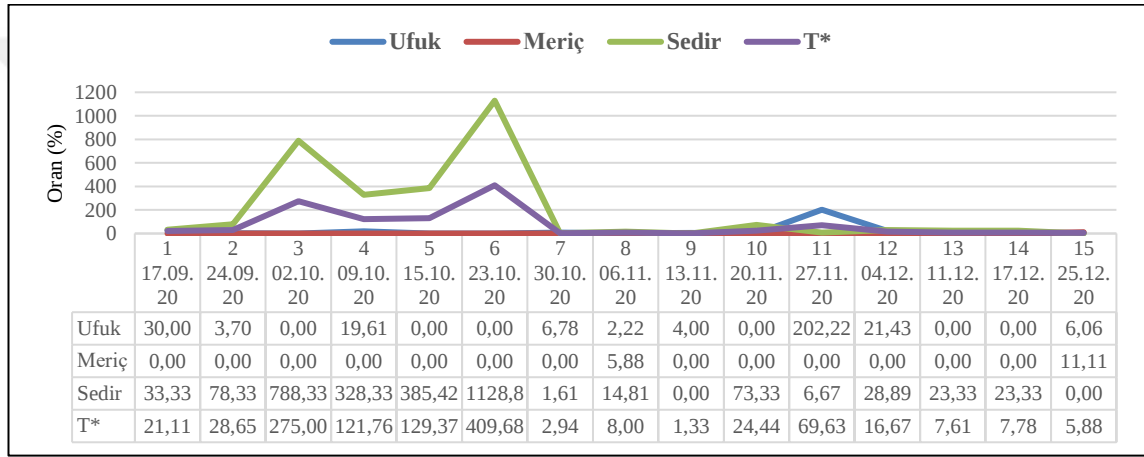
Not: O.S.; Ovaryum Sayısı (Adet), E.S.; Embriyo Sayısı (Adet), B.S.; Bitki Sayısı (Adet)

4.4.1.1. Donör bitki yaşının embriyo oluşumu üzerine etkisi

2020 yılı Güz döneminde yürütülen çalışmadan toplamda 15 adet deneme kurulmuştur. Bir önceki yılda güz döneminde sadece 10 hafta yürüttüğümüz araştırma bir ay daha uzatılarak donör bitki etkinlikleri incelenmiştir. Donör bitki yaşı değerlendirildiğinde 15 haftalık bir yaş incelemesinde bulunulmuş ve sonuçlandırılarak çizelgelerde gösterilmiştir. Çizelge 4.7’ye göre bir hafta yaşında kabul edilen ilk deneme tarihinde, tüm çeşitlerden toplamda 180 adet ovaryum kültüre alınmış olup, bunlardan %21,11 oranında embriyo elde edilmiştir. Bu haftada embriyo oluşturma oranı en yüksek Sedir çeşidi (%33,33) belirlenmiştir (Şekil 4.22). Ancak Ufuk çeşidinde de embriyo oluşturma yüzdesi Sedir çeşidine çok yakın bir oranda (%30,00) seyretmiştir. Meriç çeşidinde ise hiç embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir.

İki hafta yaşında olan donör bitkiler embriyo oluşum oranı açısından değerlendirildiğinde tüm çeşitlerden ortalama oluşan embriyo oranı %28,65'tir. Geçen haftada olduğu gibi bu haftada da Sedir çeşidi %78,33 embriyo yüzdesi ile diğer çeşitlerin önüne geçmiştir. Meriç çeşidinde ikinci haftada da embriyo oluşmaz iken; Ufuk çeşidinde de oldukça sınırlı bir oranda embriyo oluşmuştur (%3,70). Bu haftada toplamda 49 adet embriyo oluşmuş olup, bunun 47 tanesi Sedir çeşidine aittir.

Ekim ayının ilk haftasında 3 hafta yaşında olan donör bitkiler embriyo oluşturma başarı oranı açısından değerlendirildiğinde, toplamda 172 adet ovaryum kültüre alınmış olup, deneme sonucunda 473 adet embriyo oluşmuştur. Çeşitler açısından değerlendirildiğinde ise sadece Sedir çeşidinde %788,33 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Bu oran tüm haftalar arasında Sedir çeşidinde saptanan en yüksek ikinci oran olarak kaydedilmiştir.



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo oluşum oranı

Şekil 4.22. 2020 Güz sezonu donör bitki yaşına göre embriyo oluşum oranları (%)

Dördüncü haftada denemelerinde Ufuk çeşidinde sınırlı bir oranda da olsa bir artış görülmüş olup, bu oran %19,61 olarak belirlenmiştir. Meriç çeşidinde yine bir embriyo oluşumu gerçekleşmezken, Sedir çeşidi bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 2,5 kat bir azalma göstermiştir. Bu çeşitten toplamda bu haftada kültüre alınan 60 ovaryumdan 197 adet (%328,33) embriyo elde edilmiştir.

Ekim ayının ortasında beş hafta yaşında olan bitkilerin döllenmemiş ovaryumları kültüre alındığında, Ufuk ve Meriç çeşitlerinden hiç embriyo elde edilmemiş olup, Sedir çeşidinden ise bir önceki haftaya yakın oranlarda bir embriyo gelişmiştir. Sedir çeşidinde bu haftada 48 ovaryum kültüre konulmuş olup, bunlardan %385,42 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Tüm çeşitlerden toplamda kültüre alınan ovaryum sayısı kıyaslandığında ise bu haftada embriyo oluşum oranı %129,37 olarak kaydedilmiştir.

Altı hafta yaşına ulaşan donör bitkilerin embriyo oluşum oranları Meriç ve Ufuk çeşitlerinde yine değişmemiş, dolayısı ile embriyo elde edilmemiştir. Ancak Sedir çeşidinde tüm denemeler boyunca en yüksek sonuca ulaşılmıştır. Bu çeşitten 45 ovaryum

kültüre alınmış olup, toplamda 508 adet embriyo elde edilmiştir. Oransal açıdan bakıldığında ise %1128,89 oranında bir embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Ekim ayının son haftasında kültüre alınan tüm ovaryumlardan gelişen embriyo sayısı sadece 5 adettir. Sedir çeşidinde bu haftadan sonra embriyo sayılarında genel anlamda bir azalma olup, bu haftada bir önceki haftaya göre çok ani bir düşüş (%1,61) tespit edilmiştir. Ancak iki haftadır hiç embriyo oluşmayan Ufuk çeşidi ilk defa embriyo oluşumu açısından Sedir çeşidinin önüne geçmiştir. Oransal açıdan değerlendirildiğinde Ufuk çeşidi %6,78 oranında embriyo oluşturmuştur. Meriç çeşidinde yedinci haftada da embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir.

Kasım ayının ilk haftasında kurulan denemeye göre tüm çeşitlerden %8,00 oranında embriyo oluşmuş olup, tüm çeşitlerde embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Bu haftada en iyi yanıt alınan çeşit %14,81 oranı ile Sedir çeşidi olurken, ikinci olan çeşit %5,88 oran ile Meriç olmuştur. Ufuk çeşidinde ise %2,22 oranında embriyo oluşumu belirlenmiştir. Sayısal olarak değerlendirildiğinde ise Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinden sırasıyla 1, 3, 8 adet embriyo elde edilmiştir. Dokuz hafta yaşında olan donör bitkilerden ise %4,00 oran ile sadece Ufuk çeşidinde embriyo oluşumu gerçekleşmiştir.

20.11.2020 tarihli denemede toplamdan kültüre alınan ovaryumlar değerlendirildiğinde embriyo oluşum yüzdesi %24,44 olarak tespit edilmiş olup, sadece Sedir çeşidinde embriyo oluşumu saptanmıştır. Bu çeşitte toplamda 45 adet ovaryum kültüre alınmış olup, bunlardan %73,33 oranında embriyo gelişmiştir. Kasım ayının son haftasında ise Ufuk çeşidi artış göstermiş olup, %202,22 oranında embriyo tespit edilmiştir. Meriç çeşidinde embriyo oluşmaz iken, bu oran Sedir’de oldukça sınırlı bir seviyede (%6,67) kalmıştır. Tüm çeşitlerden toplamda 135 adet ovaryum denemeye tabi tutulmuş ve 94 adet embriyo gelişimi saptanmıştır.

On ikinci hafta yaşında döllenmemiş ovaryumları kullanılan çeşitlerin embriyo oluşturma yüzdeleri Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinde sırasıyla %21,43, %0,00 ve %28,89’dur. Bu haftada en yüksek yanıt Sedir’den alınmıştır. Tüm çeşitlerden %16,67 oranında embriyo bulunmuştur. Aralık ayının ikinci ve üçüncü haftasında ise sadece Sedir çeşidinde, iki haftada da %23,33 oranında embriyo tespit edilmiştir. On üç hafta yaşında olan donör bitkilerin toplam embriyo oluşturma yüzdeleri değerlendirildiğinde %7,61 rakamı karşımıza çıkarken; bu ondördüncü haftada bu oran %7,78 olarak görülmüştür. Son hafta kurulan denemede ise sadece Sedir çeşidinde embriyo oluşumu tespit edilememiş, Ufuk ve Meriç çeşitlerinden ise 2 ve 4 adet embriyo oluşmuştur.

Bu sezonda tüm denemeler ele alındığında Meriç çeşidinde oldukça sınırlı sayıda embriyo tespit edilmiştir. Bu sezonda genel olarak kasım ayının ortasına kadar yaşanan yüksek derecedeki sıcaklıkların embriyo oluşmamasında etken olabileceği gibi, farklı faktörler de bu embriyo oluşumunu olumsuz etkilemiş olabilir. Bu sebeple bu çeşitte embriyo oluşumunu tetikleyen enzim ve hormonların yeterince aktivite edilmediği de düşünülebilir. Bununla birlikte kasım ayından sonra embriyo oluşumunun görülmüş olması, bu çeşidin geçen sezonlarda görüldüğü gibi fotoperiyota karşı duyarlı olduğunu doğrular niteliktedir.

2020 Güz sezonunda Sedir çeşidinde genel anlamda bitki yaşı embriyo oluşumunu etkilemiş olup, 7. haftadan itibaren yüksek oranlarda embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir. Özellikle 3., 4., 5. ve 6. haftalarda yüksek düzeyde embriyoya rastlanmıştır.

Ufuk çeşidinde ise en yüksek embriyo oluşumu 11. haftada saptanmış olup, bu çeşitte bir aktif bir durağan dönem şeklinde embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Hıyar bitkilerinin yetiştirilmesi esnasında da çiçeklenme döneminin aynı şekilde seyrettiği de bildirilebilir. Bu çeşidin bu sezonda bitki yaşına karşı duyarlı olduğu söylenemez.

Sedir çeşidinin en aktif çiçeklenme dönemi ilk 6 haftada gerçekleşirken, ilerleyen dönemde durgunluk dönemine girilmiş ve çiçeklenme oranı düşmüştür. Bununla birlikte ilerleyen dönemlerde de çiçeklenme ilk haftalardaki gibi olmasa da kısmen artış göstermiştir. Çiçeklenme oranı ile embriyo oluşumu arasında bir ilişki olabileceği düşünülmektedir. Ancak Meriç çeşidinin günlerin kısılmasına paralel olarak çiçeklenme oranı ve ovaryum büyüklüğü artış göstermiş olup, bu çeşidin embriyo oluşum oranında bir değişme kaydedilememiştir. Bu çeşit için çiçeklenme oranı ile embriyo oluşumu arasında bir ilişki vardır demek doğru olmaz. Genotiplerin etkisi açıkça bitki yaşını da etkileyen bir etmen olarak karşımıza gelmektedir.

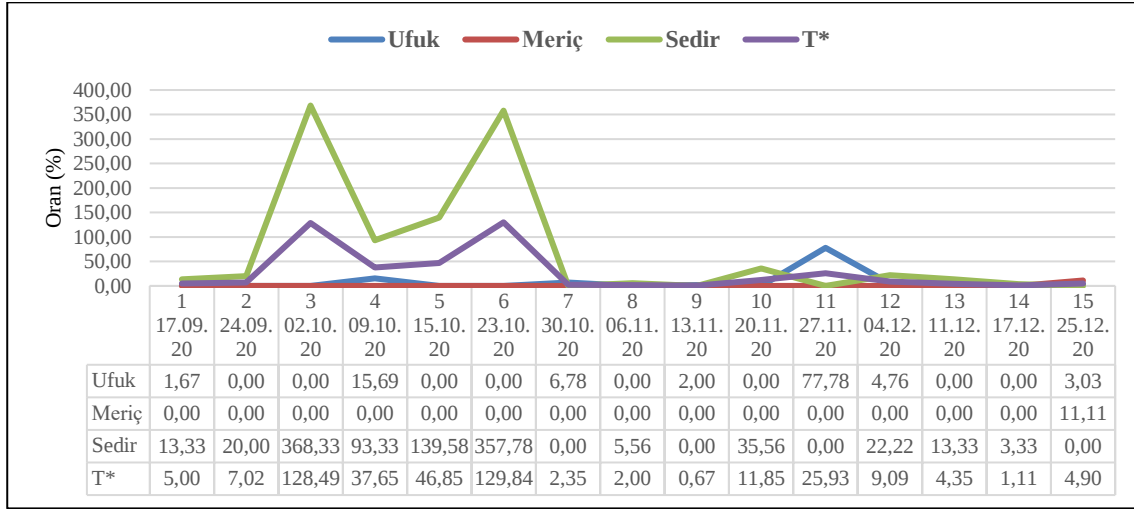
4.4.1.2. Donör bitki yaşının bitki oluşumu üzerine etkisi

Çalışmamızın 2020 Güz sezonunda tüm sezonlara kıyasla en fazla sayıda döllememiş hıyar ovaryumları (2116 adet) kültüre alınmıştır. Donör bitkilerin 15 haftalık bitki oluşturma tepkilerinin incelendiği bu başlıkta, en fazla ilk dört haftada ovaryum denemeye tabi tutulmuştur.

İlk hafta kurulan denemeden her bir çeşitten 60 adet ovaryum kültüre alınmış olup, en fazla bitki oluşum oranı Sedir çeşidinde (%13,33) gerçekleşmiştir (Şekil 4.23). Meriç çeşidinde embriyo oluşumu olmadığı için bitki de gelişmemiştir. Ufuk çeşidinde ise kültüre alınan ovaryum sayısına göre rejenere olan bitki oranı %1,67 olarak belirlenmiştir. İkinci hafta denemelerinde sadece Sedir çeşidinde bitki eldesi gerçekleşirken, toplamda 12 adet bitki elde edilebilmiştir. Üçüncü hafta denemelerinde de Sedir çeşidinde kültüre alınan 60 ovaryumdan 221 adet bitki elde edilmiş olup, tüm denemeler boyunca elde edilen en yüksek bitki sayısına ulaşılmıştır. Meriç ve Ufuk çeşitlerinde embriyo oluşumu gerçekleşmediği için bitki oluşmamıştır. Oransal açıdan değerlendirildiğinde Sedir çeşidinde %368,33 oranında, tüm çeşitlerden kültüre alınan ovaryum sayısına göre %128,49 oranında bitki gelişmiştir.

Dört hafta yaşındaki donör bitkilerin bitki oluşum yetenekleri bakımından tüm çeşitlerden %37,65 oranında bitki eldesi gerçekleşmiştir. Ufuk çeşidinde bu haftada bitki elde edilirken, Meriç çeşidinde embriyo oluşumu gerçekleşmediği için bitki de oluşmamıştır. Ufuk çeşidinde bu haftada 8 adet bitki elde edilirken, bitki oluşum oranı %15,69'dur. Sedir çeşidi bir önceki haftaya göre bir düşme eğilimi göstermiş olup, %93,33 oranında bitki oluşumu gerçekleştirmiştir. Beş ve altı hafta yaşına ulaşan tüm çeşitlerden sadece Sedir çeşidinden bitki kayıt altına alınırken, bu çeşitte beşinci haftada

rejenerasyon oranı %139,58 ve altıncı haftada %357,78 olarak saptanmıştır. Altı hafta yaşında bu çeşitten elde edilen en yüksek ikinci bitki eldesi oranı gerçekleşmiştir. Kültüre alınan 48 adet ovaryumdan 161 adet bitki gelişmiştir.



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen bitki oluşum oranı

Şekil 4.23. 2020 Güz sezonu donör bitki yaşına göre bitki oluşum oranları (%)

Ekim ayının son haftasında kültüre alınan döllenmemiş hıyar ovaryumlarından 170 adet ovaryum kültüre alınmış olup, bitki gelişimi oldukça sınırlı seviyede kalmıştır. Bu haftada sadece Ufuk çeşidinden 4 adet bitki elde edilirken, bitki oranı bu çeşitte %6,78'dir. Sekizinci haftada ise Ufuk ve Meriç çeşitlerinde bitki dönüşümü gerçekleşmemiş olup, sadece Sedir çeşidinde oldukça sınırlı seviyede (%5,56) bitki elde edilebilmiştir. Dokuzuncu hafta denemelerinde de yedinci haftada olduğu gibi sadece Ufuk çeşidinde %2,00 oranında 1 adet bitki elde edilebilmiştir. On hafta yaşında olan donör bitkilerin 100 ovaryuma göre bitki oluşturma frekansı toplamda 11,85 adet olarak belirlenmiştir. Bu haftada da sadece Sedir çeşidinde %35,56 oranında bitki elde edilebilmiştir.

Kasım ayının 27'sinde kurulan denemede ise Ufuk çeşidinde bitki eldesi açısından bir yükselme olmuş olup, bu çeşidin bitki oluşum oranı %77,78 seviyesine ulaşmış ve kendi içerisinde haftalar arasındaki en yüksek seviyesini elde etmiştir. Bu haftada Sedir ve Meriç çeşitlerinden bitki oluşmamıştır. Aralık ayının ilk haftasında kurulan denemelerde Ufuk çeşidinden %4,76 oranında bitki elde edilirken, Sedir çeşidinden %22,22 oranında bitki gelişmiştir. Tüm çeşitlerden kültüre alınan 100 adet ovaryum sayısına göre bitki oluşum frekansı 9,09 adet olarak belirlenmiştir. On üçüncü ve 14. haftalarda sadece Sedir çeşidinde bitki gelişirken, sırasıyla bitki oluşum oranları %13,33 ve %3,33 olarak kayıt altına alınmıştır. Son hafta kurulan denemede ise Meriç çeşidinden tüm haftalarla kıyaslandığında ilk defa bitki oluşumu gerçekleşmiştir. Bu çeşitten kültüre alınan 36 ovaryumdan %11,11 oranında bitki rejenere olmuştur. Ufuk çeşidinde %3,03 oranında bitki elde edilirken, Sedir çeşidinde hiç bitki oluşmamıştır.

Donör bitki yaşının bu sezonda bitki eldesi açısından etkisi genel olarak incelendiğinde Sedir çeşidinde ilk 6 haftada bitki oluşum oranları genel anlamda olumlu ilerlerken, yedinci haftadan itibaren bu çeşitte ciddi bir düşüş yaşanmış ve bundan sonraki

haftalarda oldukça sınırlı oranlarda bitki elde edilebilmiştir. Bu çeşidin donör bitkinin çiçeklenme durgunluğu yaşadığı dönemlerde, bitki elde oranlarında da düşüş olduğu saptanmıştır. Bu çeşidin bitki eldesi açısından donör bitki yaşından doğrudan etkilenir demenin ziyadesinde, bitki yaşının da bitki eldesine etkisi vardır demek daha doğru bir yaklaşım olur. Donör bitki yaşının tek başına bitki eldesini etkilemediği, donör bitkinin geçirdiği farklı süreç ve maruz kaldığı etmenlerin de etkisi olduğu düşünülmektedir. Ufuk çeşidinde ise bitki eldesi açısından bu sezonda belirlenen ikinci en yüksek oran belirlenmiş olup, bu çeşitte bitki eldesi doğrudan donör bitki yaşı ile ilişkili olmamıştır. Dördüncü ve 11. haftalarda en yüksek bitki eldesi tespit edilmiştir. Meriç çeşidinin ise bu dönem bitki oluşturma tepkisi oldukça sınırlı kalmıştır. Bunun donör bitki yaşının dışında farklı etmenlerden kaynaklı olarak yaşanmış olunabileceği düşünülmektedir.

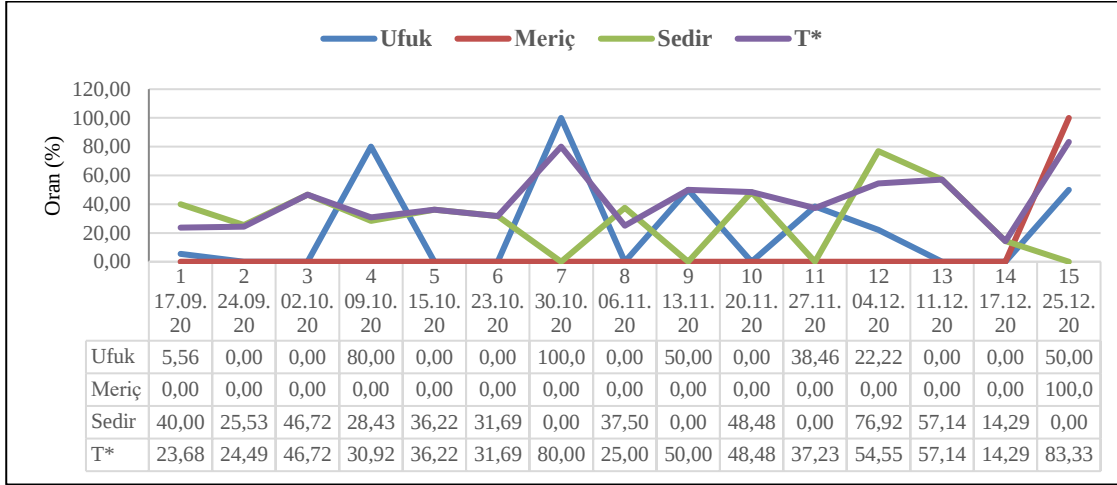
4.4.1.3. Donör bitki yaşının elde edilen embriyoya göre bitkiye dönüşüm oranları üzerine etkisi

Çalışmanın son sezonunda çeşitler embriyo oluşumu açısından farklı dönemlerde farklı tepkiler vermiş olup, tüm çeşitlerden toplamda 1648 adet embriyo elde edilmiştir. Embriyo eldesi açısından en iyi yanıt alınan çeşit 1502 adet embriyo oluşumu ile Sedir çeşidi olurken, Meriç çeşidi sadece 7 adet embriyo oluşumu ile en az yanıt alınan çeşit olarak belirlenmiştir. Ufuk çeşidinde ise 139 adet embriyo oluşmuş olup, dönem dönem artan, dönem dönem azalan bir embriyo oluşumu göstermiştir.

Bir hafta yaşındaki bitkilerden toplamda 38 adet embriyo kayıt altına alınmış bunların %23,68'i bitkiye dönüşmüştür. Embriyodan bitkiye dönüşüm bu haftada Sedir çeşidinde %40,00 olarak belirlenirken, bu oran Ufuk çeşidinde %5,56'da kalmıştır. Meriç çeşidinden tüm sezon boyunca sadece on beşinci haftada embriyo elde edilmiştir. Dolayısı ile on dört hafta boyunca bitki dönüşümü de hesaplanamamıştır. İkinci ve üçüncü haftada sadece Sedir çeşidinde embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşmiş olup, elde edilen embriyo sayısına göre bitki eldesi oranlandığında ise sırası ile bu çeşitte %25,53 ve %46,72 oranlarına ulaşılmıştır. Özellikle üçüncü haftada en yüksek ikinci embriyo sayısına (473 adet) ulaşan bu çeşitte 221 adet bitki elde edilmiştir. Dört hafta yaşına ulaşan donör bitkilerin embriyodan bitkiye dönüşüm oranları tüm çeşitlerde ortalama olarak %30,92 bulunmuş olup, bu haftada en yüksek yanıt veren çeşit %80,00 (10 adet embriyo, 8 adet bitki) yüzdesi ile Ufuk çeşidi olmuştur (Şekil 4.24). Ancak sayısal anlamda en yüksek embriyo ve bitki eldesi Sedir çeşidinde gerçekleşmiştir (197 adet embriyo, 56 adet bitki).

Beşinci ve altıncı hafta yaşında ulaşan donör bitkilerden elde edilmiş olan embriyoların bitkiye dönüşüm oranı ise tüm çeşitlerde sırasıyla %36,22 ve %31,69 olarak bulunmuştur. Bu haftada sadece Sedir çeşidinden embriyo elde edilmiş olup, sadece bu çeşitte bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir. Sedir çeşidinde özellikle altıncı haftada en yüksek embriyo eldesi (508 adet embriyo) gerçekleşirken, en yüksek oranda embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. Yedi haftalık donör bitkilerden gelişen embriyo sayısı sadece 5 adettir ve bunun 4 tanesi Ufuk çeşidinden elde edilmiştir. Bu çeşitte elde edilen embriyoların 4'ü de bitkiye dönüşmüş ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranı ise %100,00 olarak belirlenmiştir. Sedir çeşidinden elde edilen 1 adet embriyo bitkiye dönüşmemiştir. Aralık ayının altısında kurulan denemede sadece Sedir çeşidinden embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşmiş olup, oransal açıdan bakıldığında bu çeşitte

%37,50 sonucuna ulaşılmıştır. Aslında bu haftada tüm çeşitlerden embriyo elde edilmiştir. Ancak bitkiye dönüş sadece Sedir çeşidinde görülmüştür.



T*: Tüm çeşitlerden toplam elde edilen embriyo sayısına göre bitkiye dönüşüm oranı

Şekil 4.24. 2020 Güz sezonu donör bitki yaşına göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)

13.11.2020 tarihli denemede ise sadece Ufuk çeşidinden 2 adet embriyo elde edilmiş ve bu embriyoların 1 adedi bitkiye dönüşmüştür (%50,00). Kasım ayının 3. haftasında on hafta yaşında olan donör bitkilerden ise 33 adet Sedir çeşidinde embriyo elde edilmiş olup, bunların %48,48'i rejenere olarak bitki oluşturmuştur. On birinci haftada ise %38,46 Ufuk çeşidinde embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşirken, Sedir çeşidinde 3 adet embriyo elde edilmesine rağmen bitki oluşmamıştır. Bu haftada Ufuk çeşidinden elde edilen en yüksek embriyo sayısına (91 adet embriyo) ulaşılmış olup, 35 adet bitki elde edilmiştir. 04.12.2020 tarihli denemede elde edilen embriyo sayısı 22 adet olarak belirlenmiş olup, bunlar 13 adet Sedir ve 9 adet Ufuk çeşidinden elde edilmiştir. Ufuk çeşidinde %22,22 oranında embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşirken, Sedir çeşidinde bu oran %76,92 olarak hesaplanmıştır. Sedir çeşidinde embriyodan bitkiye dönüşüm oranı açısından bu haftada en yüksek orana ulaşılmıştır. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyo sayısına göre bu haftada hesaplanan oran %54,55 olarak belirlenmiştir. On üçüncü ve on dördüncü haftalarda sadece Sedir çeşidinden embriyo elde edilmiş ve bu embriyoların bitkiye dönüşüm oranları %57,14 ve %14,29 olarak kayıt altına alınmıştır. Son haftada ise Ufuk ve Meriç çeşitlerinden embriyo elde edilmiştir. Meriç çeşidinden ilk defa embriyodan bitkiye dönüşüm gözlenmiş olup, oransal açıdan değerlendirildiğinde %100,00 gibi bir orana ulaşılmıştır. Ufuk çeşidinde ise bu oran %50,00 olarak belirlenmiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyo sayısına göre elde edilen bitki oranı ise %83,33'tür.

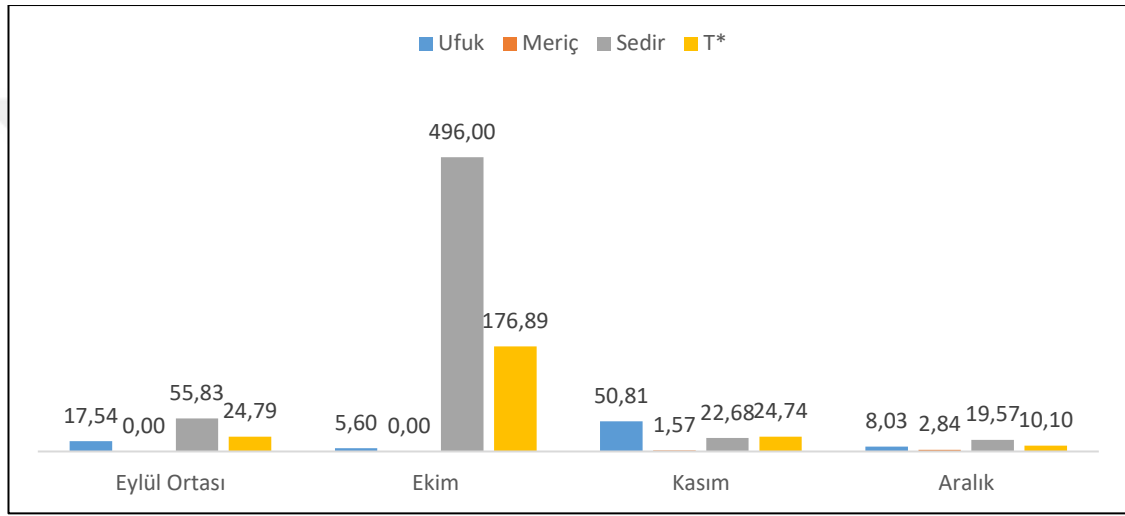
Bu sezonda elde edilen sonuçlara göre elde edilen embriyoların bitkiye dönüşüm oranları gözlemlendiğinde tüm çeşitlerde donör bitki yaşının bir etkisi olmadığı saptanmıştır. Farklı dönemlerde elde edilen embriyo sayılarına göre embriyoların bitkiye dönüşümleri farklılık göstermiştir. Yüksek embriyo sayılarında yüksek bitki dönüşüm oranları gözlenememesinin aksine bazı dönemlerde düşük embriyo sayılarında daha yüksek bitki eldesi oranına ulaşılmıştır.

4.4.2. Donör bitkinin yetiştirilme aylarının ovaryum kültürü üzerine etkisi

2020 Güz sezonu çalışmalarında eylül ortası ve aralık ayları arasındaki kalan dönemde toplamda 15 hafta deneme kurulmuştur. Bu denemelere göre yaklaşık dört aylık embriyo oluşum, bitki eldesi ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları Şekil 4.25, Şekil 4.26 ve Şekil 4.27'ye göre değerlendirilmiştir.

4.4.2.1. Aylara göre embriyo oluşum oranları

Eylül ayında başlanan denemelerde embriyo oluşumu bakımından %55,83 oran ile Sedir çeşidi birinci olurken %17,54 oran ile Ufuk çeşidi ikinci olmuştur. Meriç çeşidinden ise hiç embriyo oluşmamıştır. Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo oluşum oranı ise %24,79'dur (Şekil 4.25).



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen embriyo oluşum oranı

Şekil 4.25. 2020 Güz sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyo oluşum oranları (%)

Ekim ayı verilerine göre bu ayda Sedir çeşidi diğer aylara oranla en yüksek embriyo oluşum oranına ulaşmıştır. Bu çeşitten elde edilen oran ise %496,00 olarak kaydedilmiştir. Meriç çeşidinden bu ayda geçen ayda olduğu gibi embriyo oluşmamış, Ufuk'ta da sınırlı bir oranda (%5,60) embriyo bulgusuna rastlanmıştır. Ekim ayı verilerine göre ortalama embriyo oluşum oranı %176,89 dur.

Ortalama oranda tüm çeşitlerden elde edilen %24,74 oranı kasım ayı içerisinde gerçekleşmiştir. Bu ayda birinci olan çeşit %50,81 ile Ufuk olurken, %22,68 ile Sedir ikinci en yüksek orana ulaşan çeşit olmuştur. Meriç çeşidinde ise %1,57 oranında embriyo gelişmiştir.

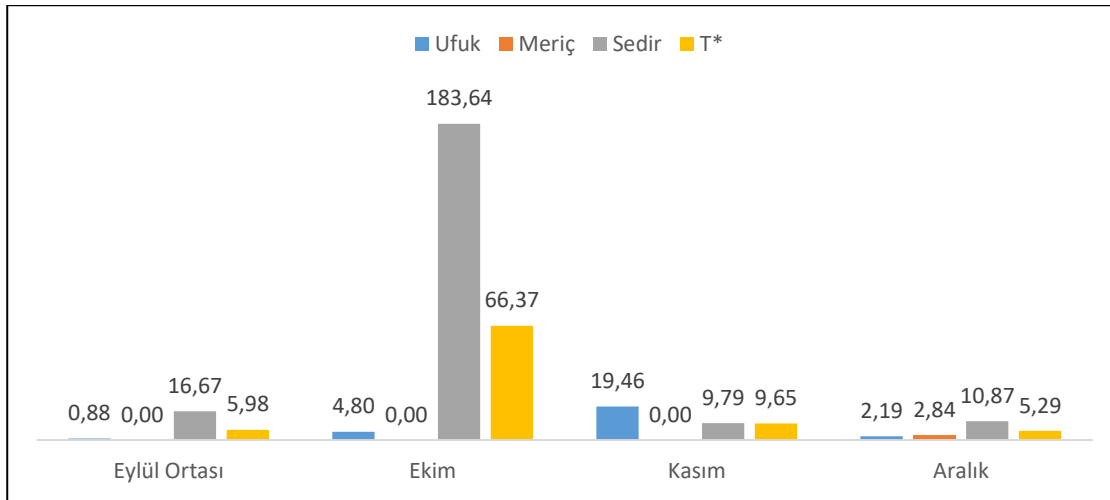
Aralık ayı sonuçlarına göre tüm çeşitlerden embriyo elde edilmiş olup, %19,57 oran ile Sedir çeşidinde en yüksek embriyo verimi görülmüştür. Ufuk çeşidi bir önceki aya göre düşüş göstererek %8,03 oranına ulaşmıştır. Meriç çeşidinde %2,84 oranında embriyo oluşumu gerçekleşirken, ortalama tüm çeşitlerden elde edilen oran %10,10'dur.

Aylar bazında değerlendirildiğinde ortalama embriyo verimi açısından en başarılı olunan ay ekim ayı olurken, en az oran elde edilen ayın aralık ayı olduğu görülmüştür. Ufuk çeşidi en yüksek başarı oranını kasım ayında yakalamış olup, en düşük başarı oranını ise ekim ayında göstermiştir. Meriç çeşidinde ise ilk iki ayda embriyo elde edilmemiş olup, kasım ve aralık aylarında da sınırlı bir oranda embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Bu çeşit için en iyi yanıt alınan ay aralık olarak kabul edilebilir. Sedir çeşidinde ise diğer aylara oranla en yüksek embriyo sayısı ekim ayında gerçekleşmiştir. Bu çeşidin en az yanıt verdiği ay aralık olarak belirlenmiştir.

4.4.2.2. Aylara göre bitki oluşum oranları

Eylül ayı deneme sonuçlarına göre en yüksek bitki eldesi %16,67 oran ile Sedir çeşidinde gerçekleşmiştir. Ufuk çeşidinden bu ayda %0,88 bitki oluşum oranına ulaşılrken, Meriç çeşidinde embriyo elde edilemediği için bitki oluşmamıştır. Eylül ortasında başlayan denemelerde ortalama bitki oluşum oranı %5,98'dir. Ekim ayında kurulan denemelere göre ortalama bitki oluşum oranı %66,37 olarak hesaplanmıştır. En yüksek bitki eldesi oranı bir önceki ayda olduğu gibi yine Sedir çeşidinde gerçekleşmiştir. Oransal açıdan bakıldığında bu çeşidin bitki oluşturma yüzdesi %183,64 olarak bulunmuştur. Ufuk çeşidinde bitki elde oranlarında bu ayda az bir miktarda da olsa artış gözlenmiş olup, bu çeşit %4,80 oranında bitki oluşturmıştır. Meriç çeşidinde bitki dönüşümü gerçekleşmemiştir (Şekil 4.26).

Kasım ayında kurulan denemelere göre Ufuk çeşidi bitki eldesi açısından yükselişe geçmiş ve %19,46 ulaşmıştır. Bu oran Ufuk çeşidinin bu ayda diğer çeşitlerin önüne geçmesini sağlamıştır. Sedir çeşidinde ise ciddi bir düşüş saptanmış olup, bu çeşitte %9,79 oranı olarak belirlenmiştir. Meriç çeşidinde bu ayda da bitki oluşumu gerçekleşmemiştir. Tüm çeşitlerden kültüre alınan ovaryum sayısına göre bitki eldesi oranı %9,65'tir.



T*: Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen bitki oluşum oranı

Şekil 4.26. 2020 Güz sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre bitki oluşum oranları (%)

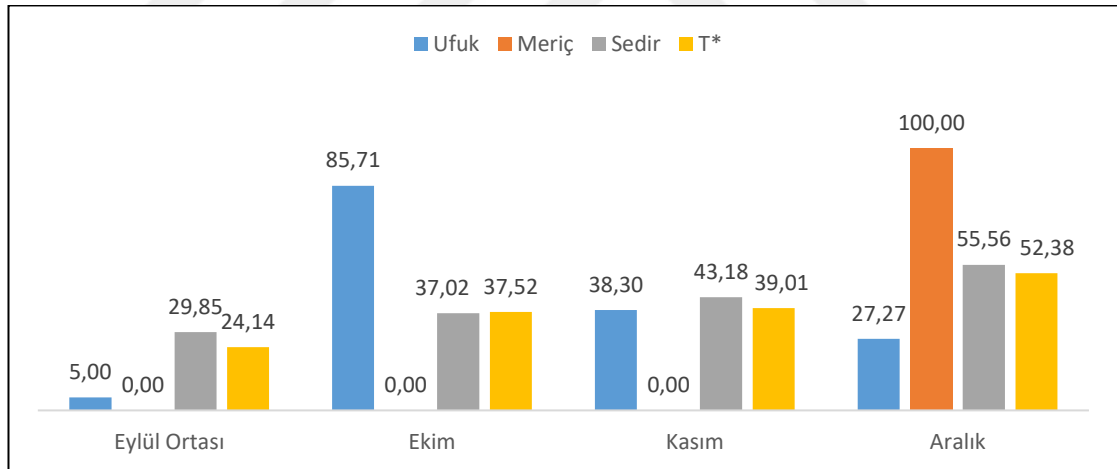
Aralık ayı verilerine göre %10,87 oran ile Sedir çeşidi birinci olurken, Meriç çeşidinde ilk defa bitki bulgusuna rastlanmıştır. Meriç çeşidinin bitki eldesi oranı %2,84'tür. Ufuk çeşidinde ise bu oran %2,19 olarak hesaplanmıştır. İki çeşit arasındaki fark düşüktür. Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen bitki gelişim oranı %5,29'dur.

Aylar bazında değerlendirme yapıldığında bitki eldesi açısından ortalama en yüksek bitki verimine ekim ayında ulaşılmıştır. Ancak Meriç çeşidinden ekim ayında bitki elde edilememiştir. Ufuk çeşidi için en iyi yanıt alındığı ay kasım ayı olarak belirlenirken, bitki eldesi oranı en az eylül ayında saptanmıştır. Meriç çeşidinde ise sadece aralık ayında bitki bulgusuna rastlanmıştır. Ekim ayı Sedir çeşidi için bitki eldesi açısından en uygun ay olarak bulunmuştur. Bu çeşit en düşük başarı oranına kasım ayında ulaşmıştır.

4.4.2.3. Aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları

2020 Güz sezonunda kültüre alınan ovaryumlardan gelişen embriyolar rejenerasyona uğrayarak bitkiye dönüşmüştür. Elde edilen embriyo sayılarına göre bitki eldesi oranları aylık olarak hesaplanmış ve çizelgede verilmiştir.

Şekil 4.27'ye göre eylül ayında ortalama embriyodan bitkiye dönüşüm oranı %24,14 olarak tespit edilmiştir. Bu ayda en yüksek bitki dönüşüm oranı %29,85 oran ile Sedir çeşidinde gerçekleşirken, Ufuk çeşidinde %5,00 oranında bitki elde edilmiştir. Meriç çeşidinde ise embriyo eldesi gerçekleşmediği için bitki oluşumu hesaplanmamıştır.



T*: Tüm çeşitlerden toplam elde edilen embriyo sayısına göre bitkiye dönüşüm oranı

Şekil 4.27. 2020 Güz sezonu donör bitkinin yetiştirildiği aylara göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)

Ekim ayında ise en yüksek bitki oluşumu %85,71 oran ile Ufuk çeşidinde görülmüş olup, bu çeşit embriyodan bitkiye dönüşüm oranı en yüksek olan çeşit olarak belirlenmiştir. Meriç çeşidinde eylül ayında olduğu gibi embriyo oluşmamış ve bitki dönüşümü gerçekleşmemiştir. Sedir çeşidinde ise embriyo rejenerasyon oranı %37,02 olarak hesaplanmıştır. Ortalama bitkiye dönüşüm oranı ise %37,52'dir.

Kasım ayında Sedir çeşidi %43,18 oranına ulaşmış ve diğer çeşitler arasında birinci olmuştur. Ufuk çeşidinde ise bu oran %38,30 olarak hesaplanmıştır. Meriç çeşidinde sınırlı sayıda embriyo elde edilmesine rağmen bitki dönüşümü gerçekleşmemiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyo sayısına göre embriyodan bitkiye dönüşüm oranı %39,01 olarak belirlenmiştir.

Aralık ayında kurulan denemelere göre en yüksek bitkiye dönüşüm sınırlı sayıda embriyo oluşturan Meriç çeşidinde %100,00 oranında görülmüştür. Sedir çeşidi ise %55,56 oran ile bu ayda ikinci olurken, Ufuk çeşidi %27,27 oran ile üçüncü olmuştur. Toplam embriyo sayısına göre bu ayda ortalama bitki dönüşüm oranı %52,38'dir.

Tüm çeşitlerden elde edilen toplam embriyo sayısına göre en yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm oranına aralık ayında ulaşılırken, en düşük bitkiye dönüşüm oranı eylül ayında saptanmıştır. Ufuk çeşidi için en yüksek embriyo dönüşüm oranı ekim ayında hesaplanırken, bu çeşitte en düşük oran eylül ayında görülmüştür. Meriç çeşidinde ilk üç ayda bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiş olup, aralık ayında elde edilen embriyoların hepsi bitkiye dönüşmüştür. Sedir çeşidinde ise Meriç çeşidinde olduğu gibi en yüksek oranda bitkiye dönüşüm aralık ayında gerçekleşmiştir. En düşük bitkiye dönüşüm bu çeşitte Eylül ayında oluşmuştur.

4.4.3. Donör bitki genotipinin hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi

2020 Güz sezonu denemelerinde tüm çeşitlerden toplamda 2.116 ovaryum kültüre alınmıştır. Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinden 686 adet, 703 adet ve 727 adet ovaryum kültüre alınmış olup, tüm çeşitlerden toplamda 1648 adet embriyo elde edilmiştir. Embriyo eldesi oranları çeşitlere göre ciddi farklılıklar göstermiştir. En yüksek embriyo eldesi Sedir çeşidinde gerçekleşmiş olup, bu çeşitte kültüre alınan ovaryum sayısına göre embriyo rejenerasyon oranı değerlendirildiğinde %206,60 oranı karşımıza çıkmaktadır. Toplam elde edilen embriyo sayısı bakımından bu çeşitte 1502 adet embriyo elde edilmiştir. Bu sezonda ikinci olan çeşit ise Ufuk olmuştur. Kültüre alınan ovaryum sayısına göre Ufuk çeşidindeki embriyo oluşumu oranı %20,26 olarak hesaplanmıştır. Denemeler boyunca toplamda 139 adet embriyo elde edilmiştir. En az orana ulaşan çeşit diye tabir edebileceğimiz çeşit ise Meriç olmuştur. Geçmiş sezonlara göre bu çeşitte embriyo oluşum ve bitki eldesi açısından en düşük oranda sonuç elde edilebilmiştir. Sezon boyunca elde edilen embriyo sayısı 7 adettir. Kültüre alınan 100 adet ovaryum sayısına göre embriyo oluşum frekansı ise 1,00 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Donör bitki çeşidine göre embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)

Çeşitler	Kültüre Alınan Ovaryum Sayısı (Adet)	Embriyo Sayısı (Adet)	Toplam Embriyo Oluşum Oranı (%)	Bitki Sayısı (Adet)	Toplam Bitki Oluşum Oranı (%)	Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Oranı (%)
<i>Ufuk</i>	686	139	20,26	52	7,58	37,41
<i>Meriç</i>	703	7	1,00	4	0,57	57,14
<i>Sedir</i>	727	1502	206,60	559	76,89	37,22
Toplam	2116	1648	77,88	615	29,06	37,32

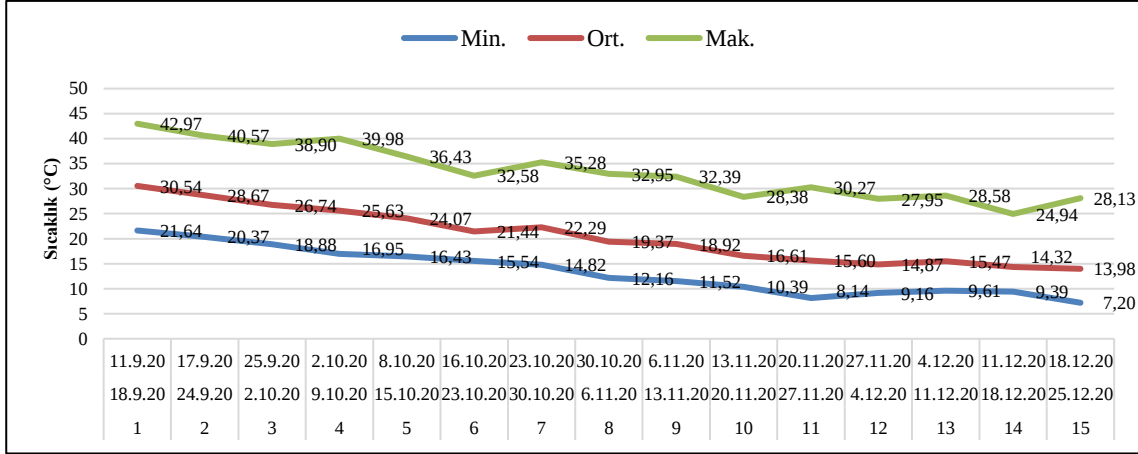
Bu sezonda toplamda tüm çeşitlerden 615 adet bitki elde edilmiştir. Tüm çeşitlerden toplamda elde edilen bitki oranı %29,06 olarak bulunmuştur. Kültüre alınan ovaryum sayısına göre en yüksek bitki oranı, embriyo oluşumunda olduğu gibi Sedir çeşidinde elde edilmiş olup, %76,89 oranında gerçekleşmiştir. Bu çeşitten 559 adet bitki elde edilmiştir. Ufuk çeşidi ise bitki eldesi bakımından ikinci en yüksek oranı veren çeşit olarak tespit edilmiş ve %7,58 oranında bitki oluşmuştur. Toplam bitki sayısı bu çeşitte 52 adettir. Meriç çeşidinden son denemede sadece 4 adet bitki gelişmiştir. Kültüre alınan ovaryum sayısına göre bu çeşitten elde edilen bitki oranı %0,57 dir.

Tüm çeşitlerden elde edilen 1648 adet embriyodan 615 tanesi bitkiye dönüşmüş olup, oransal açıdan değerlendirildiğinde %37,32 olarak bulunmuştur. Embriyo rejenerasyon oranı bakımından çeşitler ayrı ayrı değerlendirildiğinde Ufuk çeşidinde %37,41, Meriç çeşidinde %57,14 ve %37,22 oranında bitki dönüşümü gerçekleşmiştir. En yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm oranı en az embriyo ve bitki sayısına sahip Meriç çeşidinde saptanmıştır. Embriyo oluşum ve bitki oluşum oranları bakımından birinci olan Sedir çeşidi ise, elde edilen embriyo sayısına göre bitki oluşum oranları bakımından en az yanıt alınan çeşit olarak belirlenmiştir. Ufuk (%37,41) ve Sedir çeşitlerinin embriyo rejenerasyon oranları yakın seviyelerde bulunmuştur.

Bundan önceki üç sezonda embriyo oluşumu ve bitki eldesi bakımından en iyi yanıt alınan çeşit olan Sedir, bu sezonda da en yüksek oranda embriyo ve bitki oluşturmıştır. Geçmiş sezonlar ile Ufuk ve Meriç çeşitleri kıyaslanırsa, Ufuk embriyo oluşumu en yüksek ikinci çeşit olurken, Meriç sonuncu olmuştur. Bu sezonda da sonuç değişmemiş olup, çeşidin gynogenesis için en önemli faktörlerin başında geldiği ispatlanmıştır. Embriyo rejenerasyon başarısı açısından değerlendirildiğinde ise her sezonda farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Burdan çıkarak embriyonun bitkiye dönüşümü çeşide bağlı bir faktör olmadığı sonucuna varılmaktadır.

4.4.4. Donör bitki üzerinde gelişen ovaryumların sera içi sıcaklığının hıyarda gynogenesis üzerine etkisi

Ağustos ayının 31'inde sera koşullarına aktarılan bitkilerden yaklaşık olarak 3 hafta sonra ilk dişi çiçekler toplanmaya başlamış ve kültüre alınmıştır. Bir haftalık ovaryumun *in vivo* koşullarda sera içi sıcaklığının takip edildiği araştırmanın bu alanında ilk baz alınan sıcaklık tarihi ilk deneme tarihinden bir hafta öncesi olan 11.09.2020 olarak belirlenmiştir. Günlük 1 saatlik ortalama ölçüm değerlerinin haftalık ortalamaları alınarak 15 haftalık deneme boyunca aşağıdaki gibi bir sıcaklık seyri oluşturulmuştur (Şekil 4.28). Oluşturulan bu çizelgeye göre haftalık embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları belirlenmiş ve aşağıdaki başlıklarda değerlendirilmiştir.



Şekil 4.28. 2020 Güz sezonu kültüre alınan ovaryumların bir haftalık sera içi sıcaklığı grafiği (°C)

4.4.4.1. Sera içi sıcaklığın embriyo oluşum oranı üzerine etkisi

Embriyo açısından bitki yaşında olduğu gibi haftalık değişimler burada değerlendirilmiş olup, ilk hafta sıcaklık verilerine bakıldığında ortalama maksimum hissedilen sıcaklık 42,97 °C olarak belirlenmiş ve tüm denemeler boyunca en yüksek kayıt altına alınan değer olarak saptanmıştır (Şekil 4.28). Bu haftada ortalama sıcaklık 30,54 °C olarak bulunurken, minimum sıcaklık ise 21,64 °C olarak kaydedilmiştir. Kültüre alınan 100 adet ovaryuma göre tüm çeşitlerden 21,11 adet frekansında embriyo gelişirken, en yüksek embriyo eldesi Sedir çeşidinde tespit edilmiştir (%33,33) (Şekil 4.22). Ufuk çeşidinde ise elde edilen embriyo frekansı 30,00 adet olarak belirlenmiş, ancak Meriç çeşidinde bu haftada hiç embriyo elde edilmemiştir.

İkinci hafta denemelerinde ise kültüre alınan ovaryumların sera koşullarındaki bir haftalık sera içi sıcaklığı maksimum, ortalama ve minimum olarak sırasıyla 40,57 °C, 28,67 °C ve 20,37 °C olarak belirlenmiştir. Bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak tüm değerlerden 2 °C'lık bir düşüş saptanmıştır. Sedir çeşidi %78,33 embriyo oluşum oranı ile bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 2 kat artış göstermiştir. Ufuk çeşidinde %3,70 oranında embriyo elde edilirken, Meriç çeşidinde embriyo oluşumu saptanmamıştır.

25.09.2020-2.10.2020 tarihleri arasında ortalama maksimum kayıt altına alınan sıcaklık değeri bir önceki haftaya göre yaklaşık 2 °C düşüş göstermiştir. Ortalama ve minimum değerlerde de aynı paralelde bir düşüş tespit edilmiş olup, bu değerler sırasıyla 26,74 °C ve 18,88 °C olarak kayıt altına alınmıştır. Bu haftada tüm çeşitlerden 473 adet embriyo elde edilmiş ve Sedir çeşidinde oldukça yüksek bir seviyede (%788,33) embriyo oluşmuştur. Sedir çeşidinde saptanan en yüksek ikinci embriyo eldesi oranı olarak kaydedilmiştir. Meriç ve Ufuk çeşitlerinde embriyo elde edilememiştir. Dördüncü haftada ise maksimum, ortalama ve minimum sıcaklıklar ortalama olarak 39,98 °C, 25,63 °C ve 16,95 °C ölçülmüştür. Maksimum sıcaklık derecesi bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 1 °C artış gösterirken, ortalama sıcaklık değeri 1 °C, minimum sıcaklık değeri yaklaşık olarak 2 °C düşüş göstermiştir. Bu haftada Meriç çeşidinde embriyo elde edilmezken, Sedir çeşidinde ise bir önceki haftaya göre embriyo oluşumunda ani bir

düşüş görülmüş ve oransal olarak bu çeşit %328,33 seviyelerine inmiştir. Ufuk çeşidinde %19,61 oranında embriyo elde edilmiştir.

15.10.2020 tarihli denemede eksplant olarak değerlendirilen ovaryumların sera içi sıcaklığı ortalama olarak 24,07 °C'dir. Maksimum sıcaklık değeri bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 3,5 °C düşüş göstermiştir. Minimum sıcaklık değeri ise yaklaşık aynı değerlerde kalmış ve 16,43 °C olarak ölçülmüştür. Toplamda 48 adet ovaryumu kültüre alınan Sedir çeşidinde %385,42 oranında embriyo oluşumu belirlenmiştir. Meriç ve Ufuk çeşitlerinde embriyo oluşmamıştır. Tüm çeşitlerden toplamda 143 adet ovaryum kültüre alınmış %129,37 oranında embriyo oluşmuştur. Altıncı haftada ölçülen sıcaklık değerleri bir önceki 15 Ekim tarihli haftaya göre maksimum değerde 4 °C birden düşüş göstermiştir. Ortalama değerin 21,44 °C ve minimum değerin 15,54 °C ölçüldüğü haftada Sedir çeşidinde en yüksek oranda embriyo oluşumu (%1128,89, 45 adet ovaryum, 508 adet embriyo) gerçekleşmiştir. Meriç ve Ufuk çeşitlerinde yine hiçbir embriyo oluşumu gözlenmemiştir.

23.10.2020 ve 30.10.2020 tarihleri arasında donör bitkilerin yetiştiği sera koşullarında hava sıcaklıkları maksimum değerde 35,28 °C'ye ulaşırken, ortalama sıcaklık seviyesi 22,29 °C olarak ölçülmüştür. Minimum sıcaklık değerlerinde bir önceki haftaya göre diğer ölçüm değerlerinin tersine yaklaşık 1 °C azalma tespit edilmiştir. Bu dönemde Sedir çeşidinde çok şiddetli bir düşüş yaşanmış olup, embriyo oluşum oranı %1,61 olarak belirlenmiştir. Ufuk çeşidinde son iki haftanın ardından %6,78 oranında embriyo elde edilmiştir. Meriç çeşidinden embriyo elde edilmemiştir.

Kasım ayının ilk haftasında sera içi haftalık sıcaklık değerleri maksimum 32,95 °C, ortalama 19,37 °C ve minimum 12,16 °C olarak ölçülmüştür. Tüm çeşitlerden sınırlı da olsa bu hafta embriyo elde edilmiştir. Sedir çeşidinden %14,81, Meriç %5,88 ve Ufuk çeşidinden %2,22 oranında embriyo oluşmuştur. Denemelerin dokuzuncu haftasında kültüre alınan ovaryumların sera içi sıcaklığı ortalama olarak 18,92 °C olarak belirlenmiştir. Maksimum sıcaklık 32,39 °C seviyelerinde saptanırken, bir önceki hafta ile yakın derecelerde sıcaklık seviyesi seyretmiştir. Bu haftada sadece %4,00 oranında Ufuk çeşidinde embriyo oluşumu gerçekleşmiştir.

13.11.2020-20.11.2020 tarihleri arasında sera içinde ortalama olarak ölçülen sıcaklık değerleri maksimum, ortalama ve minimum değerlerinde 28,38 °C, 16,61 °C ve 10,39 °C olarak belirlenmiştir. Bu haftada kurulan denemeye göre sadece Sedir çeşidinde embriyo eldesi gerçekleşmiş olup, kültüre alınan 45 adet ovaryumdan %73,33 oranında embriyo gelişmiştir. 27.11.2020 tarihinde denemede kullanılan ovaryumların maksimum sera içi sıcaklığı yaklaşık olarak 2 °C artış göstermiş ve 30,27 °C olarak belirlenmiştir. Bu artışın aksine minimum sıcaklık derecesinde de yaklaşık 2 °C düşme tespit edilmiştir. Bu haftada Ufuk çeşidinde %202,22 oranında embriyo saptanmış olup, bu çeşitte elde edilen en yüksek seviyeye ulaşılmıştır. Sedir'de ise %6,67 oranında embriyo oluşumu saptanmıştır. Bir önceki haftaya göre bu çeşidin oranı düşmüştür. Meriç çeşidinde ise embriyo oluşmamıştır.

Aralık ayının ilk haftasında kültüre alınan ovaryumların sera içi sıcaklıkları maksimum, ortalama ve minimum değerlerde sırasıyla 27,95 °C, 14,87 °C ve 9,16 °C olarak ölçülmüştür. Maksimum sıcaklık değeri bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 3 °C düşmüştür. Minimum sıcaklık değeri ise yaklaşık olarak 1 °C artmıştır. On ikinci

haftaya tekabül eden bu hafta en yüksek embriyo oluşum oranı Sedir çeşidinde gerçekleşirken (%28,89), Ufuk çeşidinde de %21,43 oranında embriyo bulgusuna rastlanmıştır. Meriç çeşidinde yine bu hafta da embriyo oluşmamıştır.

4.12.2020 ve 11.12.2020 tarihleri arasında ortalama sıcaklık 15,47 °C olarak belirlenmiş olup, maksimum sıcaklık 28,58 °C olarak ölçülmüştür. Minimum sıcaklık değeri ise 9,61 °C'dir. Bu haftada sadece Sedir çeşidinde embriyo oluşumu gerçekleşmiş ve bu çeşidin embriyo oluşumu oransal olarak değerlendirildiğinde %23,33 oranına ulaşılmıştır. Bu hafta da tüm çeşitlerin kültüre alınan ovaryumlarından %7,61 oranında embriyo elde edilmiştir.

On dördüncü haftada kültüre alınan ovaryumların sera içi sıcaklığı maksimum, ortalama ve minimum değerlerde sırasıyla 24,94 °C, 14,32 °C ve 9,39 °C olarak kaydedilmiştir. Maksimum değerde yaklaşık olarak 4 °C düşüş gözlenmiştir. Bu haftada bir önceki haftada olduğu gibi sadece Sedir çeşidinden embriyo elde edilmiş ve oransal olarak değerlendirildiğinde embriyo oluşum değeri %23,33 olarak belirlenmiştir. Son hafta kültüre alınan ovaryumların sera içi maksimum sıcaklığı 28,13 °C olarak ölçülmüştür. Minimum sera içi sıcaklığı ise bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 2 °C düşmüştür. Bu hafta da en yüksek embriyo oluşum oranı Meriç çeşidinde tespit edilmiş olup, Ufuk çeşidinde %6,06 oranında embriyo eldesi gerçekleşmiştir. Sedir çeşidinde ise hiç embriyo oluşmamıştır.

Denemeler boyunca en yüksek sıcaklık değerleri ilk haftada ölçülmüş olup, embriyo oluşum oranları çeşitler bazında değerlendirildiğinde oldukça sınırlı seviyede gerçekleşmiştir. İlk haftadan sonra ikinci ve üçüncü haftalarda sıcaklık dereceleri düşüş göstermiştir. Bu haftalarda Sedir çeşidinde embriyo oluşum oranında artış tespit edilmiştir. İlk haftaya göre üçüncü haftada gözlemlenen sıcaklığın düşüşü Sedir çeşidinde embriyo oluşumunu teşvik etmiştir. Ancak aynı şey Meriç çeşidi için geçerli olmamıştır. Üçüncü haftadan sonra sıcaklığın artması ile Sedir çeşidinin embriyo oluşum oranında yaklaşık olarak yarı yarıya bir düşüş görülmüştür. Bunun yanı sıra Sedir çeşidinde altıncı haftada yaşanan ani sıcaklık düşüşünün üçüncü haftada olduğu gibi olumlu bir etki yarattığı görülmüştür. Bu tarihte kurulan denemede embriyo oluşumu bakımından Sedir çeşidinde en yüksek embriyo oranına ulaşılmıştır. Ancak, altıncı haftadan sonra maksimum sıcaklığın tekrar yükselmesi Sedir çeşidini ciddi oranda etkilemiştir. Bu haftadan sonra bu çeşitte yüksek oranlarda embriyo elde edilememiştir.

Ufuk çeşidinde ise altıncı haftada az da olsa bir embriyo oranına ulaşılmıştır. Onuncu haftada maksimum ve ortalama değerlerde sıcaklık düşüşü Sedir çeşidinin embriyo oluşum oranını bir miktar da olsa artırmıştır. Burada dikkat edilmesi gereken bu çeşidin ani sıcaklık değişimlerinden etkileniyor olmasıdır. Ancak gözlemlenen bu durum sadece sıcaklığa bağlanmamalıdır. Sıcaklığın yanı sıra donör bitki yaşının da etkili olabileceği düşünülmektedir. Meriç çeşidinin embriyo oluşum oranı ise bu sezonda sıcaklık değişimlerinden etkilenmemiştir. Bu çeşitte az sayıda embriyo elde edilmesinin farklı etmenlerden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Ufuk çeşidinde ise en yüksek embriyo oluşumu on birinci haftada tespit edilmiştir. Bu haftada kaydedilen minimum sıcaklık değeri, tüm haftalar boyunca gözlemlenen en düşük ikinci sıcaklık değeri olarak saptanmıştır. Bu çeşidin dönemsel olarak embriyo oluşum oranları sürekli değişkenlik göstermiştir. Bu sezonda sıcaklık değişimlerinden en çok etkilenenin Sedir çeşidi olduğu sonucuna varılmıştır.

4.4.4.2. Sera içi sıcaklığın bitki oluşum oranı üzerine etkisi

Kültüre alınan ovaryumların bir haftalık sera içi sıcaklığının bitki oluşum frekanslarına olan etkisi bu başlık altında değerlendirilmiştir. 17.09.2020 tarihli denemede kullanılan ovaryumların ortalama olarak maksimum sera içi sıcaklığı 42,97 °C olarak belirlenmiş ve bu sıcaklık bu sezon boyunca saptanan en yüksek değer olarak belirlenmiştir. Bu haftada minimum sıcaklık değeri 21,64 °C ve ortalama sıcaklık değeri 30,54 °C olarak ölçülmüştür (Şekil 4.28). Bu haftada en yüksek bitki eldesi %13,33 ile Sedir çeşidinde elde edilirken, Ufuk çeşidinde bu oran %1,67 olarak belirlenmiştir. Meriç çeşidinde ise ilk on dört haftada hiç bitki oluşmamıştır. Tüm çeşitlerden elde edilen bitki oluşum oranı ise %5,00 olarak hesaplanmıştır (Şekil 2.23).

24 Eylül 2020 tarihli denemede kültüre alınan ovaryumların *in vivo* koşullardaki bir haftalık sera içi sıcaklığı maksimum 40,57 °C, ortalama 28,67 °C ve minimum 20,37 °C olarak kaydedilmiştir. Tüm değerlerde geçen haftaya göre yaklaşık olarak 2 °C'lik bir azalma görülmüştür. Bu haftada sadece Sedir çeşidinden bitki elde edilmiş olup, oransal açıdan değerlendirildiğinde %20,00 oranında bitki oluşumu gerçekleşmiştir.

2.10.2020 tarihli denemede kullanılan ovaryumların ortalama maksimum sıcaklık değeri 38,90 °C olarak ölçülmüş ve geçen haftaya göre yaklaşık 2 °C'lik düşüş tespit edilmiştir. Ortalama ve minimum değerleri de düşme eğilimli olarak sırasıyla, 26,74 °C ve 18,88 °C olarak kaydedilmiştir. Üçüncü hafta denemesinde bir önceki haftada olduğu gibi sadece Sedir çeşidinden bitki elde edilmiş, kültüre alınan ovaryumlara göre değerlendirildiğinde %368,33 oranında bitki rejenere olmuştur. Bu oran bu çeşitte tespit edilen en yüksek bitki oluşum oranıdır.

02.10.2020 – 09.10.2020 tarihli sera sıcaklık ölçümlerinde maksimum sıcaklık derecesi 39,98 °C olarak belirlenmiştir. Bu değer bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 1 °C artışı belirlenmiştir. Ancak ortalama ve minimum sıcaklık değerleri ise düşme eğilimli olarak hareket etmişlerdir. Ortalama sıcaklık 25,63 °C ve minimum sıcaklık değeri 16,95 °C ölçülmüştür. Bitki eldesi açısından değerlendirildiğinde bu haftada Sedir ve Ufuk çeşitlerinden bitki elde edilmiştir. Tüm çeşitlerden kültüre alınan ovaryum sayısına göre ortalama bitki oluşum oranı %37,65'tir. Ufuk çeşidinden %15,69 oranında bitki elde edilirken, Sedir çeşidinden %93,33 oranında bitki oluşumu gerçekleşmiştir. Maksimum sıcaklığın yaklaşık olarak 3,5 °C düştüğü 5. haftada sadece Sedir çeşidinden bitki elde edilmiştir. Oransal açıdan değerlendirildiğinde bu çeşitte %139,58 oranında bitki oluşmuştur.

Maksimum sıcaklık değerinde 4 °C birden düşüş tespit edilen altıncı hafta denemesinde ortalama sıcaklık değeri 21,44 °C ve minimum sıcaklık değeri 15,54 °C olarak ölçülmüştür. Bu hafta kültüre alınan ovaryumlardan ortalama %129,84 oranında bitki elde edilmiş olup, %357,78 oranında sadece Sedir çeşidinde bitki rejenere olmuştur. Bu oran Sedir çeşidinde elde edilen en yüksek ikinci bitki eldesi oranıdır.

30.10.2020 tarihli denemede kullanılan ovaryumların geliştiği sera koşullarında maksimum sıcaklık değeri 35,28 °C'ye ulaşırken, ortalama sıcaklık değeri 22,29 °C olarak kaydedilmiştir. Bu haftada Ufuk çeşidinden %6,78 oranında bitki elde edildiği, Meriç ve Sedir çeşitlerinden bitki oluşmadığı saptanmıştır.

Kasım ayının ilk haftasında (06.11.2020) ovaryum sera içi sıcaklıkları maksimum, ortalama ve minimum sırasıyla, 32,95 °C, 19,37 °C, 12,16 °C olarak tespit edilmiştir. Sekizinci hafta denemelerinde Sedir çeşidinde oldukça sınırlı bir oranda bitki elde edilmiştir. Ufuk ve Meriç çeşitlerinde bitkiye rastlanmamıştır. Dokuzuncu hafta kültüre alınan ovaryumların *in vivo* ortamda sera içi sıcaklıkları ortalama olarak maksimum, ortalama ve minimum değerlerde 28,38 °C, 16,61 °C ve 10,39 °C olarak kayıt altına alınmıştır. 13 Kasım tarihli kurulan bu denemede kullanılan ovaryumlardan sadece %2,00 oranında Ufuk çeşidinde bitki elde edilebilmiştir.

Onuncu hafta kurulan denemelerde kullanılan ovaryumların maksimum sera içi sıcaklığı maksimum bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 3 °C düşmüştür. Ortalama ve minimum değerler ise 16,61 °C ve 10,39 °C olarak ölçülmüştür. Bu haftada %35,56 oranında bitki sadece Sedir çeşidinde oluşmuş olup, tüm çeşitlerden alınan ovaryum sayısına göre bitki eldesi oranı %11,85 olarak hesaplanmıştır.

Onuncu haftaya göre maksimum sera içi sıcaklığının yaklaşık olarak 2 °C artış gösterdiği on birinci hafta denemesinde sıcaklık değeri 30,27 °C olarak kaydedilmiştir. Bu haftada minimum sıcaklık derecesinde ise yaklaşık olarak 2 °C azalma görülmüştür. Bitki eldesi oranı açısından değerlendirildiğinde bu haftada Ufuk çeşidinde en yüksek oranda bitki gelişimi gözlenmiş olup, bu çeşit %77,78 oranında bitki oluşturmuştur. Diğer iki çeşitte bitki oluşmamıştır.

27.11.2020 tarihleri ile 04.12.2020 tarihleri arasında ölçülen sera içi sıcaklık değerleri maksimum 27,95 °C, ortalama 14,87 °C ve minimum 9,16 °C olarak ölçülmüştür. Bu hafta da %22,22 oranında Sedir çeşidinde bitki rejenere olurken, Ufuk çeşidinde %4,76 oranında bitki gözlenmiştir. Kültüre alınan toplam ovaryum sayısına göre elde edilen bitki oranı %9,09 olarak hesaplanmıştır.

11.12.2020 tarihli denemede kültüre alınan ovaryumların sera içi sıcaklığı maksimum 28,58 °C diye belirlenirken, ortalama olarak 14,87 °C diye kaydedilmiştir. Minimum sıcaklık değeri yaklaşık olarak 1 °C artış göstererek 9,16 °C'ye ulaşmıştır. Bu denemede sadece Sedir çeşidinden %13,33 oranında bitki oluşmuştur.

18.12.2020 tarihinde kültüre alınan ovaryumların *in vivo* sera içi sıcaklığı maksimum 24,94 °C, ortalama 14,32 °C ve minimum 9,39 °C olarak belirlenmiştir. Maksimum sıcaklık değerinde yaklaşık olarak 4 °C düşüş tespit edilmiştir. On dördüncü haftada elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, bir önceki haftada olduğu gibi sadece Sedir çeşidinden bitki elde edilmiş olup, bu çeşit oransal açıdan değerlendirildiğinde %3,33 oranına ulaşılmıştır.

Aralığın son haftasında kurulan denemede ovaryumların sera içi sıcaklığı ortalama olarak 13,98 °C olarak belirlenmiştir. Maksimum sera içi sıcaklığı bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 3 °C artmıştır ve 28,13 °C olarak ölçülmüştür. Minimum sıcaklık değeri ise yaklaşık olarak 2 °C düşüş göstermiştir. 25 Aralık tarihli bu denemede Meriç çeşidinden ilk defa %11,11 oranında bitki elde edilmiştir. Ufuk çeşidinde ise %3,03 bitki oluşumu gerçekleşmiştir. Ancak Sedir çeşidinden bitki elde edilememiştir.

Bitki oluşumu açısından 2020 Güz sezonu ovaryumun sera içi sıcaklığı ile ilişkilendirildiğinde Sedir çeşidinde net bir sonuç görülebilmıştır. Bu çeşit 40 °C'nin

üstündeki sıcaklıklarda düşük bitki oluşumu göstermiştir. Üçüncü ve dördüncü hafta arasında görülen maksimum sıcaklıktaki 1 °C artış bitki oluşum oranının %368,33'ten %93,33'e düşürmüştür. Ancak dördüncü haftada maksimum sıcaklık artarken, minimumu sıcaklık düşüş yaşamıştır. Burada bitki oluşumunu daha çok belirleyici faktör maksimum sıcaklık olarak görülmektedir. Bu çeşit en yüksek embriyo eldesine ulaştığı hafta olan altıncı haftada en yüksek ikinci bitki eldesine ulaşmıştır. Bu haftada ortalama sıcaklık bir önceki haftaya göre yaklaşık 3 °C düşüş gösterirken, maksimum sıcaklık yaklaşık 4 °C düşüş yaşamıştır. Sıcaklığın düşüşü 6 hafta içerisinde olumlu etkiler yaratmıştır. Ancak bitki elde oranlarında 7. haftadan itibaren düşüşler saptanmıştır. Bu da bitki yaşına bağlı bir faktör olarak düşünülmektedir. Bunun yanı sıra 2019 Bahar sezonunda bu çeşitte embriyo gelişimi için tespit edilen ortalama sıcaklık dereceleri min. 10 °C, ort. 18 °C ve mak. 29 °C olarak görülmüştür. Bu sezonda yaklaşık olarak 10. hafta yaşanan sıcaklık derecelerini bu dereceler ile kıyaslama yapacak olursak, 7., 8., ve 9. haftada görülen düşük bitki oluşum oranının 10. haftada artışa geçtiğini görebiliriz.

Ufuk çeşidinde ise sıcaklık 12. haftada yaşanan maksimum ve minimum sıcaklık farkının artmış olması bitki eldesini olumlu etkilemiş olabilir. Ancak geçen sezonlarda yüksek sıcaklığa olumlu tepki veren bu çeşitte bu haftada özellikle dikkat çeken sonuç sıcaklık minimum ve maksimum sıcaklık farklarının bir önceki haftaya göre arttığı haftalarda genel olarak bitki elde edilmiş olmasıdır. (Bkz.4., 7., 9., 11., 15. hafta)

4.4.4.3. Sera içi sıcaklığın embriyodan bitkiye dönüşüm oranı üzerine etkisi

Bu sezonda elde edilen embriyolara göre oluşan bitki oranları bu başlık altında incelenmiştir. Tüm çeşitlerden 1648 adet embriyo elde edilmiş olup, bu embriyolardan 615 adet bitki gelişmiştir. Elde edilen embriyolara göre bitki oluşum yüzdeleri (Şekil 4.24) verilmiştir. Bitki ve rejenerasyon oranlarının, donör bitki üzerinde bulunan ovaryumun sera içi sıcaklığı ile ilişkisi olup olmadığı (Şekil 4.28) ile karşılaştırılarak yorumlanmıştır.

Eylül ayının ortasında başlanan bu sezonki denemelerde ovaryumların sera içi sıcaklığı verileri incelendiğinde bir haftalık ortalama maksimum sera içi sıcaklığı 42,97 °C olarak hesaplanmıştır. Denemeler boyunca hesaplanan tüm ölçümlerde en yüksek sıcaklık derecelerinin ölçüldüğü bu haftada minimum sıcaklık değeri 21,64 °C ve ortalama sıcaklık değeri 30,54 °C'dir. İlk hafta kurulan denemeye göre tüm çeşitlerden elde edilen 38 adet embriyodan 9 adet bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir. Bu hafta oransal açıdan değerlendirildiğinde Sedir çeşidinden elde edilen embriyolardan %40,00 oranında bitki oluşumu gerçekleşmiştir. Ufuk çeşidinden ise %5,56 oranında bitkiye dönüşüm görülmüştür. Bu çeşitlerin aksine Meriç çeşidinden hiç embriyo elde edilemediği için bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir.

Eylülün son haftasına denk gelen denemede eksplant olarak kullanılan ovaryumların *in vivo* sera içi sıcaklığı maksimum 40,57 °C, minimum 20,37 °C'dir. Maksimum, ortalama ve minimum değerlerde bir önceki haftaya göre yaklaşık 2 °C'lik bir düşüş saptanmıştır. Elde edilen embriyo sayılarına göre bitkiye dönüşüm oranları değerlendirildiğinde Sedir çeşidinden %25,53 oranında bitkiye dönüşüm tespit edilmiştir. Diğer çeşitlerde bitki bulgusuna rastlanmamıştır.

Üçüncü haftada kullanılan ovaryumların donör bitki üzerindeki sera içi sıcaklıkları maksimum 38,90 °C, ortalama 26,74 °C ve minimum 18,88 °C olarak ölçülmüştür. Bir önceki haftaya göre maksimum değerde yaklaşık 2 °C'lik azalma kaydedilmiştir. Bu hafta kurulan denemenin embriyodan bitkiye dönüşüm oranları incelendiğinde, bir önceki hafta da olduğu gibi sadece Sedir çeşidinde bitki oluşumu görülmüş olup, elde edilen embriyolara göre bitkiye dönüşüm oranı bu çeşitte %46,72 olarak görülmüştür. Sedir çeşidinden 473 adet embriyo elde edilirken, bitki eldesi 221 adet olmuştur. Bu çeşitte bu sezonda görülmüş en yüksek sayıdaki bitki bu haftada elde edilmiştir.

Ekim ayının ilk haftasında donör bitkilerin yetiştirildiği sera sıcaklık ölçümlerinde maksimum 39,98 °C, ortalama 25,63 °C ve minimum sıcaklık değeri ise 16,95 °C olarak belirlenmiştir. Maksimum sıcaklık değerinin Eylül ayının son haftasındaki sıcaklık değerlerine göre yaklaşık olarak 1 °C arttığı gözlenmiştir. Bunun aksine ortalama ve minimum sıcaklık değerleri ise azalma göstermiştir. Deneme kurulma tarihi ekim ayının ikinci haftasına denk gelen bu denemede Ufuk çeşidinden 10 adet, Sedir çeşidinden 197 adet embriyo oluşmuştur. Oluşan embriyoların Ufuk çeşidinde %80,00'ı, Sedir çeşidinde %28,43'ü bitkiye dönüşmüştür. Beşinci hafta denemesinde maksimum sıcaklık dördüncü haftaya göre yaklaşık olarak 3,5 °C (36,43 °C) düşmüştür. Minimum sıcaklık çok değişme göstermezken, ortalama sıcaklık ise 24,07 °C ölçülmüştür. Bu haftada elde edilen embriyoların %36,22'si Sedir çeşidinde bitti dönüşürken, Ufuk ve Meriç çeşitlerinde bitki elde edilememiştir.

23 Ekim tarihli altıncı hafta denemesinde ovaryum sera içi sıcaklıkları maksimum sıcaklık değerinde 4 °C düşüş yaşamıştır. Ortalama sıcaklık değeri 21,44 °C ve minimum sıcaklık değeri 15,54 °C olarak kaydedilmiştir. Elde edilen embriyolara göre değerlendirilme yapıldığında sadece Sedir çeşidinden bitki oluştuğu görülmüştür. Elde edilen en yüksek embriyo sayısına bu hafta da ulaşan Sedir çeşidinde, elde edilen ikinci en yüksek bitki sayısına ulaşılmıştır. Oransal açıdan değerlendirildiğinde oluşan embriyoların %31,69'u bitkiye dönüşmüştür.

23.10.2020 ve 30.10.2020 tarihleri arasında denemede kullanılan ovaryumların sera içi maksimum sıcaklık değeri 35,28 °C'ye yükselmiş olup, ortalama sıcaklık değeri 22,29 °C ve minimum sıcaklık değeri ise 14,82 °C olarak belirlenmiştir. Bu hafta sadece Ufuk çeşidinde %100,00 oranında bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir. Bir önceki hafta Sedir çeşidinde en yüksek embriyo sayısına ulaşılmasının aksine embriyo sayısı bu hafta ciddi bir düşüş yaşamış ve 1 adet embriyo elde edilmiştir. Elde edilen bu embriyoda bitkiye dönüşmemiştir. Meriç çeşidinde bu haftada da embriyo bulgusuna rastlanmamıştır.

06.11.2020 tarihli denemede eksplant olarak kullanılan ovaryumların sera içi sıcaklıkları maksimum değerinde 32,95 °C olarak ölçülmüştür. Bu haftada tüm değerlerde bir önceki haftaya göre düşüşler yaşanmış olup, ortalama ve minimum değerlerde sırasıyla, 19,37 °C, 12,16 °C olarak belirlenmiştir. Bu hafta tüm çeşitlerden kültüre alınan ovaryumlardan toplamda 12 embriyo elde edilmiş bu embriyoların sadece 3 adedi (Sedir çeşidinde (%37,50)) bitkiye dönüşmüştür. Bu sezonda ilk defa bu haftada embriyo elde edilen Meriç çeşidinde ise bitki oluşumu gerçekleşmemiştir.

Kasımın ikinci haftasında donör bitkinin gelişim gösterdiği sera içi sıcaklıklar minimum 10,39 °C, ortalama 16,61 °C, maksimum 28,38 °C'dir. 13 Kasım tarihli bu denemede Ufuk çeşidinden 2 adet embriyo elde edilmiş olup, embriyolardan bir tanesi bitkiye dönüşmüştür. Diğer çeşitlerde bitki görülmemiştir. 20.11.2020 tarihli denemede ise kültüre alınan eksplantlar maksimum, ortalama ve minimum olarak sırasıyla 28,38 °C, 16,61 °C ve 10,39 °C'de *in vivo* koşullarda gelişim göstermiştir. Bu hafta kurulan denemede sadece Sedir çeşidinde 33 adet embriyo elde edilmiştir, bunlarında %48,48'i bitkiye dönüşmüştür.

On birinci hafta denemesinde maksimum sera içi sıcaklığı bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak 2 °C artış göstermiş olup, ölçülen sıcaklık değeri 30,27 °C olarak belirlenmiştir. Bunun aksine minimum sıcaklık değerinde ise yaklaşık 2 °C azalma tespit edilmiş ve minimum ve maksimum sıcaklık derecesi arasındaki fark artmıştır. Embriyodan bitkiye dönüşüm bulguları açısından değerlendirildiğinde ise embriyo sayısı bakımından Ufuk çeşidinde elde edilen en yüksek sayıda embriyo oluşmuş olup, bu embriyoların %38,46'sı bitkiye dönüşmüştür. Sedir çeşidinde 3 adet embriyo elde edilmesine rağmen bitki bulgusuna rastlanmamıştır. Tüm çeşitlerden elde edilen toplam embriyoya göre bitki oluşum yüzdesi %37,23 olarak hesaplanmıştır.

04.12.2020 tarihinde kültüre alınan ovaryumların sera içi sıcaklıkları 27,95 °C (mak.), 14,87 °C (ort.) ve 9,16 °C (min.) olarak ölçülmüştür. Bu haftada elde edilen 100 adet embriyoya göre bitki oluşum frekansları Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinde sırasıyla 22,22 adet, 0,00 adet, 76,92 adet olarak hesaplanmıştır. Tüm çeşitlere göre elde edilen oran ise %54,55'tir.

Aralık ayının ikinci haftasında donör bitkilerin sera içi sıcaklıkları maksimum 28,58 °C, ortalama 14,87 °C'dir. 9,16 °C olarak ölçülen minimum sıcaklık değerinin bir önceki haftaya göre yaklaşık 1 °C arttığı belirlenmiştir. On üçüncü haftaya tekabül eden bu deneme verilerine göre sadece Sedir çeşidinde 7 adet embriyo elde edilmiş ve bunlardan 4 tanesi bitkiye dönüşmüştür (%57,14). On dördüncü haftaya denk gelen 18.12.2020 tarihli denemde kültüre alınan ovaryumların sera içi sıcaklığı 24,94 °C (mak.), 14,32 °C (ort.) ve 9,39 °C (min.) olarak ölçülmüştür. Bir önceki haftaya kıyasla maksimum sıcaklık değeri yaklaşık olarak 4 °C düşüş göstermiştir. Bu haftadaki denemde bir önceki hafta da olduğu gibi sadece Sedir çeşidinden embriyo elde edilmiş ve %14,29 oranında bitki dönüşümü gerçekleşmiştir.

On beşinci hafta denemesi 25.12.2020 tarihinde kurulmuş olup, ovaryumların sera içi maksimum sıcaklığı bir önceki haftaya göre yaklaşık 3 °C artmış ve 28,13 °C olarak belirlenmiştir. Ortalama sıcaklık değeri ise 13,98 °C olarak belirlenirken, minimum sıcaklık değerinin ise geçen haftaya kıyasla yaklaşık olarak 2 °C düştüğü (7,20 °C) görülmüştür. Bu denemeye göre tüm çeşitlerden toplamda 6 adet embriyo elde edilmiştir. Bunun yanı sıra bu hafta ilk defa Meriç çeşidinde %100,00 oranında bitki dönüşümü gerçekleşmiş olup, Ufuk çeşidinde ise bitkiye dönüşüm oranı %50,00 olarak hesaplanmıştır. Sedir çeşidinde ise bitki dönüşümü gerçekleşmemiştir. Tüm haftalara bakıldığında elde edilen embriyolara göre en yüksek bitki dönüşümü %83,33 oran ile bu haftada tespit edilmiştir.

En yüksek sıcaklık değerlerine ulaşılan birinci haftada en yüksek bitki dönüşümü Sedir çeşidinde %40,00 oranında belirlenmiştir. Bu çeşitte en yüksek embriyodan bitkiye

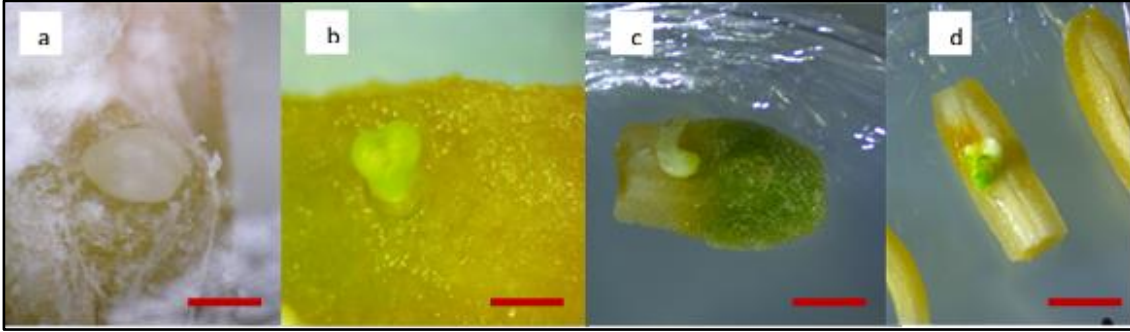
dönüşüm oranı 12. haftada %76,92 oranında gerçekleşirken, en yüksek ikinci rejenerasyon oranı 13. haftada gerçekleşmiştir. Sıcaklık açısından değerlendirildiğinde bu iki hafta yaklaşık değerlere sahip olarak görülmüştür. Üçüncü en iyi hafta ise 10. hafta olarak belirlenmiş ve 12. ve 13. hafta ile yaklaşık olarak aynı derecelere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çeşitte embriyoların bitkiye dönüşmesi için bu sezonda gerekli ortalama sıcaklığın yaklaşık 15 °C olduğu düşünülmektedir. Ancak embriyo dönüşümünü tüm sezonlara göre değerlendirirsek bu sıcaklık derecesini baz almak yanlış bir değerlendirme olmuş olur. Meriç çeşidinde 15. haftada sadece sınırlı oranda bitki oluşmuş ve %100,00 oranına ulaşılmıştır. En düşük minimum sıcaklığın yaşandığı bu haftada minimum sıcaklık derecesi embriyonun bitkiye dönüşümünü tetiklemiş olabilir.

Ufuk çeşidinde en yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm 7. haftada %100,00 oranında gerçekleşmiştir. Dokuzuncu ve 15. haftalarda elde edilen oranlarda bitki elde bulgusundaki gibi sıcaklık farkının artış sağlamış olabileceği düşünülmektedir.

4.5. Tüm Sezonlarda Elde Edilen Embriyo ve Bitki Yapıları

4.5.1. Embriyo yapıları

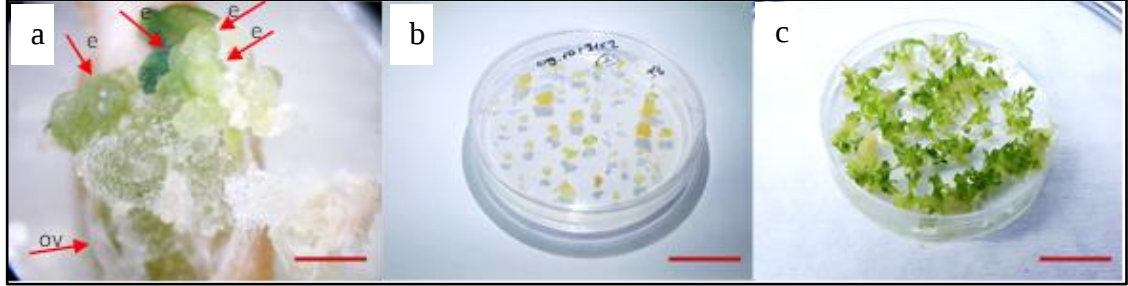
Tüm sezonlarda ortalama olarak embriyolar 4 haftadan sonra görülmeye başlamış ve deneme kurulum tarihinden itibaren 2 buçuk aylık süreç içerisinde embriyolar elde edilmiştir. Embriyoların gelişimi çoğunlukla ovaryum içerisine gömülü bir şekilde gerçekleşmiş ve bu embriyolar bitkicik formuna ulaştınca gözlemlenebilmiştir. Bunun da ovaryumun kesilmeyen kısımlarında bulunan ovüllerin embriyo dönüşme ihtimalinin daha fazla olmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Ancak kesim yerlerinde bulunan zarar görmeyen ovüllerde de embriyolar ve bunların bitkiye dönüşümleri gözlemlenebilmiştir.



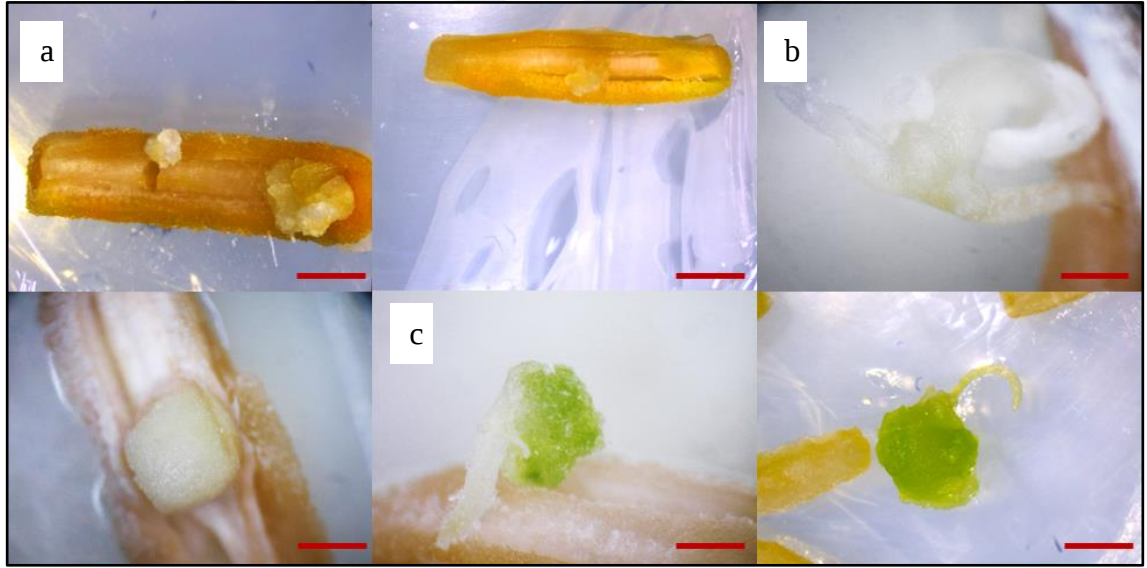
Şekil 4.29. Embriyo gelişim aşamaları; **a.** Globular aşamasında embriyo (1.00x), **b.** Kalp aşamasında embriyo (1.00x), **c.** Torpedo aşamasında embriyo (0.80x), **d.** Kotiledon aşamasında embriyo (0.63x) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)

Çalışma boyunca embriyo dönüşümleri orta eksenden (ovül düzlemi) gerçekleşmiş olup, endokarp ve mezokarp dokusundan gerçekleşmemiştir. Farklı şekil ve görünüşlerde embriyolara rastlanmış ve bu embriyolar Şekil 4.29'da gösterilmiştir. Ayrıca bazı embriyolar ilerleyen aşamada embriyojenik kallusa dönüşmüş olup, yeni gelişen embriyolar rejenerasyon ortamına ayrı ayrı ekilmiştir (Şekil 4.30). Ekilen embriyolarda da bitkiciklerin çoğunda bitkiye dönüşüm gerçekleşmiş ve bitkicik oluşum

frekansı olumlu olarak etkilenmiştir. Embriyojenik kallusa dönüşen embriyoların da ovül düzlemi üzerinde geliştiği görülmüştür. Bazı embriyolarda ise gelişim durmuş embriyo aşamasından sonra bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiş, bazılarında ise albino oluşumlara rastlanmıştır. Bunların yanı sıra globüler aşamada kök oluşturan ve aynı seviyede kalan anormal embriyolara da rastlanmıştır (Şekil 4.31).



Şekil 4.30. Embriyojenik kallustan gelişen embriyo ve bitkicikler; **a.** Embriyojenik kallus gelişimi ve embriyoların kallus üzerinde görüntüsü (kırmızı ok ile gösterilmiş ve “e” olarak belirtilmiş yapılar embriyoyu, “ov” olarak belirtilen yapı ise ovaryum duvarını göstermektedir.) (1.00x), **b.** Embriyojenik kallustan gelişmiş embriyoların rejenerasyon ortamına ekilmesi, **c.** Embriyojenik kallustan gelişmiş bitkicikler (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)



Şekil 4.31. Gelişim göstermeyen embriyolar; **a.** Belirli bir aşamada durmuş embriyolar (0.63x), **b.** Albino embriyo oluşumları (0.80x), **c.** Globüler aşamada sadece kök oluşturmuş anormal embriyolar (1.00x) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)

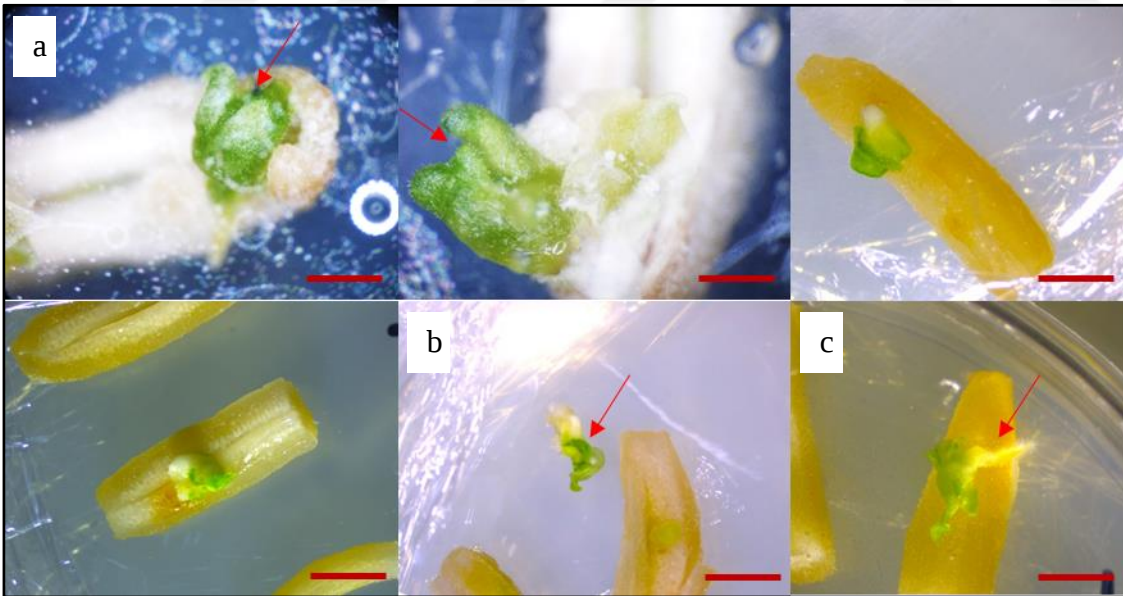
4.5.2. Bitki yapıları

Çalışmada tüm sezonlarda farklı bitki oluşumları tespit edilmiş ve Şekil 4.32, Şekil 4.33, Şekil 4.34 ve Şekil 4.35 ve Şekil 4.36’da verilmiştir. Embriyodan bitki gövde ve yapraklarını oluşturacak olan apikal meristem Şekil 4.32.a’da açıkça belirtilmiştir. İlerleyen aşamada yaprakçık ve kök oluşumlarına rastlanmıştır. Ancak bazı embriyo

dönüşümlerinde ilk olarak kök organı oluşmuş ve bu şekildeki oluşumlarda genel olarak anormal yapılar elde edilmiştir (Şekil 4.33 a., b.). Sağlıklı bitkicik oluşumlarında genel olarak kök ve yaprak yapısının eş zamanlı olarak geliştiği gözlenmiştir. Bitki oluşumları embriyo oluşumlarında da olduğu gibi kesim yerlerine yakın bölgelerde veya bitki içerisine gömülü şekilde gerçekleşmiştir.

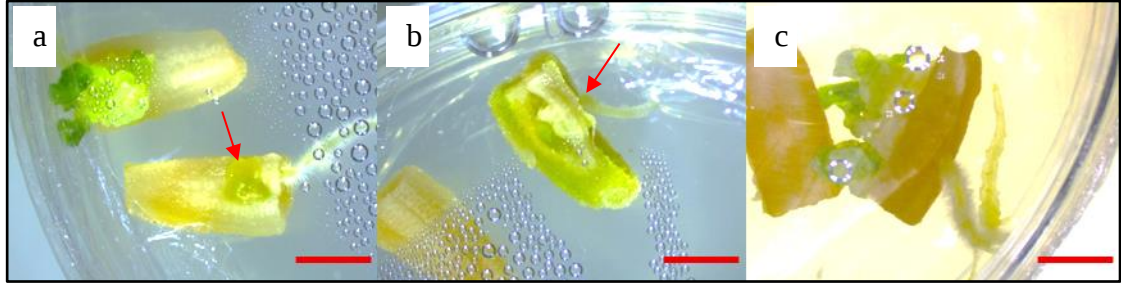
Bitkiciklerin bitki formuna dönüşmesi gövde uzaması ve buna bağlı olarak lateral meristemlerin oluşması şeklinde gözlemlenmiştir (Şekil 4.34 d, e). Normal yapılı bitki tespiti genel olarak büyüme ucu varlığına bakılarak yorumlanmıştır. Bazı durumlarda ilk başta yaprakların şekil ve yapısına bağlı olarak büyüme uçları görülmemiştir. Şüpheli yaklaşılan bitkiler alt kültüre alınarak büyümeye teşvik edilmiş ve gelişimi gözlenmiştir. Gelişim göstermeyen bitkicikler belirli bir seviyeden sonra sabit kalmış ve büyümemiştir (Şekil 4.36). Albino bitkiciklere sınırlı sayıda rastlanmış ve bu bitkiciklerde de belirli bir seviyeden sonra büyüme durmuştur. Kesilen her ovaryum parçasında bitkicik oluşumu gerçekleşmemiştir. Ancak genel olarak gözlemlenen birden fazla bitkicik oluşumunun aynı parçadan elde edildiği yönündedir.

Elde edilen bitkiler direkt embriyogenesis yolu ile oluşabildiği gibi, ovülden gelişen embriyonun embriyojenik kallusa dönüşmesi ve bu kallusun somatik bir çoğalmaya neden olması şeklinde de bir olayla da karşılaşmıştır. Embriyojenik kallustan elde edilen embriyolar bitki rejenerasyon ortamına ekilmiş ve sağlıklı bitki eldesi oranı artmıştır. Bu tarz oluşumlarda anormal yapıda bitkilerin oluşma oranının daha az olduğu, embriyonun erken aşamada tespit edilerek doğrudan rejenerasyon ortamına aktarılmasının anormal yapıda bitki oluşumunu oldukça azaltacağı düşünülmektedir (Şekil 4.35 c).

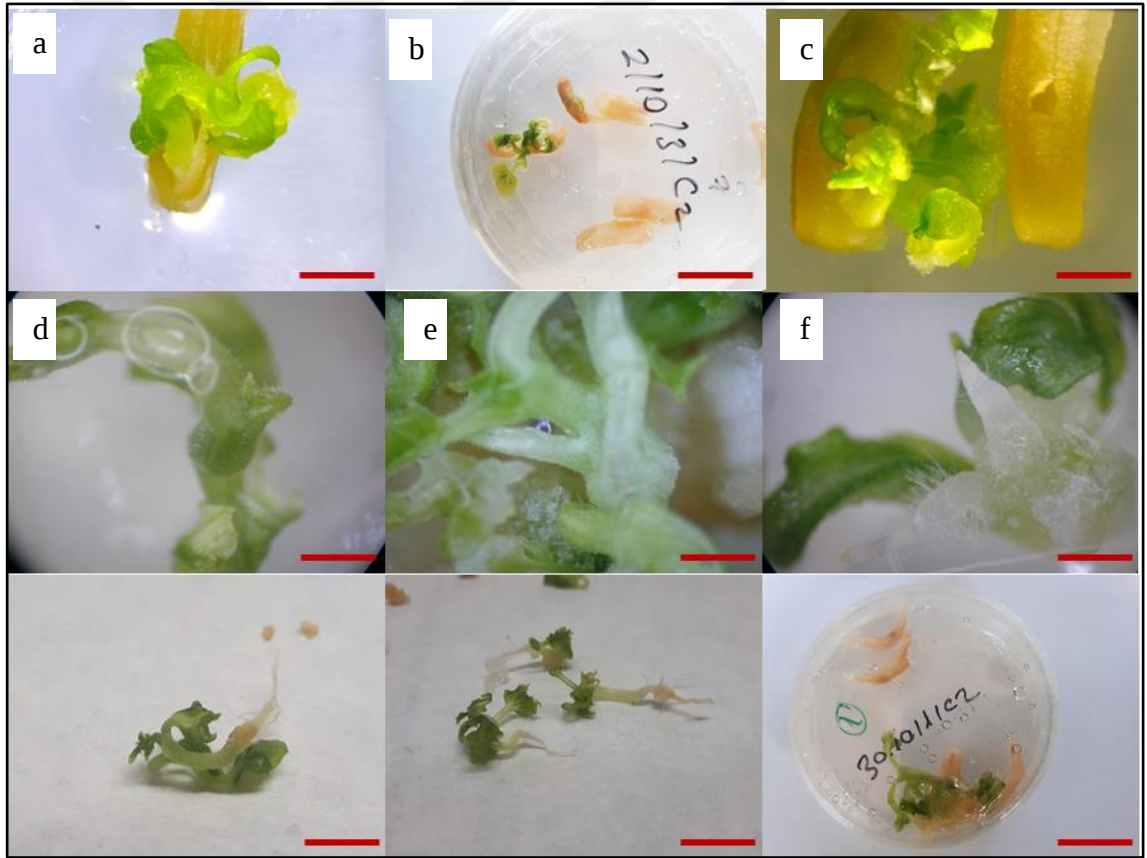


Şekil 4.32. Embriyodan bitkiciğe dönüşüm; **a.** Embriyoda klorofil oluşumu ve apikal meristem dokusunun oluşumu (Üstten ilk iki resimde kırmızı ok ile gösterilen alanlar apikal meristemi belirtmektedir.) (1.25x), **b.** Embriyodan yaprakçık formunun oluşumu (Altıtan ikici resimde kırmızı ok ile gösterilen alan bitkicikteki yaprak oluşumunu belirtmektedir.) (0.63x), **c.** Bitkicikte kök oluşumu (Altıtan üçüncü resimde kırmızı ok ile

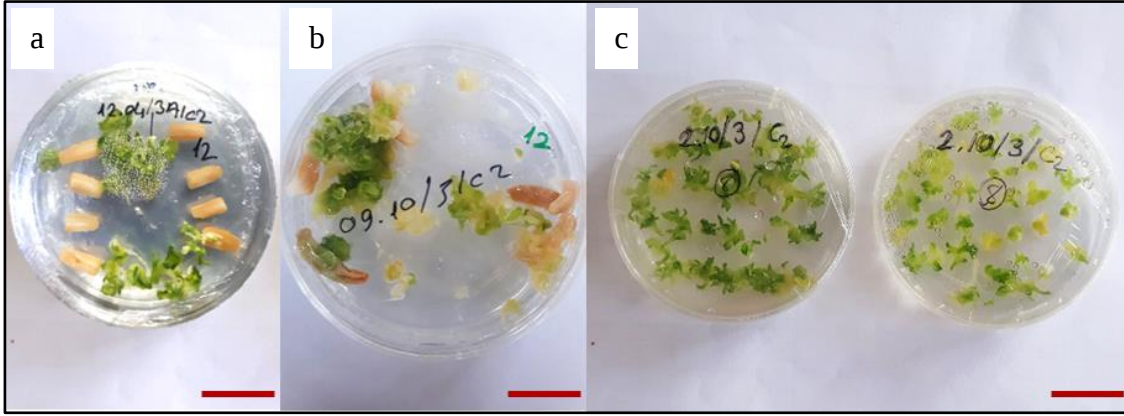
gösterilen alan bitkicikteki kök oluşumunu ifade etmektedir.) (0.80x) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)



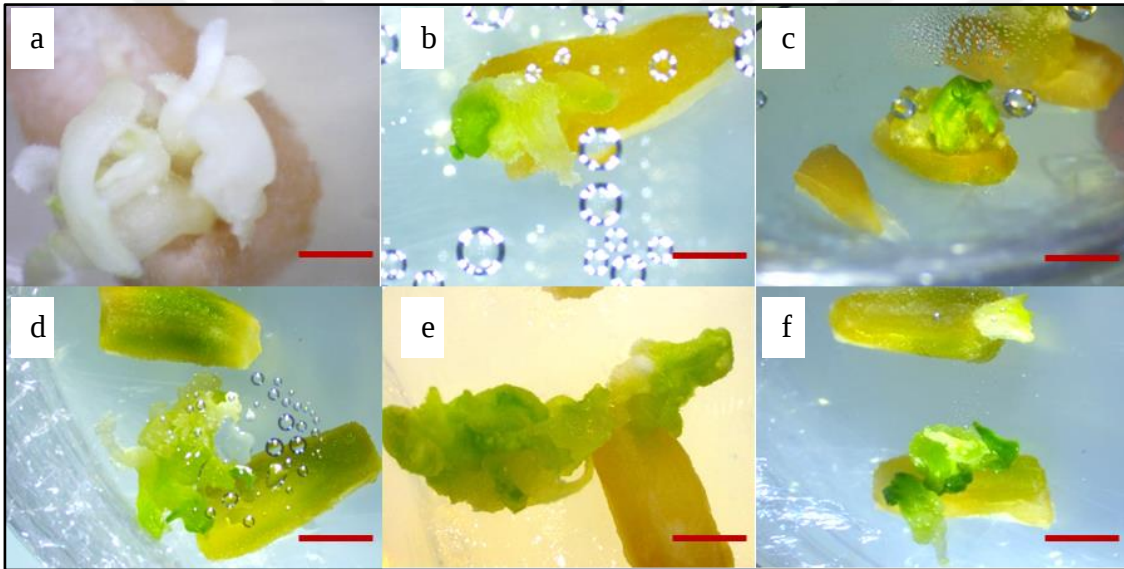
Şekil 4.33. Ovaryum içerisine gömülü olarak gelişen bitkicikler; **a., b.** Kök organı önce oluşan bitkicikler (Kırmızı ok ile belirtilen ovaryum içerisine gömülü olarak gelişmiş ve ilk kökü oluşmuş anormal yapılar), **c.** Kök ve yaprakları eş zamanlı gelişen bitkicikler (0.63x) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)



Şekil 4.34. Sağlıklı bitki ve bitkiciklerin görünümü; **a., b.** Bitki formuna dönüşme (0.63x), **c.** Birden fazla bitkicik oluşumu (0.80x), **d., e.** Bitkilerde lateral meristem uçlarının görünümü (1.00x), **f.** Bitkide kazık kök oluşumu ve kılcak köklerin görünümü (1.00x) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)



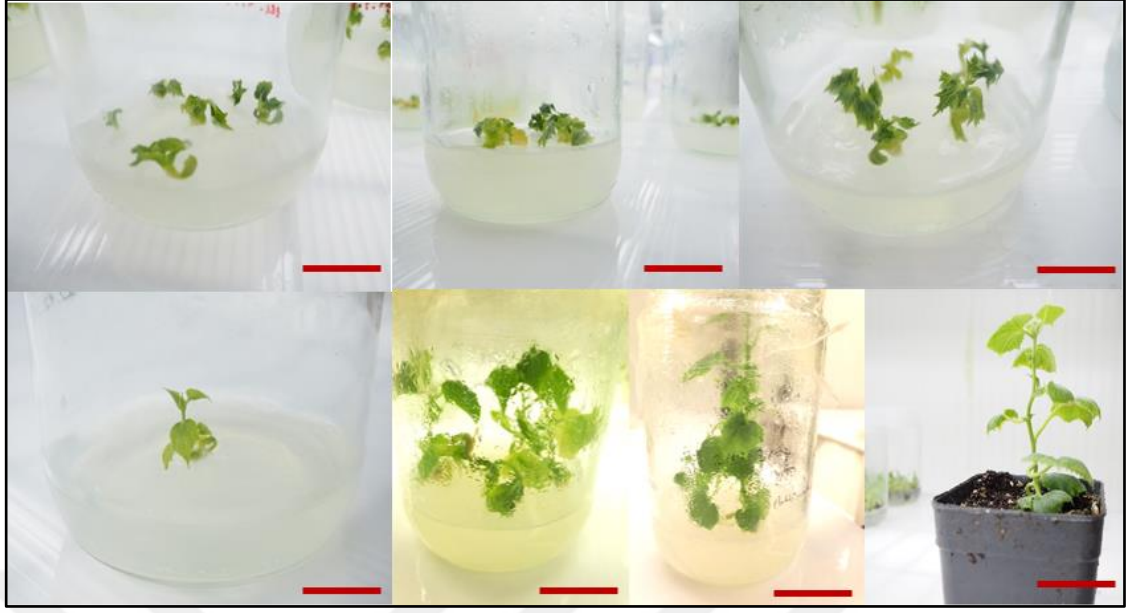
Şekil 4.35. Çoklu bitkicik oluşumları; **a., b.** Ovaryumların yanından ayrılmamış bitkicikler, **c.** Embriyojenik kallustan elde edilen embriyoların rejenerasyon ortamına tekrar ekilmesi sonucu oluşmuş bitkicikler (bar = 1 cm)



Şekil 4.36. Anormal yapılı bitki oluşumları; **a.** Albino bitkicikler (1.00x), **b, c, d, e, f.** Büyüme ucu olmayan bitkicikler (b. 0.80x, c. 0.63x, d., e. 0.80x, f. 0.63x) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar = 1 cm)

4.5.3. Elde edilen bitkilerin gelişimi

Elde edilen bitkicikler hormonsuz ve yarı güçteki MS besisi ortamına aktarılmış ve gelişimleri izlenmiştir. Bitkicik formları genel olarak bir büyüme göstermiş olup, Şekil 4.37'deki gibi bitkilere dönüşmüştür.



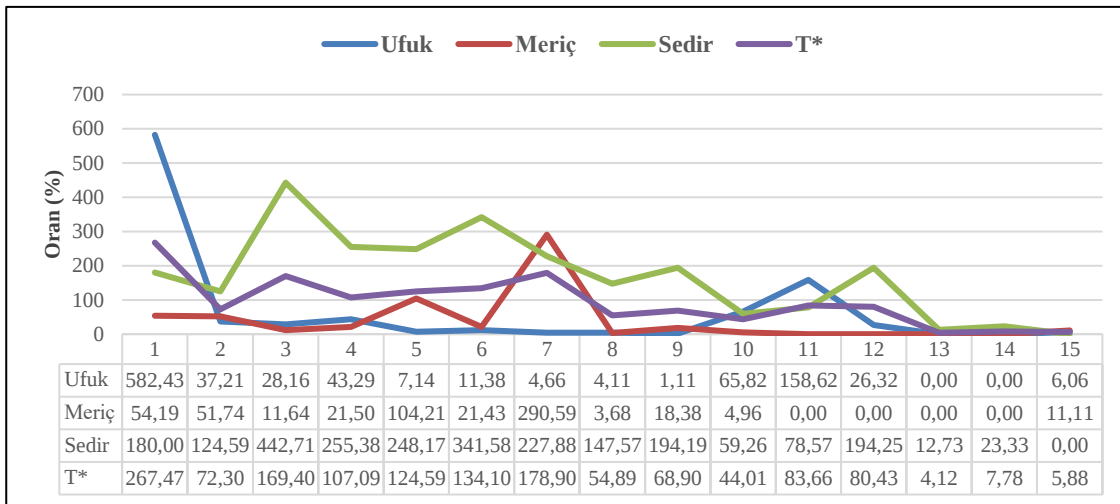
Şekil 4.37. Elde edilen bitkilerin büyüme seyirleri (bar = 1 cm)

4.6. Tüm Sezonlara Göre Donör Bitki Yaşının Hıyarda Ovaryum Kültürü Yöntemi ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Etkisi ve Bulguların Tartışılması

Hıyarda gynogenesisise etkili olan donör bitkiye ait faktörlerin etki oranını belirleyebilmek adına yürüttüğümüz bu çalışmada, tüm sezonlar donör bitki yaşı açısından bu başlık altında değerlendirilmiştir. Tüm sezonlardan elde edilen verilere göre embriyo oluşum, bitki oluşum ve elde edilen embriyo sayısına göre bitki dönüşüm oranları Şekil 4.38, Şekil 4.39, Şekil 4.40'ta verilmiş olup, alt başlıklarda değerlendirilmiştir. Toplamda 15 haftalık değerlendirme yapılmış olup, ilk hafta kurulan denemeler bir hafta yaşı olarak kabul edilmiştir.

4.6.1. Donör bitki yaşının embriyo oluşumu üzerine etkisi

Çeşitler farklı sezonlarda ayrı ayrı değerlendirildiğinde, bitki yaşı açısından değişken sonuçlara ulaşılmıştır. Ancak daha net bir sonuca ulaşmak için tüm sezonların birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Tüm sezonlara göre bir hafta yaşındaki çeşitler değerlendirildiğinde en yüksek embriyo oluşumu %582,43 oran ile Ufuk çeşidinde saptanırken, en yüksek ikinci oran %180,00 ile Sedir çeşidinde belirlenmiştir. Meriç çeşidinde ise bu oran %54,19 olarak bulunmuştur. Tüm çeşitlerden ortalama elde edilen oran ise tüm haftalar içerisindeki bulunmuş en yüksek oran olup, %267,47 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.38).



T*: Tüm çeşitlerden elde edilen haftalık embriyo oluşum oranı

Şekil 4.38. Tüm sezonlara göre donör bitki yaşının hıyarda gynogenesis yolu ile oluşan embriyo oranı üzerine etkisi (%)

İki hafta yaşındaki bitkilerden en yüksek oranda embriyo gelişimi Sedir çeşidinde belirlenirken, en düşük embriyo birinci haftada en iyi yanıt alınan Ufuk'ta görülmüştür. Meriç çeşidi ise %51,74 oran ile ikinci olmuştur. Birinci haftaya göre tüm çeşitlerden elde edilen embriyo oluşum oranı ikinci haftada düşmüş olup, %72,30 oranından belirlenmiştir. Üçüncü haftada ise Sedir çeşidinde tüm haftalarda görülen en yüksek embriyo oluşum oranına ulaşılmıştır. Bu çeşidin embriyo oluşumu %442,71 olarak hesaplanmıştır. Meriç ve Ufuk çeşitleri bir önceki haftaya göre embriyo oluşumu bakımından oransal olarak düşüş yaşanmıştır. Sedir çeşidi ile bu çeşitler arasında ciddi bir fark vardır. Tüm çeşitlerden elde edilen oran ise bir önceki haftaya göre artış göstermiş olup, %169,40 olarak belirlenmiştir.

Dört hafta yaşında olan donör bitkilerin çeşitler bazında değerlendirilmesi yapıldığında yine Sedir çeşidi birinci olurken, Ufuk çeşidi %43,29 oran ile ikinci olmuştur. Sedir çeşidi bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak yarı yarıya bir düşüş yaşamıştır. Meriç çeşidi az bir oranda da olsa bu haftada yükselişe geçmiş ve oransal olarak %21,50'ye ulaşmıştır. Toplamda elde edilen embriyo oluşum oranı bir önceki haftaya göre düşmüş olup, %107,09'dur.

Beş hafta yaşındaki bitkilerin embriyo oluşum oranları Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinde sırasıyla %7,14, %104,21 ve %248,17 olarak bulunmuştur. Bu haftada da en yüksek yanıt veren çeşit Sedir olarak belirlenmiştir. Meriç çeşidinde elde edilen %104,21 oranında embriyo oluşumu, bu çeşitte tespit edilen haftalar arasındaki en yüksek ikinci sonuçtur. Tüm çeşitlerden elde edilen oran ise %124,59'dur.

Altıncı haftada toplamda %134,10 oranından embriyo elde edilirken, Sedir çeşidinden %341,58 oranında embriyo elde edilmiş olup, bu çeşidin embriyo oranının artış gösterdiği belirlenmiştir. İkinci çeşit bir önceki hafta yüksek oranda embriyo elde edilen Meriç olmuştur. Ancak embriyo oluşum oranı yaklaşık 5 kat düşmüştür (%21,43). En az yanıt alınan çeşit ise %11,38 oran ile Ufuk olarak belirlenmiştir. Yedi hafta

yaşındaki donör bitkilerin embriyo oluşum oranları Ufuk çeşidinde %4,66, Meriç çeşidinde %290,59 ve Sedir çeşidinde %227,88 olarak belirlenmiştir. Bu haftada en iyi yanıt alınan çeşit bu sonuçlardan da anlaşıldığı üzere Meriç olmuştur. Toplam embriyo oluşum oranı (%178,90) ise tüm haftalar içerisinde elde edilen en iyi ikinci en yüksek oran olarak bulunmuştur.

Sekizinci hafta verilerine göre Sedir çeşidinden %147,57 oranında embriyo oluşmuş ve diğer çeşitler arasında bu çeşit birinci olarak belirlenmiştir. Diğer iki çeşitte embriyo oranları düşmüştür. Özellikle Meriç çeşidinde belirlenen %3,80 oranındaki embriyo eldesi bu çeşidin ciddi bir düşüş yaşadığını göstermektedir. Tüm çeşitlerden elde edilen oran ise %54,89'dur. Dokuzuncu haftada %194,19 oran ile Sedir çeşidi yine yüksek oranda embriyo oluştururken, Meriç çeşidi biraz yükselişe geçmiş, ancak çok iddialı bir yükseliş yaşanmamıştır. Ufuk çeşidinde ise %1,11 oranında embriyo eldesi gerçekleşmiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyo oluşum oranı ise bir önceki haftaya göre az bir oranda yükselmiş olup, %68,69 oranında kaydedilmiştir.

On hafta yaşına ulaşan donör bitkinin embriyogenesis yetenekleri değerlendirildiğinde Ufuk çeşidinin oranı (%65,82) yükselerek birinci sıraya yerleşmiştir. Sedir çeşidinde ise bu oran %59,26 olarak hesaplanmıştır. Tüm çeşitlerden elde edilen oran %44,01'dir. On birinci haftada ise Ufuk çeşidi tüm haftalar arasındaki en yüksek ikinci oranına, %158,62 ile ulaşmıştır. Meriç çeşidinden embriyo elde edilmezken, Sedir çeşidinde bu oran %78,57'de kalmıştır. Onuncu haftaya göre toplam elde edilen oran yaklaşık olarak yarı yarıya bir artış göstermiştir.

On iki hafta yaşında ise Sedir'den %194,25, Ufuk'tan %26,32 oranında embriyo elde edilmiştir. Meriç embriyo oluşturmazken, toplamda %80,43 embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. On üçüncü ve 14. haftalarda sadece Sedir çeşidinden sırasıyla %12,73 ve %23,33 oranlarında embriyo görülmüştür. Toplamda embriyo oluşumu ise oldukça düşük oranlarda saptanmıştır. On beşinci haftada ise bu haftaların tersine sadece Ufuk ve Meriç çeşitlerinden sınırlı bir oranda embriyo oluşmuş, Sedir'den oluşmamıştır. Toplamda elde edilen oran ise %5,88 olarak bulunmuştur.

Genel olarak bitki yaşının etkisi değerlendirildiğinde çeşitlere göre farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Ufuk çeşidinde en yüksek bitki oluşumu 1. ve 11. haftalar arasında elde edilmiştir. Bu çeşidin özellikle 5., 6., 7., 8. ve 9. haftalarda düşük oranda embriyo oluşturması ve sonrasında embriyo oranlarının artış göstermesi, donör bitki yaşının yüksek oranda etkili bir etmen olmadığını göstermektedir. Ancak genel açıdan bakıldığında ara ara düşük oranlarda da olsa 13. haftaya kadar embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Sezonlar açısından detaylı bir inceleme yapıldığında 2019 Bahar sezonunda ilk 4 haftaya kadar, 2019 Güz sezonunda ilk 6 haftaya kadar, 2020 Bahar sezonunda ilk 4 haftaya kadar, 2020 Güz sezonunda yaklaşık ilk 4 haftaya kadar bitki yaşının etkili olabileceği görülmüş, ancak sezon sonlarına doğru embriyo oranlarında artışlar saptanmıştır. Bundan sonra gelişen yüksek embriyo oranlarının bitki yaşının artmasıyla birlikte bitkideki stres reaktörlerini harekete geçirmesine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Bu reaktörlerinde generatif organlara uyarıcı etkide bulunabileceği ve sezonluk tip olan bu çeşidin, bu durumdan diğer çeşitlere göre daha fazla etkilenmiş olabileceği söylenebilir. Generatif organların donör bitkideki fonksiyonel gelişimlerinin embriyo oluşumunu etkileyebileceği düşünülmektedir. Birtakım uyarıcılar vasıtası ile normal bir bitki gelişiminde çiçeklenme evresi birçok faktörden etkilenebilmektedir. Bir

çalışmada generatif organ oluşumunun stres etmenlerinden etkilendiğini ve stres kaynaklı hormon olan ABA'nın, çiçeklenme kontrol genini (FCA) uyararak, çiçeklenme süresini düzenlenmeye ve çiçek oluşumunu tetiklemeye yardımcı olduğu bildirilmektedir. Aynı çalışmada stres faktörlerinin türe, çevresel veya epigenetik faktörlere göre değişiklik gösterdiği söylenmektedir (Kumar vd. 2012). Yaşlanma evresinde de ABA bitkisel hormon miktarının artış gösterdiği bilinmektedir. Bu çeşide özgü olarak yaşlanmaya bağlı gelişen fizyolojik olayların embriyo oluşumunu olumlu yönde etkilemiş olabileceği düşünülebilir.

Meriç çeşidinde en yüksek embriyo oluşumu en çok 7. haftada gerçekleşmiştir. Bu çeşidin 7. haftadan sonra embriyo oluşum oranları düşmüştür. Oransal açıdan bakıldığında en yüksek embriyo oluşumunun 1. haftada değil de 7. haftada olması, bunun mevsime bağlı olarak tepki verdiğine işaret emektedir. Özellikle kısa gün koşullarına kayan süreçlerde embriyo verimlerinin artması bu dalgalanarak oluşan embriyo grafiğini açıklamaktadır. Genel olarak değerlendirildiğinde ise donör bitki yaşının etkili olduğu açıkça görülmektedir. Sezonlar açısından değerlendirildiğinde ilk sezonda yaklaşık ilk 5 hafta, ikinci sezonda yaklaşık son 5 hafta, üçüncü sezonda ilk 7 hafta, son sezonda da son haftada daha yüksek oranlarda embriyo oluştuğu görülmüştür. Buradan da anlaşıldığı üzere bitki yaşının etkili olduğu, ancak mevsimsel faktörlerin daha etkili olduğu belirlenmiştir. Özellikle güz dönemi denemelerinde son haftalarda, bahar dönemi denemelerinde ilk haftalarda embriyo veriminin yüksek olması açıkça fotoperiyot duyarlılığını göstermektedir. Bitki yaşının genel olarak çiçeklenme verimi ve generatif fonksiyonları düşürdüğü bilinmektedir. Donör bitkideki generatif veriminin yaşa bağlı olarak hareket etmesi beklenirken fotoperiyodun daha etken bir hal alması fizyolojik olarak üzerinde durulması gereken bir konudur. Bir derlemeye göre *Arabidopsis thaliana*'da çiçeklenme olayının fotoperiyota daha bağlı bir etmen olduğu, uygun gün koşulları sağlandığı takdirde fotoperiyot geninin aktif hale geldiği ve bu genin yaş genini susturduğu bildirilmektedir. Benzer durumların diğer türlerde de olabileceği söylenmektedir (Izawa 2021). Çalışmamızda dikenli tip olan bu çeşitte fotoperiyot-yaş ilişkisinde de benzer bir durum söz konusu olabilir. Çiçeklenmeye etki eden faktörlerin embriyo oluşumunu da aynı doğrultuda etkilediği elde ettiğimiz bu bulguya dayanarak söylenebilir. Çilek üzerinde yapılan bir çalışmada ise yüksek sıcaklık koşullarında yetişen yaşlı bitkilerde fotoperiyot koşullarının uygun olmasına rağmen çiçek sayısının genç bitkilere göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (Verheul vd. 2006). Buradan anlaşılan sıcaklık faktörünün, fotoperiyot dengesini değiştirebileceği ve stres mekanizmasını uyararak bitkinin beklenenin aksine bir yönde tepki vermesi olacaktır.

Sedir çeşidinde ise yaklaşık 9 haftaya kadar yüksek oranlarda embriyo oluştuğu, ancak embriyo oluşturma kabiliyeti yüksek olan bu çeşidin sadece 15. haftada embriyo oluşturmadağı belirlenmiştir. Çeşitler arasında bitki yaşından en etkilenen çeşidin bu olduğu saptanmış olup, en yüksek embriyo verimi 3., 4., 5., 6. ve 7. haftalarda alınmıştır. Sezonsal açıdan bakıldığında genel olarak birinci sezonda ilk 9 haftada, ikinci sezonda 4 haftada, üçüncü sezonda ilk 8 haftada ve son sezonda ilk 6 haftada daha yüksek embriyo oluşumları gerçekleşmiştir. Ancak sezon sonlarına doğru bazı haftalarda artış gözlenmiş olması, bitki yaşında farklı faktörlerin embriyogenesi tetikleyebileceği düşüncesini doğurmaktadır. Buradan da anlaşılaacağı üzere bu çeşidin embriyo oluşturma kabiliyeti yüksek oranda bitki yaşına bağlıdır.

Tüm çeşitlerin ortalama embriyo oluşturma oranları haftalık olarak değerlendirildiğinde ise ilk 7 haftanın embriyogenesis açısından en verimli yaşlar olduğu görülmüştür. Çalışmamızdan anlaşıldığı üzere embriyo oluşturmada donör bitki yaşının önemi büyüktür. Ancak genotiplere göre başarı oranlarında farklılıklar görülebilir. Donör bitki yaşına bağlılık sıralaması açısından değerlendirildiğinde Sedir birinci, Meriç ikinci ve Ufuk üçüncü sırada gelmektedir.

Takahata vd. (1991)'nin kanola da yürütmüş oldukları bir çalışmada da yaşlı donör bitkilerin embriyogenesis frekansının daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Bunun yanı sıra biberde yürütülen bir çalışmada da genç bitkilerden alınan anterlerin yaşlılara göre daha az yanıt verdiği de söylenmektedir (Sayılır 2002). Kristiansen ve Andersen (1993)'de bitki yaşının ilerlemesi ile embriyogenesisin azaldığını, genç bitkilerin embriyo oluşturma açısından daha iyi yanıt verdiğini savunmaktadırlar. Bizim çalışmamızda da donör bitkinin yaşının haploid embriyo oluşturmaya etkili olduğu, ancak genotipe göre embriyogenesis oranlarında farklılıklar olabileceği görülmüştür. Ayrıca ekolojik ve kültürel işlemlerin donör bitkinin haploid embriyo oluşturma kabiliyetine etki ettiği de saptanmıştır. Özellikle sera koşullarında donör bitkilerin maruz kaldığı bir takım stres etmenlerinin (sıcaklık, fotoperiyot, gübreleme programı vb.) çiçek alınamama ve embriyo oluşmama gibi problemlere yol açtığı görülmüştür. Bu durum Meriç çeşidinde yüksek oranda hissedilmiştir. Dunwell (1976), tütünde yürütmüş olduğu anter kültürü çalışmasında genç bitkilerden daha fazla embriyo ve bitki alınabildiğini, donör bitkinin maruz kaldığı gün uzunluğu ve ışık yoğunluğunun embriyo oluşumunu önemli derecede etkilediğini bildirmektedir.

Embriyo oluşumunun fotoperiyota bağlı tepkisini ovaryumun alındığı yerinde belirleyici olması muhtemeldir. Bitki yaşının artması ile yaşlı ve geniş ayalı yaprak sayısı artmaktadır. Geniş ayalı yaprakların altında kalan bitkinin isteğinden daha az güneşlenme süresine maruz kalmış ovaryumların embriyo indüksiyonuna da farklı tepkiler vermiş olabileceği muhtemeldir. Uygun aşama olarak kabul edilen ovaryumların ovüllerinin eşit olarak tepki vermemesi bu sebeple olabilir. Bunun yanı sıra ovaryumun kültüre alınmasından sonra genotipin istekleri doğrultusunda uygulanabilecek fotoperiyot uygulaması da embriyo oluşumunu tetikleyebilir.

Ovaryumun donör bitkiden alınma yaşının yanı sıra alındığı bölgenin de önemli olabileceği sadece fotoperiyot açısından değil ovaryumun geliştiği nodyumun gelişmişlik seviyesiyle de bağlantılı olabilir. Kültüre alınan ovaryumlar ilk denemelerde genel olarak teppeye yakın genç nodyumlardan alınmış, ancak bitki boyu uzadıkça daha yaşlı nodyumlardan da çiçek gelişimi gerçekleşmiş ve karışık bir şekilde ovaryum toplanmıştır. Taze nodyumlar ve yaşlı nodyumlarda bulunan içsel hormon seviyesinde farklılıklar olabileceği bunun da kültüre alınan tüm ovaryumlardan eşit seviyede embriyo oluşmamasına etki edebileceği düşünülmektedir. Çiçek salkımı yaşı üzerine Takahata vd. (1991)'nin kanola yürütmüş olduğu mikrospor kültürü çalışmasında yeni açmış çiçek salkımı ve yaşlı çiçek salkımının embriyo oluşturma üzerine etkinliği ve bunların donör bitki yaşı ile olan ilişkisi üzerinde de durulmuştur. Araştırma sonunda bilim insanları, yaşlı bitkilerin yeni tomurcuklarından alınan anterlerden en yüksek embriyo verimi elde edildiğini, genç bitkilerden alınan genç çiçeklerde embriyo veriminin zayıf olduğunu bildirilmiştir. Bunun aksine aynı bitkide farklı bir çalışmada ise ilk çiçeklenmeden bir hafta sonra kültüre alınan anterlerin, iki hafta sonra alınanlara göre daha yüksek oranda embriyo oluşturduğu, 2 hafta yaşında olan çiçek salkımlarından gelişen embriyoların

bitkiye dönüşmediği küme halinde kaldığı bildirilmektedir (Chuong vd. 1988). Yürüttüğümüz çalışmada da ovaryumların alındığı nodyum yaşının belirtilen örneklerde olduğu gibi etkili olabileceği düşünülmektedir. Özellikle donör bitki yaşlanma evresinde dip bölgeye yakın daha önce uyku halinde olan çiçek gözlerinin uyandığı görülmüştür. Bu konu hakkında üzerine çalışma yapılmalıdır. Yürüttüğümüz bu çalışmada genel anlamda embriyo oluşumunun donör bitki yaşına bağlı olduğu ancak genotipler üzerinde farklı etmenlerin farklı sonuçlar doğurabileceği görülmüştür.

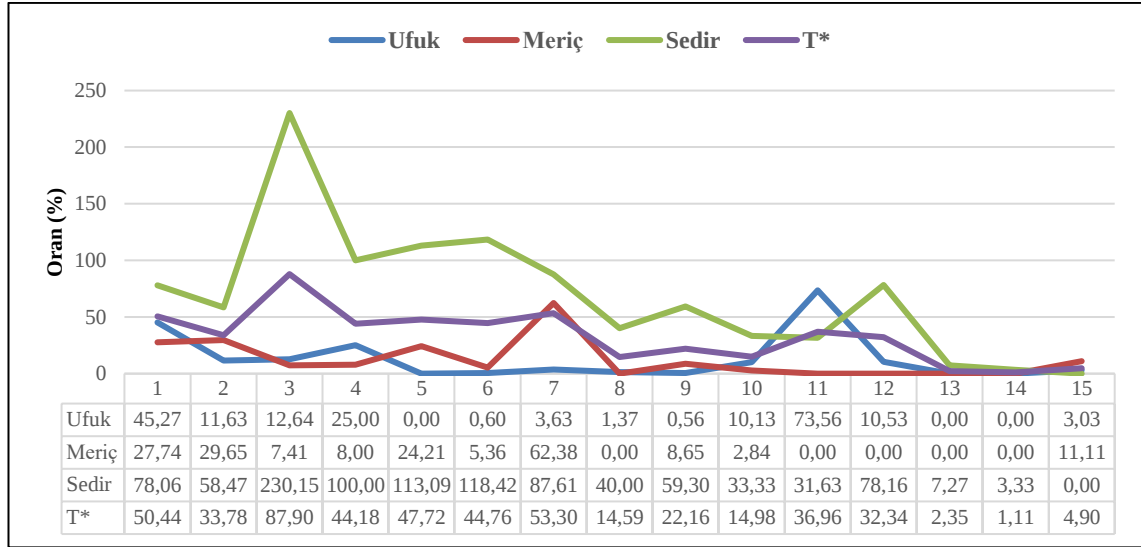
4.6.2. Donör bitki yaşının bitki oluşumu üzerine etkisi

Embriyo eldesi açısından donör bitki yaşının önemli bir faktör olduğu açıkça görülmüştür. Aynı faktörün bitki eldesi üzerine etkinliği ise tüm sezon başarı oranlarına göre ortak değerlendirilmiş olup, çalışmamızda bu başlık altında verilmiştir.

Bir hafta yaşındaki bitkilerden elde edilen sonuçlara göre en yüksek bitki oluşum oranı %78,06 Sedir çeşidinde görülmüştür. Ufuk çeşidinde ise %45,27 oran ile en iyi ikinci sonuç elde edilmiştir. Bitki eldesi bakımından birinci haftada kurulan denemelerde en az orana ulaşan çeşit ise %27,74 oran ile Meriç olmuştur. Ortalama bitki oluşum oranı bakımından değerlendirildiğinde %50,44 oranında bitki oluştuğu görülmüştür (Şekil 4.39).

İki hafta yaşındaki bitkilerden elde edilen sonuçlara göre 1. haftada olduğu gibi %58,47 oran ile Sedir çeşidi yine birinci olmuştur. Meriç çeşidinde bir önceki haftaya göre bitki eldesi oranında az bir oranda artış saptanmış ve oransal olarak %29,65'e yükselmiştir. Ufuk'ta ise bu oran %11,63'tür. Ortalama elde edilen bitki oranı ise bir önceki haftaya göre düşmüş ve %33,78 olarak hesaplanmıştır.

Üçüncü hafta da Sedir çeşidinde tüm haftalar arasındaki en yüksek oranda bitki eldesi gerçekleşmiş olup, oransal açıdan bakıldığında bu çeşitte %230,15 oranına ulaşılmıştır. Diğer çeşitler ile arasında ciddi bir fark olduğu görülmüştür. Ufuk ve Meriç çeşitlerinde ise bu oran sırasıyla %12,64 ve %7,41'dir. Sedir çeşidinde elde edilen bu oran ortalama bitki oluşum oranını da etkilemiş olup, tüm haftalar içindeki elde edilen en yüksek oranda bitki oluşumuna bu haftada rastlanılmıştır. Bu oran %87,90 olarak kaydedilmiştir.



T*: Tüm çeşitlerden elde edilen haftalık bitki oluşum oranı

Şekil 4.39. Donör bitki yaşının hıyarda gynogenesis yolu ile oluşan bitki oranı üzerine etkisi (%)

Dördüncü haftada ise Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinden sırasıyla; %25,00, %8,00 ve %100,00 oranlarında bitki eldesi gerçekleşmiştir. Sedir bir önceki haftaya göre düşüş yaşarken Meriç'te bu oran çok fazla bir değişme yaşamamıştır. Ortalama oran ise bir önceki haftaya göre yaklaşık olarak yarı yarıya düşmüştür.

Beş hafta yaşında ise en yüksek oran geçen tüm haftalarda olduğu gibi %113,09 oran ile Sedir çeşidinde oluşmuştur. Ufuk çeşidinden bu haftada hiç bitki elde edilmezken, Meriç'ten %24,21 oranında bitki elde edilmiştir. Toplamda %47,72 oranında bitki oluşmuştur.

Altı hafta yaşındaki donör bitkilerden elde edilen bitki oluşum oranları Ufuk çeşidinde %0,60, Meriç çeşidinde %5,36 ve Sedir çeşidinde %118,42'dir. Ortalama bitki eldesi oranı ise %44,76'dır. Yedinci haftada tüm çeşitlerden elde edilen bitki eldesi oranı %53,30 olarak belirlenmiş olup, bu haftada Meriç çeşidi en yüksek bitki eldesi oranına (%62,38) ulaşmıştır. Sedir ise bu haftada %87,61 oran ile birinci olmuştur. Ufuk'ta ise bu oran sınırlı bir seviyede (%3,63) kalmıştır.

Sekiz hafta yaşındaki donör bitkilerin bitki oluşturma yüzdeleri ortalama olarak %14,59'dur. Meriç çeşidinde bu haftada bitki elde edilmezken, Ufuk çeşidinden %1,37 oranında bitki gelişmiştir. Sedir ise %40,00 oran ile birinci olmuştur.

Dokuz hafta yaşında olan donör bitkiler değerlendirildiğinde ise en yüksek bitki oluşturma kabiliyeti %59,30 oran ile Sedir çeşidinde bulunmuştur. Ortalama bitki oluşum oranı %22,16 olarak hesaplanırken, Meriç'te bu oran %8,65'tir. Onuncu haftada ise Ufuk çeşidi bir önceki haftaya göre artış göstermiş olup, %10,13'e yükselmiştir. Meriç'te bu oran %2,84, Sedir'de %33,33'tür. Ortalama bitki oluşum yüzdesi ise bu haftada %14,98 olarak bulunmuştur.

On bir hafta yaşına ulaşan donör bitkilerden en fazla bitki oluşum oranını %73,56 ile Ufuk çeşidi gösterirken, ikinci çeşit %31,63 oran ile Sedir olarak belirlenmiştir. Meriç çeşidinden bu haftadan sonra 15. haftaya kadar bitki gelişmemiştir. Ortalama elde edilen oran ise %36,96'ya yükselmiştir. On ikinci haftada Ufuk'tan %10,53 ve Sedir'den %78,16 oranında bitki gelişimi görülmüştür. Bir önceki haftaya göre az bir oranda bitki eldesinde düşüş yaşanmış olup, bu oran %32,34 olarak belirlenmiştir. Dikkat çeken nokta Sedir çeşidinin bu haftada yüksek bitki oluşumuna ulaşmış olmasıdır. Sadece Sedir çeşidinden bitki eldesi gerçekleşen 13.haftada ve 14. haftada %7,27 ve %3,33 oranlarında bitki elde edilmiştir. On beşinci haftada ise Sedir çeşidinden bitki elde edilmemiş olup, Meriç çeşidinden %11,11, Ufuk çeşidinden %3,33 oranlarında bitki oluşumu gerçekleşmiştir. Ortalama tüm çeşitlerden elde edilen bitki oranı ise %4,90 olarak bulunmuştur.

Çeşitler bazında donör bitki yaşının etkisi bitki eldesi oranları açısından değerlendirildiğinde embriyo oluşumu ile benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Ufuk çeşidinde ilk dört haftada kesintisiz bitki eldesi saptanırken, en yüksek bitki eldesi bu çeşitte 11. haftada kaydedilmiştir. Özellikle 10., 11. ve 12. haftalarda da önemli sayılabilecek bitki oranları elde edilmiştir. Tüm sezonlar ayrı ayrı değerlendirildiğinde birinci sezonda ilk 4 haftada, ikinci sezonda ilk 3 haftada, üçüncü sezonda ilk dört haftada, dördüncü sezonda değişken zamanlarda (11. haftada en yüksek bitki) yüksek bitki bulgusuna rastlamıştır. Ancak bu bahsedilen haftalar dışında gözlemlenen yüksek oranda bitki oluşum oranları da gerçekleşmiştir. Bu tabloya göre genel bir yorum yapılacak olunursa bitki eldesi oranının bitki yaşına bağlı olduğu bu çeşitte az da olsa söylenebilir.

Meriç çeşidinde artan ve azalan oranlarda 8. haftaya kadar bitki elde edilmiş olup, bu genotipin en yüksek orana ulaştığı hafta 7. hafta olarak belirlenmiştir. Özellikle 11. haftadan 15. haftaya kadar hiç bitki oluşmamıştır. Bitki eldesi oranı bakımından en yüksek orana ulaştığı haftalar kendi içerisinde değerlendirildiğinde ise ilk iki hafta yakın oranlarda bitki oluşmuş, yedinci haftada artış gözlemlenmiştir. Bu da donör bitki yaşına bağımlılığının dışında farklı sebeplerden dolayı bitki elde oranlarının değişiklik gösterebileceğine işaret etmektedir. Sezonlar açısından değerlendirildiğinde birinci sezonda ilk yedi haftada, ikinci sezonda 7. ve 9. haftada, üçüncü sezonda genel olarak ilk 7 haftada, dördüncü sezonda ise 15. haftada bitki oluşturduğu tespit edilmiş, güz ve bahar sezonlarına göre başarılı oldukları haftalar değişmiştir. Daha çok bitki eldesini etkileyenin embriyo oluşumunu etkileyen etmenlerle aynı olduğu düşünülmektedir. Fotoperiyodun bitki oluşumunda da etkili olduğu söylenebilir. Bitkiye dönüşüm sağlayabilecek embriyonun rejenerasyon kabiliyetinin, ovülün kültüre alınmadan önceki olgunluk ve iyi gelişmişlik seviyesi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Bu çeşit genel anlamda değerlendirildiğinde ve bitki eldesi bakımından Ufuk çeşidi ile karşılaştırıldığında, donör bitki yaşına daha bağımlı olduğu görülmüştür.

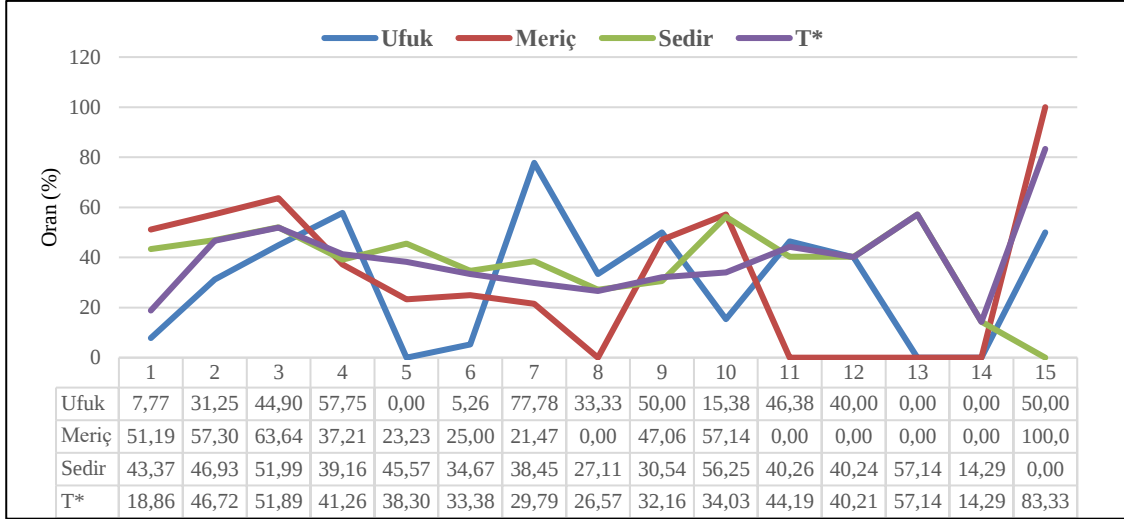
Sedir çeşidinde genel anlamda Şekil 4.39'a göre ilk 7 haftada iyi oranlarda bitki elde edildiği ve bundan sonraki haftalarda bir azalan bir artan oranlarda bitki gelişimi olduğu saptanmıştır. En yüksek bitki eldesine 3. haftada ulaşılmıştır. Tüm sezonlar açısından değerlendirildiğinde bu çeşit birinci sezonda ilk 7 haftada, ikinci sezonda genel anlamda ilk 4 haftada, üçüncü sezonda genel anlamda ilk 7 haftada ve dördüncü sezonda ilk 6 haftada yüksek oranlarda embriyo oluşturmuştur. Sezon sonuna doğru bazı haftalarda da yüksek sonuçlara ulaşılmıştır. Ama tüm sezonlar açısından değerlendirildiğinde donör bitki yaşının bu çeşitte önemli bir etken olduğu sonucuna

varılmıştır. Sezonların ortalaması incelendiğinde de çıkan sonuç bu iddiayı doğrular niteliktedir (Şekil 4.39).

Toplam kültüre alınan ovaryum sayısına göre elde edilen bitki eldesi oranları haftalık olarak değerlendirildiğinde yine embriyo eldesinde olduğu gibi 7. haftaya kadar bitki gelişiminin donör bitki yaşından etkilendiği görülmüştür. Donör bitki yaşının 7 haftaya kadar ortalama olarak bitki elde oranlarını olumlu etkilediği, 7 haftadan sonra bu oranların düştüğü sonucuna varılmıştır. Bitki eldesi oranı bakımından çeşitlerde donör bitkiye bağımlılık sıralaması yapıldığında Sedir birinci, Meriç ikinci ve Ufuk üçüncü çeşit olarak bulunmuştur. Burada genotipik etkinin yüksek oranda önemli olduğu görülmüştür. Yürüttüğümüz bu çalışmada donör bitki yaşının gynogenesis yolu ile hıyarda haploid bitki eldesi üzerine önemli bir etkisi olduğu bu sonuçlara göre net olarak söylenebilir. Çeşitli bitki türlerinde çiçeklenme döneminin başında hasat edilen anter ve ovaryumların androgenesis ve gynogenesis yanıtının daha yüksek olduğu ve bitki yaşının artması ile bu yanıtın azaldığı söylenmektedir (Mukhambetzhanoğlu vd. 2011). Şeker pancarında ovaryum kültürü üzerine yürütülen bir çalışmada da donör bitkinin yaşının morfogenetik yanıtı etkilediği söylenmektedir (Gibson 1987). Tütünde yürütülen bir ovaryum kültürü çalışmasında ise Dunwell (1976) kültüre aldığı ilk eksplantlardan son eksplantlara göre 7 kat daha fazla oranda bitki eldesi gerçekleştiğini belirtmektedir. Ovaryum kültürü çalışmalarında donör bitkinin yaşı üzerine sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Haploid bitki eldesinde genel anlamda donör bitki yaşının etkisi üzerine değerlendirilme yapıldığında ise bizim de elde ettiğimiz sonuçlara benzer sonuçlar yürütülen çalışmalarda bildirilmektedir. Biberde yürütülen androgenesis çalışmalarında bitki yaşının ilerlemesiyle birlikte bitki elde oranlarında düşüşler yaşandığı görülmüştür (Kristiansen ve Andersen 1993; Şensoy 2011). Bunun aksi bir sonuca ulaşan Sayılır (2002) ise yaşlı bitkilerden alınan eksplantların daha iyi yanıt verdiğini söylemektedir.

4.6.3. Donör bitki yaşının elde edilen embriyoya göre bitkiye dönüşüm oranları üzerine etkisi

Embriyo ve bitki elde olanlarının donör bitki yaşına kısmende olsa bağlı oldukları çalışmamızda açıkça görülmüştür. Tüm sezonlar göz önünde bulundurularak donör bitki yaşı açısından 15 hafta boyunca tüm sezonlardan elde edilen veriler oransal olarak değerlendirilmiş olup, karşılaştırılması burada yapılmıştır. Tüm sezonların haftalık elde edilen embriyo sayılarına göre bitki oluşum oranları Şekil 4.40'ta verilmiştir.



T*: Tüm çeşitlerden toplam elde edilen embriyo sayısına göre bitkiye dönüşüm oranı

Şekil 4.40. Donör bitki yaşının hıyarda gynogenesis yolu ile elde edilen embriyoların bitki dönüşüm oranı üzerine etkisi (%)

Şekil 4.40'a göre bir hafta yaşındaki donör bitkilerden elde edilen embriyoların %18,86'sı bitkiye dönüşmüştür. Bitki dönüşümü açısından bu haftada %51,19 oran ile Meriç çeşidi birinci olurken, %43,37 oran ile Sedir ikinci çeşit olmuştur. Ufuk çeşidinde bu oran %7,77'dir. İkinci hafta verilerine göre ortalama olarak %46,72 oranında bitki dönüşümü saptanmış olup, bu hafta da en iyi yanıt alınan çeşit %57,30 oran ile Meriç olarak belirlenmiştir. Ufuk ve Sedir'de embriyodan bitkiye dönüşme oranı %31,25 ve %46,93'tür.

Üç hafta yaşındaki donör bitkilerden elde edilen embriyoların genel olarak %51,89'u bitkiye dönüşmüştür. Embriyoların bitkiye dönüşme oran başarısı bakımından bu haftada en iyi çeşit giderek artan bir orana sahip olan Meriç çeşididir. Bu çeşidin embriyodan bitkiye dönüşüm oranı %63,64'tür. Ufuk çeşidinde ise %44,90 oranında bitki bulgusuna rastlanarak, bu çeşidin üçüncü çeşit olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra Sedir'de de embriyodan bitkiye dönüşüm oranı %51,99'dur. Dört hafta yaşındaki donör bitkilerin bitki oluşum kabiliyetleri değerlendirildiğinde %57,75 oran ile Ufuk çeşidinin birinci, %39,16 oran ile Sedir'in ikinci ve %37,21 oran ile Meriç çeşidinin üçüncü olduğu tespit edilmiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyoların %41,26'sı bitkiye dönüşmüştür.

Beşinci haftada ise Ufuk ve Meriç çeşitlerinde embriyodan bitkiye dönüşüm oranları düşmüş olup, Ufukta embriyo elde edilmesine rağmen hiç bitki oluşumu gerçekleşmemiştir. Meriç'te ise bu oran %23,23'tür. Bu haftanın en iyi yanıt veren çeşidi %45,57 ile Sedir olmuştur. Toplamda elde edilen embriyoların %38,30'u bitkiye dönüşmüştür.

Altı hafta yaşındaki donör bitkilerin başarı oranlarına bakıldığında ise Ufuk ve Meriç'te sınırlı sayıda bir artış tespit edilmiştir. Sedir'de elde edilen embriyoların bitkiye dönüşüm oranı ise %34,67 olarak hesaplanmıştır. Ortalama elde edilen bitkiye dönüşüm

oranlarının 3 haftadır giderek düştüğü belirlenen çalışmada, bu haftada da %33,38 oranına ulaşılmış olup, düşüşün devam ettiği saptanmıştır.

Yedinci haftada en yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm %77,78 oran ile Ufuk çeşidinde gerçekleşmiştir. Bu oran tüm haftalarda ve tüm çeşitlerde elde edilen en yüksek ikinci oran olarak bulunmuştur. Sedir çeşidi bu haftada %38,45 embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleştirirken, Meriç ise %21,47 oranında gerçekleştirmiştir. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyoların %29,79'u bitkiye dönüşmüştür. Bu haftada genel anlamda bitki dönüşüm oranının düştüğü görülmüştür.

Sekiz hafta yaşındaki Meriç donör bitkilerinden bitki elde edilememişken, Ufuk'ta %33,33, Sedir'de %27,11 oranında embriyodan bitkiye dönüşüm görülmüştür. Ortalama elde edilen embriyo dönüşüm oranı %26,57'dir. Dokuz hafta yaşındaki donör bitkilerin embriyodan bitkiye dönüşüm oranları çeşitler bazında incelendiğinde, Ufuk Meriç ve Sedir çeşitlerinde sırasıyla %50,00, %47,06 ve %30,54 oranlarına ulaşılmıştır. Ortalama embriyodan bitkiye dönüşüm oranı bu haftada artış göstermiş olup, %32,16'ya ulaşmıştır.

Onuncu haftada ise Meriç ve Sedir çeşitlerinde yakın oranlarda embriyodan bitkiye dönüşüm saptanmış olup, Meriç'te bu oran %57,14, Sedir'de ise %56,25 olarak bulunmuştur. Ufuk'tan elde edilen embriyoların ise %15,38 bitkiye dönüşmüştür. Tüm çeşitlerden elde edilen embriyoların bitkiye dönüşüm oranları bu haftada da artış göstermiş, oransal açıdan bakıldığında %34,03'e ulaşmıştır.

On bir hafta yaşındaki donör bitkilerin oluşan embriyolarından %44,19 oranında bitki bulgusuna rastlanırken, Ufuk çeşidinde %46,38 bitki dönüşümü gerçekleşmiştir. Sedir'de ise bu oran %40,26'dır. Ortalama bitkiye dönüşüm oranlarında artış devam etmiş ve %44,19'a ulaşmıştır. Meriç çeşidinden bu haftadan 15. haftaya kadar embriyo elde edilememiştir.

On ikinci haftada bitkiye dönüşüm oranları incelendiğinde Ufuk ve sedir çeşitlerinde yakın oranlarda embriyodan bitkiye dönüşüm saptanmış olup, ortalama bitkiye dönüşüm oranı ise %40,21 olarak bulunmuştur. On üçüncü ve 14. haftalarda sadece Sedir çeşidinden embriyo elde edilmiş ve bunların bitkiye dönüşüm oranları sırasıyla %57,14 ve %14,29 olarak belirlenmiştir. On üçüncü haftada elde edilen rejenerasyon oranı Sedir'de görülmüş en yüksek orandır. On beşinci haftada en yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm oranı Meriç çeşidinde görülmüş olup, bu oran %100,00'dür. Ufuk ise %50,00 oranında bitkiye dönüşüm gerçekleştirmiştir. Sedir'den embriyo elde edilememiştir. Ortalama bu haftada elde edilen embriyodan bitkiye dönüşüm oranı tüm haftalar arasındaki en yüksek orana ulaşmış olup, bu oran %83,33 olarak bulunmuştur.

Embriyodan bitkiye dönüşüm oranları bitki yaşı açısından tüm çeşitlerde ayrı ayrı incelendiğinde, Ufuk çeşidinin en yüksek embriyodan bitkiyi dönüşüm oranını 7. haftada elde ettiğini görmekteyiz. Bu çeşitte genel olarak yorum yapılacak olursa ilk haftalarda bitkiye dönüşüm oranlarının yüksek olduğu sonucu çıkmamakta, dolayısı ile donör bitki yaşına bağlı bir gelişme görülmemektedir. Tüm sezonlara ayrı ayrı bakıldığında da donör bitki yaşının artmasına bağlı olarak bir embriyodan bitkiye dönüşüm oranının azaldığı sonucuna ulaşılmamaktadır.

Meriç çeşidinde en yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm 15. haftada %100,00 oranında gerçekleşmektedir. Şekil 4.40'a göre ilk üç haftada yüksek seyreden embriyo rejenerasyonu 9. haftaya kadar düşmüş ve 9., 10. haftalarda tekrar yükselmiştir. Dönemsel açıdan bakıldığında da bu çeşitte net bir bitki yaşına bağlı embriyodan bitkiye dönüşüm başarısı bulunamamıştır. Bu çeşidinde genel olarak embriyodan bitkiye dönüşümü Ufuk'ta olduğu gibi donör bitki yaşına bağlı bir etmen değildir.

Sedir çeşidinde ise en yüksek rejenerasyon oranı 12. haftada belirlenmiş olup, ilk haftalarda, bir artan, bir azalan bir oran değişimi gözlenmiştir. Sezonlar açısından da bakıldığında bu çeşidin bitki dönüşüm oranının donör bitki yaşına bağlı bir faktör olmadığı görülmektedir. Dolayısı ile bu çeşitte de genel olarak çıkarılan sonuç donör bitki yaşının embriyodan bitkiye dönüşüm oranına bir etkisi olmadığıdır.

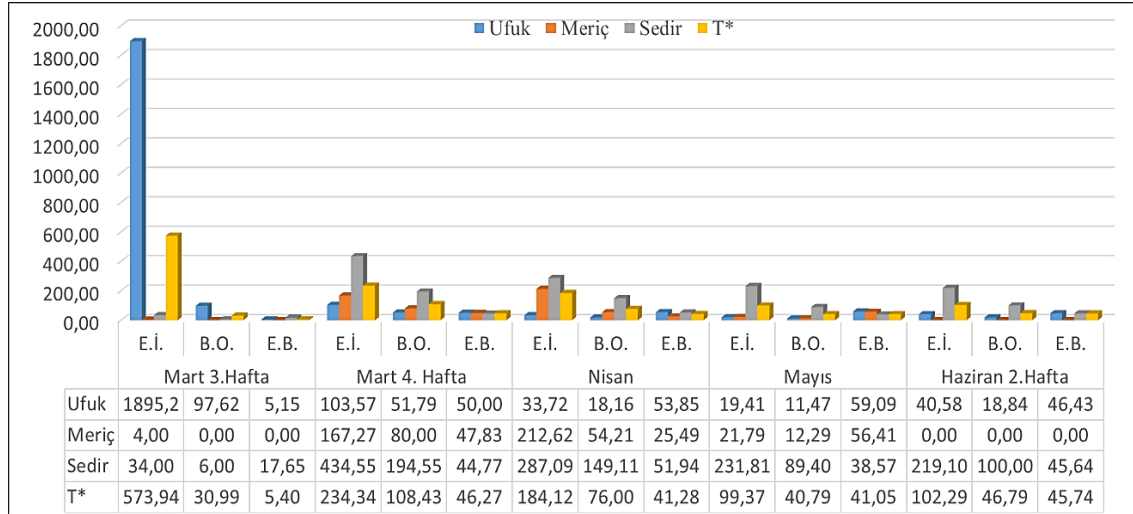
Toplam elde edilen embriyo sayılarına göre haftalık dönüşüm oranları incelendiğinde de en yüksek dönüşüm 15. haftada elde edilmiştir. Genel olarak tüm sezon incelendiğinde haftalar arasında sabit oranlarda artış veya azalış görülmemiş ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranı açısından donör bitkinin yaşının etkili olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Donör bitkinin embriyodan bitkiye dönüşüm oranları açısından etkisini gösteren gynogenesis çalışmaları dışında da bir çalışma bulunamamıştır. Elde edilen bu sonuç rejenerasyon açısından yapılan ilk değerlendirme olarak görülmektedir. Yürütülen çalışmalarda rejenerasyon oranının daha çok besi ortamı kültür içeriği, kültür koşulları, embriyo yaşı gibi faktörlerle ilişkili olduğu elde edilen bu sonuca ve literatürde bulunan çalışmalara göre söylenebilir. Haliloglu ve Baenziger (2003), buğdayda yürüttükleri anter kültür çalışmasında embriyo rejenerasyon seviyesi ve albino bitki seviyesini embriyo yaşına bağlamışlardır. Embriyo yaşının artması ile yeşil bitki oranının azaldığı bildirilmektedir. Hıyarda gynogenesis tekniği ile embriyo oluşum ortamı içerisine eklenen TDZ ve embriyo rejenerasyon ortamına eklenen NAA ve BAP bitki büyüme düzenleyicilerinin bitki rejenerasyonuna olumlu etki yaptığı (Gemés-Juhász vd. 2002; Li 2012) bildirilmektedir.

4.7. Donör Bitki Yetiştirilme Mevsiminin Hıyarda Ovaryum Kültürü Yöntemi ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Etkisi ve Bulguların Tartışılması

Çalışmamızda bahar sezonunda iki sene boyunca deneme yapılmış olup, aylık embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyo rejenerasyon oranları mevsim etkisini belirleyebilmek adına bu başlık altında incelenmiştir.

4.7.1. 2019-2020 Bahar sezonu aylık embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm bulguları

Mart ayı bulguları, bahar sezonu denemelerine her iki yılda da farklı tarihlerde başlanması sebebiyle iki ayrı haftada değerlendirilmiştir. 2020 Bahar sezonu mart ayının 3. haftasından itibaren değerlendirilmiş olup, 2019 Bahar sezonu ise mart ayının 4. haftasından itibaren incelemeye tabi tutulmuştur. Her iki sezonda da denemeler haziran ortasına kadar devam etmiştir (Şekil 4.41).



Not: E.İ.: Embriyo oluşum oranı (%), B.O.: Bitki Oluşum Oranı (%), E.B.: Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Oranı (%), T*: Kültüre alınan toplam ovaryum sayısına göre değerlendirme

Şekil 4.41. Bahar sezonu embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)

Mart ayının 3 haftası en yüksek embriyo oluşumu %1895,24 oran ile Ufuk çeşidinde gerçekleşirken, Meriç ve Sedir çeşitlerinde sırasıyla bu oran %4,00 ve %34,00'dır. Ufuk çeşidinde diğer çeşitlere göre oldukça yüksek bir oran embriyo elde edilmiştir. Bu değerin yüksek olmasını etkileyen bir etmende tek haftalık değerlendirme yapılmış olmasıdır. Ufuk çeşidinde bitki oluşum oranı %97,62 ve embriyo rejenerasyon oranı %5,15 olarak bulunmuştur. Bu haftada embriyo rejenerasyon açısından %17,65'lik oran ile Sedir çeşidi birinci olmuştur. Meriç çeşidinden bitki elde edilememiştir.

Mart'ın 4. haftasından itibaren her iki yılın bahar sezonu verileri birlikte hesaplanmıştır. Embriyo oluşum oranı bakımından bu dönemde %434,55 oran ile Sedir çeşidi birinci olurken, %167,27 oran ile Meriç çeşidi en yüksek ikinci embriyoyu oluşturmuştur. Ufuk çeşidinde ise bu oran %103,57 olarak hesaplanmıştır. Bitki eldesi bakımından çeşitler aynı doğrultuda bitki oluşum oranına sahip olmuş ve Sedir çeşidinde %194,55 oranında bitki oluşmuştur. Meriç ve Ufuk çeşitlerinde ise %80,00 ve %51,79 oranları elde edilmiştir. Embriyo rejenerasyonu açısından değerlendirildiğinde ise Ufuk çeşidinin diğer çeşitlere göre daha iyi yanıt verdiği sonucuna varılmıştır.

Nisan ayı verilerine göre en yüksek oranda embriyo (%287,09) Sedir çeşidinde görülmüştür. Meriç'te ise %212,62 oranında embriyo gelişmiştir. Bitki oluşum oranları açısından inceleme yapıldığında ise bu ayda yine en yüksek oran %149,11 ile Sedir'de elde edilirken, %18,16 oran ile en az bitki oluşumu Ufuk çeşidinde gerçekleşmiştir. Embriyo rejenerasyonu bakımından bir önceki dönemde olduğu gibi en yüksek orana ulaşan çeşit %53,85 oran ile Ufuk çeşidi olurken %25,49 oran ile Meriç çeşidi sonuncu olmuştur.

Bahar sezonu mayıs verilerine bakıldığında Sedir çeşidinde %131,81 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiş ve bu çeşit diğer çeşitlere göre yüksek bir fark yaratmıştır. Meriç ve Ufuk çeşitlerinde yakın oranlarda embriyo oluşumu tespit edilmiştir. Bitki eldesi

bakımından Sedir çeşidi birinci sıraya yerleşmiştir. Ancak embriyo rejenerasyon oranı bakımından bu ayda da en yüksek oranda embriyodan bitkiye dönüşüm Ufuk çeşidinde (%59,09) görülmüştür.

2019 yılı haziran ayı denemelerinde Meriç çeşidinden ovaryum kültüre alınamamış olup embriyo hesabı bu çeşitte 2020 yılına göre yapılmıştır. Buna göre Meriç çeşidinde hiç embriyo ve bitki bulgusuna bu ayda rastlanmamıştır. Ayrıca bu ayda embriyo oluşumu bakımından birinci olan çeşit yine Sedir (%219,10) olurken, ikinci çeşit %40,58 oran ile Ufuk olmuştur. Haziran ayında Sedir çeşidinden %100,00 oranında bitki elde edilmiştir. Ufuk çeşidinden ise oldukça sınırlı bir oranda (%18,84) bitki eldesi gerçekleşmiştir. Yine bu ayda bir önceki ayda olduğu gibi embriyo rejenerasyon oranı en yüksek olan çeşit Ufuk olarak belirlenmiştir.

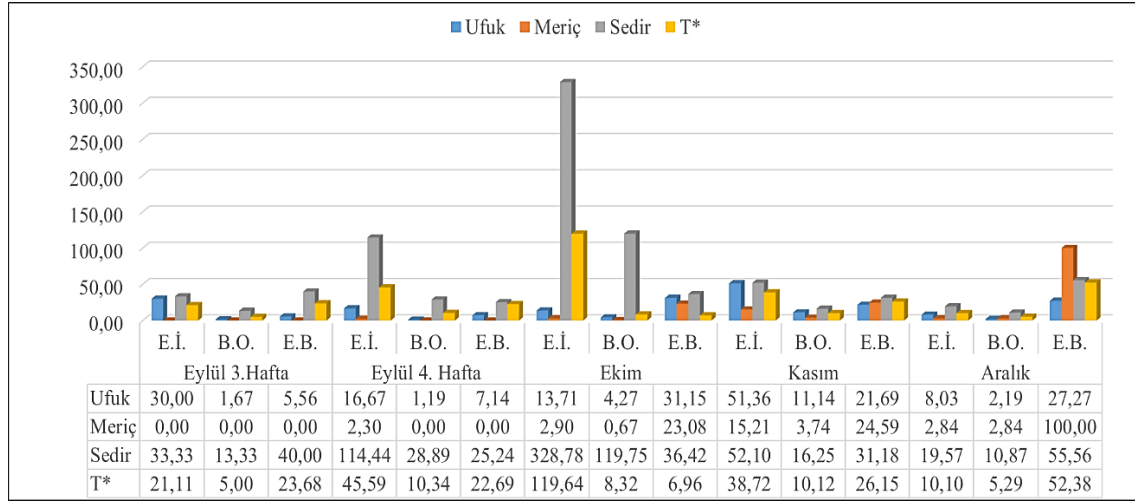
Mart ayının son haftasından itibaren haziran ayı ortasına kadar en yüksek embriyo oluşumu ve bitki oluşumu Sedir çeşidinde gerçekleşmiştir. Bu çeşit için embriyo oluşumu bakımından bahar sezonunda en yüksek yanıt alınan ay mart sonu olarak belirlenmiştir. Bitki eldesi bakımından da aynı şeyi söylemek mümkündür. Embriyo rejenerasyonu açısından değerlendirdiğimizde ise nisan ayında en iyi orana ulaşıldığı görülmüştür.

Meriç çeşidinde ise embriyo oluşum oranı en yüksek nisan ayında görülmüş olup, en yüksek bitki oluşum oranı mart ayının son haftasında tespit edilmiştir. Embriyo rejenerasyonu açısından değerlendirildiğinde ise bu çeşit en yüksek embriyo rejenerasyonunu mayıs ayında gerçekleştirmiştir.

Ufuk çeşidinde ise tek embriyo oluşum oranı mart ayının 3. haftasında kurulan denemede görülmüştür. Genel anlamda bakıldığında bu çeşit mart ayında iyi bir embriyo oluşum oranı yakalamıştır. Ancak bu oran nisan ve mayıs aylarında düşüş yaşarken, haziran ayında tekrar yükselişe geçmiştir. Bitki oluşumu açısından değerlendirildiğinde ise en yüksek bitki oluşumu bu çeşitte mart ayının 3. haftasında gerçekleşmiştir mart ayından sonra bitki eldesi oranları düşüşe geçmiştir. Bunun yanı sıra en yüksek embriyo rejenerasyonu da mayıs ayında gerçekleşmiştir.

4.7.2. 2019-2020 Güz sezonu aylık embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm bulguları

2019-2020 Güz sezonu birlikte hesaplanarak, sonuçları aylık olarak değerlendirilmiştir. 2019 Güz sezonu eylül ayının son haftasında başlayıp, kasım ayının son haftasında sonlandırılmıştır. Bu sezonda toplamda 10 adet deneme kurulmuştur. 2020 Güz sezonunda ise denemeler eylül ayının 3. haftasında başlamış olup, aralık ayının son haftasında sonlandırılmıştır. Dolayısıyla bu sezonda toplamda 15 adet deneme kurulmuştur. Embriyo oluşumu, bitki oluşumu ve embriyo rejenerasyon oranları bakımından aylık güz sezonu denemeleri burada incelenmiştir.



Not: E.İ.: Embriyo oluşum oranı (%), B.O.: Bitki Oluşum Oranı (%), E.B.: Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Oranı (%)
T*: Kültüre alınan toplam ovaryum sayısına göre değerlendirme

Şekil 4.42. Güz sezonu embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyo rejenerasyon oranları (%)

2020 Güz sezonu eylül ayı 3. hafta denemelerine göre en yüksek embriyo oluşum oranı %33,33 ile Sedir çeşidinde gerçekleşirken, bu oran Ufuk çeşidinde %30,00 olarak hesaplanmıştır. Meriç çeşidinden ise hiç embriyo oluşmamıştır. Bitki oluşum oranları açısından değerlendirildiğinde Sedir çeşidinde %13,33 oranında bitki oluşmuştur. Bu haftada en yüksek embriyo rejenerasyon oranı %40,00 ile Sedirde tespit edilmiştir. Bu oran Ufuk'ta ise %5,56'dır (Şekil 4.42).

Eylül ayının 4. haftasında en yüksek embriyo oluşumu %114,44 olarak hesaplanmış olup ve bu oranın Sedir çeşidinden elde edildiği görülmüştür. Ufuk çeşidinde ise embriyo oluşum oranı %16,67 olarak belirlenirken, Meriç çeşidinde embriyo eldesi bakımından %2,30 oranına ulaşılmıştır. En yüksek bitki oluşum oranı ise bu sezonda %28,89 oran ile Sedir çeşidinde görülmüştür. Meriç çeşidinde bitki elde edilememiş olup, Ufuk çeşidinde %1,19 oranında bitki gelişmiştir. Embriyo rejenerasyonu açısından da yine Sedir çeşidi diğer çeşitlerin önüne geçmiştir.

Ekim ayı verilerine göre embriyo oluşumu bakımından en iyi tepki veren çeşit %328,78 oran ile Sedir olarak belirlenirken, %13,71 oran ile Ufuk ikinci en yüksek orana ulaşan çeşit olarak tespit edilmiştir. Meriç'ten ise elde edilen embriyo oranı %2,90 olarak bulunmuştur. Bu ayda diğer aylara göre Sedir'de en yüksek oranda embriyo elde edilmiştir. Bitki oluşumu açısından değerlendirildiğinde yine %119,75 oran ile Sedir çeşidi ön plana çıkmaktadır. Meriç çeşidinde de bu ayda az bir oranda da olsa bitkiye dönüşme görülmüştür. Embriyo rejenerasyon oranı açısından değerlendirildiğinde ise Sedir %36,42 oran ile birinci olurken, Ufuk %31,15 oran ile ikinci olmuştur. Meriç çeşidin de ise embriyo rejenerasyon oranı %23,08 olarak bulunmuştur.

Kasım ayı verilerine göre Sedir çeşidinden %52,10 oranında embriyo oluşurken, Ufuk çeşidinden %51,36 oranında embriyo elde edilmiştir. Meriç çeşidinde ise bu oran %15,21 olarak hesaplanmıştır. Bitki oluşum oranları Ufuk, Meriç ve Sedir çeşitlerinde bu ayda sırasıyla %11,14, %3,74 ve %16,25 oranlarında bulunmuştur. Embriyo rejenerasyonu açısından incelendiğinde ise en yüksek oran %31,18 ile Sedir çeşidinde

tespit edilmiştir. Meriç çeşidi bu ayda embriyo rejenerasyon oranı bakımından ikinci olan çeşit olarak belirlenmiştir.

Aralık ayı denemeleri ise sadece 2020 Güz sezonunda gerçekleştirilmiş olup, aralık ayı değerlendirmeleri sadece bu sezona göre yapılmıştır. Bu ayda da diğer tüm aylarda olduğu gibi embriyo oluşumu bakımından %19,57 oran ile Sedir birinci orana ulaşan çeşit olmuştur. Ufukta bu oran %8,03 olarak belirlenirken, Meriç çeşidinde %2,84'tür. Bitki oluşum oranı açısından değerlendirme yapıldığında Sedir'den %10,87, Ufuk'tan %2,19 ve Meriç'ten 2,84 oranında bitki elde edilmiştir. En yüksek embriyo rejenerasyonu ise bu ayda %100,00 oranında Meriç'te gerçekleşirken, ikinci çeşit %55,56 ile Sedir olarak bulunmuştur.

Çeşitler bazında incelendiğinde Sedir çeşidi en yüksek embriyo oluşum oranına ekim ayında ulaşırken, bu çeşidin ikinci en yüksek orana ulaştığı dönem eylülün son haftası olarak belirlenmiştir. Bunun aksine en düşük embriyo oluşum oranına sahip olduğu ayın ise aralık ayı olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çeşit en yüksek bitki oranına yine ekim ayında ulaşmıştır. Ayrıca en düşük bitki oluşum oranı aralık ayında tespit edilmiştir. Embriyo rejenerasyon oranı açısından değerlendirildiğinde bu çeşidin en iyi olduğu ay aralıktır.

Ufuk çeşidi en yüksek embriyo oluşum oranına kasım ayında ulaşmıştır. Bunun aksine en düşük embriyo eldesini aralık ayında gerçekleştirmiştir. En yüksek bitki eldesi ise kasım ayında görülürken, bu çeşit en yüksek embriyo rejenerasyon oranına ekim ayında ulaşmıştır. Bitki oluşum oranı açısından bu çeşidin en az yanıt verdiği ay eylül ayı olarak belirlenmiştir.

Meriç çeşidinde ise en yüksek embriyo eldesine kasım ayında ulaşılmış olup, bu çeşitte eylül, ekim ve aralık aylarında oldukça sınırlı bir oranda embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. En yüksek bitki oluşum oranı, embriyo eldesinde olduğu gibi yine kasım ayında saptanmış olup, en yüksek embriyo rejenerasyon oranı aralık ayında gerçekleşmiştir.

4.7.3. Bahar sezonu ve güz sezonun genel embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm bulguları ve tartışılması

Güz ve bahar sezonlarında toplam kültüre alınan ovaryum sayıları, elde edilen embriyo sayıları ve bitki sayıları belirlenmiş olup, bu sayılara göre embriyo oluşum oranları, bitki oluşum oranları ve bitki oluşum oranları Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Ufuk çeşidinden güz sezonunda toplamda 1094 adet ovaryum kültüre alınmış olup, embriyo oluşum oranı %26,78, bitki oluşum oranı %5,94 olarak hesaplanmıştır. Bu sezonda elde edilen 293 embriyoya göre bitkiye dönüşüm oranı %22,18 olarak belirlenmiştir. Bahar sezonunda ise bu çeşitten 854 adet ovaryum kültüre alınmış olup, %124,71 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Bunun yanı sıra bitkiye dönüşüm oranı %21,66 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen 1065 adet embriyoya göre embriyo rejenerasyon oranı %17,37 olarak saptanmıştır (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Güz ve bahar mevsimi embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm bulguları

	Güz						Bahar					
	O.S. (Adet)	E.S. (Adet)	B.S. (Adet)	E.İ. (%)	B.O. (%)	E.B. (%)	O.S. (Adet)	E.S. (Adet)	B.S. (Adet)	E.İ. (%)	B.O. (%)	E.B. (%)
<i>Ufuk</i>	1094	293	65	26,78	5,94	22,18	854	1065	185	124,71	21,66	17,37
<i>Meriç</i>	1138	80	22	7,03	1,93	27,50	927	1031	307	111,22	33,12	29,78
<i>Sedir</i>	1121	1901	677	169,58	60,39	35,61	1004	2547	1159	253,69	115,44	45,50
<i>T*</i>	3353	2274	764	67,82	22,79	33,60	2785	4643	1651	166,71	59,28	35,56

Not: O.S.: Ovaryum sayısı (Adet), E.S.: Embriyo Sayısı (Adet), B.S.: Bitki Sayısı (Adet), E.İ.: Embriyo oluşum oranı (%), B.O.: Bitki Oluşum Oranı (%), E.B.: Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Oranı (%), T*: Tüm çeşitlerde bazında toplam ve ortalama değerler

Meriç çeşidinde 1138 adet ovaryum güz sezonu denemelerinde kültüre alınmış olup, bu ovaryumlardan %7,03 oranında embriyo elde edilmiştir. Bitki eldesi oranı ise %1,93 olarak hesaplanmıştır. Güz döneminde bu çeşitten elde edilen embriyo rejenerasyon oranı %27,50'dir. Bahar sezonu değerlendirildiğinde ise kültüre alınan ovaryum sayısı 927 adettir. Gelişen embriyo oranı %111,22 olarak bulunurken, elde edilen bitki oranı %33,12 olarak bulunmuştur. Elde edilen 1031 embriyodan %29,78'i bitkiye dönüşmüştür.

Sedir çeşitten güz döneminde 1121 adet ovaryum kültüre alınmış olup bu ovaryumlardan %169,58 oranında embriyo gelişmiştir. Ovaryum sayısına göre bu mevsimde elde edilen bitki oranı ise %60,39 olarak kaydedilmiştir. Elde edilen 1901 adet embriyodan %35,61 oranında bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir. Bahar sezonu verileri incelendiğinde ise kültüre alınan ovaryum sayısı 1004 adettir. Embriyo oluşum ve bitki oluşum oranları sırasıyla bu sezonda %253,69 ve %115,44 olarak bulunmuştur. Elde edilen 2547 embriyodan %45,50 oranında embriyo rejenere olmuştur.

Güz mevsiminde tüm çeşitlerden 3353 adet ovaryum kültüre alınmış olup, ortalama embriyo oluşum oranı %67,82 olarak bulunmuştur. Ovaryum sayısına göre elde edilen bitki oranı ise %22,79 olarak hesaplanmıştır. Bu mevsimde 2274 adet embriyo elde edilirken, bu embriyolardan %33,60 oranında embriyodan bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir.

Bahar mevsiminde ise tüm çeşitlerden 2785 adet ovaryum kültüre alınmış olup, ortalama %166,71 oranında embriyo oluşumu, %59,28 oranında bitki oluşumu gerçekleşmiştir. Bunun yanı sıra bu sezonda 4643 adet embriyodan %35,56 oranında embriyodan bitkiye dönüşüm kaydedilmiştir.

Geleneksel tarımsal üretime kıyasla bitki hücre ve dokularının yılın herhangi bir döneminin de (mevsim) alınabilmesi *in vitro* kültürün en büyük avantajlarından biri olduğu savunulur (Ilyushko ve Romashova 2019). Mevsime bağlı faktörlerin haploid üretimde sınırlayıcı bir faktör olduğu konusunun göz ardı edilmesi özellikle gynogenesis

çalışmalarında sınırlı sayıda çalışma yapılmış olması “Yıl boyu üretim yapılabilir.” anlayışından kaynaklı olabilir. Ancak özellikle haploid bitki çalışmalarında bu konu üzerine durulmalıdır. Böylelikle uygun zamanda alınan eksplantlardan daha yüksek oranda embriyo ve bitki elde edilebilir ve hem ekonomik anlamda hem de zaman anlamında kazanç sağlanabilir. Hıyar gynogenesis üzerinde daha önceki çalışmalarda bu yoğunlukta bir kıyaslama yapılmamıştır. Elde ettiğimiz bulgulara göre bahar mevsiminde hem embriyo hem de bitki eldesi oranları açısından daha yüksek sonuçlara ulaşılmıştır. Mevsimin hıyarda ovaryum kültürü ile haploid embriyo ve bitki elde etmeye yüksek bir oranda etkisi görülmüştür. Bir çalışmada donör bitkilerin büyüme koşullarının eksplant olarak kullanılan anterlerin endojen hormon seviyelerini ayarlama bir faktör olduğu, kültüre alınan dokuların besi ortamlarındaki hormon seviyelerinin içsel hormona göre ayarlanabileceği savunulmaktadır (Dunwell 1976). Buradan yola çıkarak uygun mevsimde yetişen bitkilerin hıyar gynogenesis çalışmalarında eksplant olarak kullanılan ovaryumların fitohormon düzeylerini artıracak da savunulabilir. Oksin hormonunun özellikle embriyo oluşumunu yüksek oranda belirleyici olduğu düşünülmektedir. Mevsim farklılıkları olmasına rağmen sabit oranlarda sentetik bitki büyüme düzenleyicileri ilave edilen besi ortamında farklı başarı oranlarının içsel hormon aktivitesine göre şekillendiği görüşü savunulabilir.

Farklı bir çalışmada ise mevsimin önemli olduğu vurgusu şu sözlerle de ifade edilmektedir ‘Düşük kuraklık stresi mevsiminde yetiştirilen donör bitkilerin, şiddetli kuraklık stresinde yetişenlere kıyasla, daha yüksek oranda kallus oluşturduğu saptanmıştır’ (Lu vd. 1991). Çeşidin isteği dışında bir mevsim yaşanması stres mekanizmasını tetikleyerek olumsuz sonuçlar doğurabilir. Bizim çalışmamızda da genel anlamda stres faktörlerinin embriyo ve bitki gelişimini olumsuz yönde etkilediği aşıkardır.

Elde ettiğimiz verileri destekler nitelikte sonuçlar elde eden Ilyushko ve Romashova (2019), bahar aylarında kallus, embriyo ve bitki oluşumunun yüksek olmasının, bitki tohumlarının çimlenme ve bitkilerin vejetatif üreme kabiliyetlerinin bu mevsimde yüksek olması ile ilişkili olabileceğini savunmaktadır. Ayrıca pirinçte yeşil kallus oluşumunun en yoğun olduğu dönemin mayıs ve haziran aylarında (%15,5-28,3) meydana geldiği bildirilmektedir.

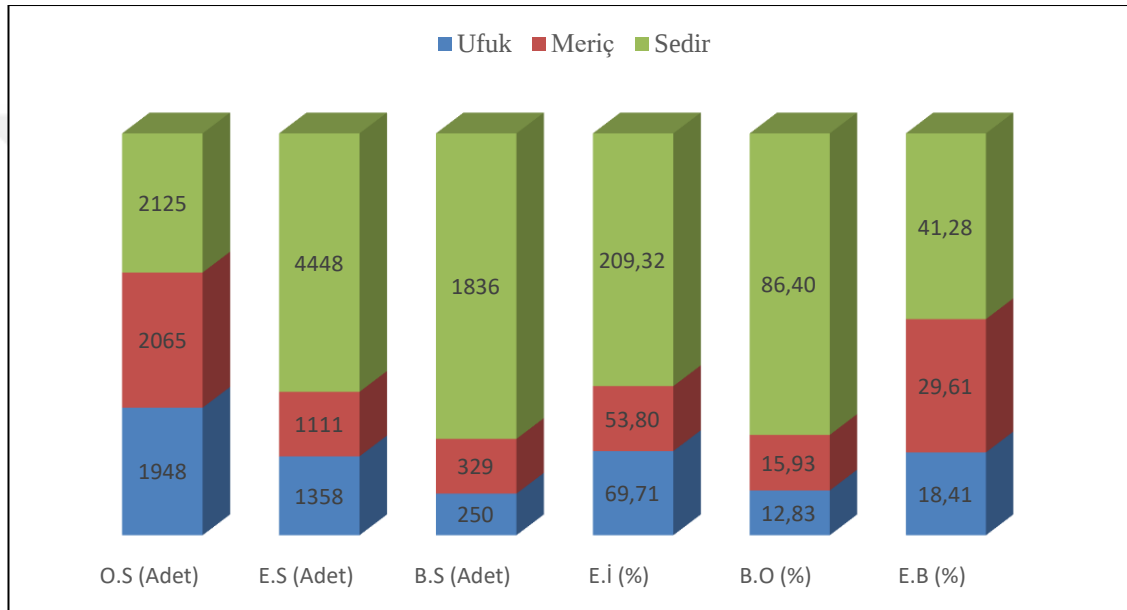
Doctrinal vd. 1989 mart sonu – nisan, mayıs, haziran, temmuz aylarında sezonun etkisini incelemek amacı ile şeker pancarı üzerinde gynogenesis çalışması yürütmüştür. Araştırmacılar gelişim aylarının önemine vurgu yaparken, bitkinin fizyolojik aktivitesinin önemli olduğunu vurgulamışlardır. Bitki üzerinde çiçeğin en fazla bulunduğu dönemin, embriyo oluşum oranında da başarılı sonuç doğurduğunu savunmaktadırlar. Tiainen (1992)’de patatese eylül-ekim aylarında %15-20 olan embriyo oluşum başarısının, şubat-mayıs aylarında ise %1-3 arasında olduğunu söylemektedir.

Bing vd. (2006) donör bitkinin yetiştirilme tarihinin gynogenesis uygulamalarını etkileyen önemli faktörlerden olduğunu savunmaktadır. Şensoy (2011) biberde anter kültürü üzerine yürüttüğü çalışmada, mevsime uygun çeşitlerle çalışmanın doğru olduğunu, bitki yaşının artmasının androgenesis yöntemi ile haploid embriyo ve bitki elde etmede olumsuz bir etki yarattığını söylemektedir.

4.8. Tüm Sezonlara Göre Donör Bitki Genotipinin Hıyarda Ovaryum Kültürü Üzerine Etkisi

Tüm sezonlar boyunca çalışmada çeşitlere göre kültüre alınan ovaryum sayıları, elde edilen embriyo sayıları, bitki sayıları belirlenmiş ve bu faktörlere göre embriyo oluşum oranları, bitki oluşum oranları ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları yüzdesel olarak hesaplanmış ve Şekil 4.43'te verilmiştir.

Şekil 4.43'e göre çalışmada kültüre alınan ovaryum sayılarına göre en yüksek sayıda ovaryum Sedir'den alınmıştır. Bunu sırası ile Meriç ve Ufuk takip etmektedir. En yüksek embriyo 4448 adet ile Sedir'den, en düşük embriyo 1111 adet ile Meriç'ten elde edilmiştir. Ufuk'tan ise toplamda 1358 adet embriyo gelişmiştir.



Not: O.S.: Ovaryum sayısı (Adet), E.S.: Embriyo Sayısı (Adet), B.S.: Bitki Sayısı (Adet), E.İ.: Embriyo oluşum oranı (%), B.O.: Bitki Oluşum Oranı (%), E.B.: Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Oranı (%), T*: Tüm çeşitlerde bazında toplam ve ortalama değerler

Şekil 4.43. Tüm çalışma boyunca genotipe göre elde edilen embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)

En yüksek bitki oluşumu ise Sedir'de 1836 adet, Meriç'te 329 adet, 250 adet bitki oluşmuş olup, embriyoların bitkiye dönüşüm oranları bu çeşitlerde sırasıyla %41,28, %29,61 ve %18,41 bulunmuştur. Bu konuda da en yüksek oran Sedir çeşidinde belirlenmiştir.

Sedir çeşidi embriyo indüksiyon oranı bakımından da diğer çeşitlerin önüne geçerek %209,32 oranında embriyo oluşturmuştur. İkinci olan çeşit ise %69,71 oran ile Ufuk olurken, sonuncu çeşit %53,80 oran ile Meriç olarak belirlenmiştir.

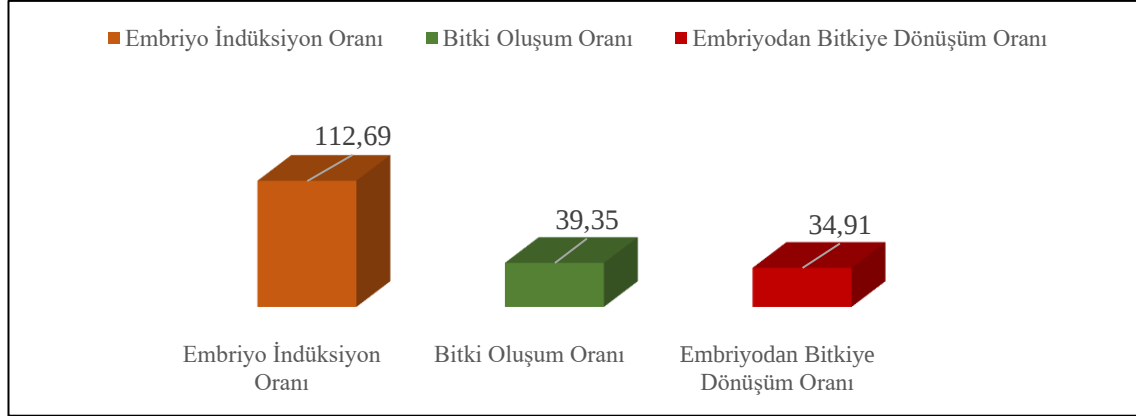
Bitki oluşum oranları kültüre alınan ovaryum sayısına göre değerlendirildiğinde ise %86,40 oran ile Sedir çeşidi en iyi yanıt alınan çeşit olarak belirlenmiş, %15,93 oran

ile Meriç ikinci en yüksek bitki eldesi oranına ulaşmıştır. Ufuk çeşidinde ise bu oran %12,83 olarak hesaplanmıştır.

Çalışmada tüm değerlendirme kriterleri bakımından en iyi sonuç alınan çeşit Sedir olurken, Meriç embriyo oluşumu bakımından üçüncü, bitki oluşum oranı ve embriyoların bitkiye dönüşüm oranı bakımından ikinci en yüksek orana ulaşan çeşit olarak belirlenmiştir. Ufuk çeşidi ise embriyo oluşum oranı bakımından ikinci, bitki oluşum ve embriyoların bitkiye dönüşüm oranı bakımından üçüncü olmuştur. Çeşidin embriyo oluşumunda ve bitki elde oranlarında etkili olduğu net olarak görülmektedir. Bundan önce yapılan çalışmalarda da bu konu üzerine oldukça değinilmiştir. Çeşidin birçok çalışmada etkili olduğu özellikle belirtilmektedir. Hıyar gynogenesis çalışması yürüten Wei vd. (2010) bu görüşü destekleyen bir sonuca ulaşırken, Çetinkaya (2015)'da çalışmada kullandığı üç farklı genotipteki hıyarlarda embriyo ve bitki elde oranlarının değişiklik gösterdiğini bildirmektedir. Kabakta yapılan bir çalışmada da kültüre alına üç farklı genotipten en başarılı genotipin Rosina F₁ olduğu, bu hibrit çeşitte en yüksek oranda bitki alındığı bildirilmektedir (Badawi vd. 2008). Elde ettiğimiz bulgulara göre hem mevsim bazında hem bitki yaşı anlamında hem de donör bitkinin yetiştirme sıcaklığına verdiği tepki anlamında embriyo ve bitki oluşumunu en belirleyen faktörün genotip olduğu net bir şekilde söylenebilir. Özellikle Sedir genotipinin genel anlamda diğer genotiplere göre yüksek oranda bitki verme kabiliyeti bu sonucu doğrular niteliktedir. Badawi vd. (2008)'nin de kabak ovaryum kültürü çalışması üzerine elde ettikleri bulgularda özellikle en belirleyici faktörün genotip olduğu ibaresi üzerine durulmaktadır.

Shalaby (2007), gynogenesis çalışmasında materyal olarak kullanılan 12 kabak genotipinden, embriyo oluşumu ve bitki oluşumu açısından en iyi yanıtın Raad F₁ çeşidinden alındığını bildirmektedir. Farklı bir çalışmada da karpuzda genotipler arasında embriyo oluşturma oranının %0 ile %15,14 arasında gerçekleştiği söylenmektedir (Zou vd. 2018). Ayrıca hıyarda haploid embriyo oluşumu için hormon etki oranlarının da genotipler bazında değişebildiği, tüm genotipler için sabit bir besin ortamı kombinasyonunun elde edilmesinin zor olduğu bir çalışmada bildirilmektedir (Plapung vd. 2014b). Tüm bu bildirilerin aksine Sorntip vd. (2017) yayınladıkları hıyarda ovaryum kültürü çalışmasında da genotipin embriyo oluşumunda çok etkili bir faktör olmadığı görüşünü savunmaktadır. Benzer şekilde, Diao vd. (2009) de altı Çin salatalık çeşidinde embriyo oluşum frekanslarının değişken olmadığını bildirmiştir. Bilim insanlarının böyle bir sonuca ulaşması çalışmada kullandıkları genotiplerin akrabalık derecelerinin yakınlığı ile de ilişkili olabilir.

Çalışma bütünü ile ele alındığında ise tüm çeşitlerden %112,69 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiş olup, bitki oluşum oranı %39,35 olarak kaydedilmiştir. Elde edilen embriyolara göre embriyoların bitkiye dönüşme oranları ise %34,91'dir (Şekil 4.44).



Şekil 4.44. Tüm çalışma boyunca çeşitlere göre elde edilen embriyo oluşum, bitki oluşum ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları (%)

4.9. Donör Bitki Üzerinde Gelişen Ovaryumların Sera içi Sıcaklığının Hiyarda Gynogenesis Yolu ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi Üzerine Etkisi

Kültüre alınan ovaryumların sera içi bir haftalık sıcaklıkları göz önüne alındığında çeşitlere göre farklı sezonlarda farklı yanıtlar alındığı görülmüştür. Güz sezonları ve bahar sezonları kendi içerisinde karşılaştırıldığında yaklaşık aynı tarihlere gelen dönemlerde bile farklı sonuçlara ulaşıldığı görülmüştür. Sera içinde ısıtmanın yapılması, bitkilerin etrafındaki diğer bitkilerin sökülmesi 2019 Güz döneminde kasım ayının son iki haftasında yüksek sıcaklıklara neden olmuştur. Bu haftalarda ölçülen sıcaklık değerleri maksimum derecelerde 48,07 °C ve 54,85 °C olarak ölçülmüştür. Tüm sezonlar arasında ise belirlenen en düşük sıcaklıklar 2020 Güz yılı aralığının son haftasında minimumum değerinde 7,20 °C olarak ölçülmüştür. Bunun yanı sıra son dönemde Ufuk çeşidinin embriyo ve bitki oluşturma yeteneğine minimum ve maksimum sıcaklık değer farkının da etki ettiği görülmüş olup, tüm sezonlarda bunun da incelenmesi gerektiği düşünülmüştür. Mevsimsel açıdan tüm sezonlar ayrı ayrı incelendiğinde ise mevsim sıcaklık ortalamaları değişkenlik göstermiştir.

2019 Bahar sezonunda ölçülen tüm sıcaklık değerleri genel olarak kademeli bir artış göstermiş olup, mayıs ayının son haftasında yaklaşık 4 °C (34,59 °C-38,44 °C) birden artmıştır (Çizelge 4.10). Bu haftadan sonra ise kademeli bir düşüş yaşanmıştır. Bu dönemden sonra Sedir çeşidinde 10. ve 11. haftalarda 9. haftaya göre ciddi bir düşüş saptanmıştır. Bu sıcaklık stresinin yaşanması Ufuk çeşidinde olumlu etki yapmış ve bu çeşidin embriyo oluşum oranlarını artırmıştır. Meriç çeşidinde ise Ufuk çeşidinin aksine 10. haftada embriyo oluşum oranı düşmüş ve 11. ve 12. haftalarda çiçek dökümleri görülmüştür. Bu sezonda Sedir çeşidinin en iyi embriyo verdiği sıcaklık dereceleri 1. ve 5. haftalarda yaşanmış olan yaklaşık 10 °C, 18 °C ve 29 °C koşullarıdır. Meriç çeşidinin de embriyo oluşumunda bu sıcaklık derecelerinde olumlu etkilendiği görülmüştür. Ufuk çeşidinde son haftalarda embriyo oluşum oranının artması ortalama sıcaklık değerinin 25 °C'nin üstüne çıkmasına da bağlanabilir. Ancak bu yorum ilk haftalarda ortalama değerlerin 16 °C-18 °C olduğu dönemlerde bu çeşidin yüksek oranda embriyo oluşturma ile doğrulanamamaktadır. Maksimum ve minimum değerdeki sıcaklık farkı açısından bakılacak olunursa en düşük sıcaklık farkı 2. haftada 16,25 °C olarak tespit edilmiştir. Bu haftada dikkat edilmesi gereken husus sıcaklık farkının azalmasıyla birlikte

tüm çeşitlerde embriyo oluşum oranlarında ciddi bir düşüş olmasıdır. Burada bir önceki haftaya göre yaklaşık 3 °C birden fark azalması görülmüştür. Ufuk çeşidinde 10. haftada görülen artan embriyo oluşum oranının sıcaklık farkının 9. haftaya göre yaklaşık 3 °C artmış olmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Ancak aynı sıcaklık farkının artması diğer çeşitlerde olumlu etki yapmamış, bu çeşitler daha çok maksimum sıcaklığın artmış olmasından olumsuz etkilenmiştir.

Çizelge 4.10. Bahar sezonları ovaryum sera içi sıcaklıkları karşılaştırılması (°C)

Den. No	2019 BAHAR SEZONU Tarihler	2019 (°C)				2020 (°C)				2020 BAHAR SEZONU Tarihler		Den. No
		Min.	Ort.	Mak.	Mak. – Min.	Min.	Ort.	Mak.	Mak. – Min.			
						10,65	16,67	22,69	12,04	20.Mar 13.Mar		1
1	29.Mar 21.Mar	10,43	18,38	29,73	19,3	8,88	15,59	22,31	13,43	27.Mar 20.Mar		2
2	5.Nis 29.Mar	9,78	16,27	26,03	16,25	8,51	15,68	22,84	14,33	3.Nis 27.Mar		3
3	12.Nis 5.Nis	10,85	17,48	28,19	17,33	9,53	16,69	23,86	14,33	10.Nis 3.Nis		4
4	19.Nis 12.Nis	10,81	17,81	28,93	18,12	8,61	17,89	27,18	18,57	17.Nis 10.Nis		5
5	26.Nis 19.Nis	10,2	18,5	29,99	19,79	10,73	19,01	27,3	16,57	24.Nis 17.Nis		6
6	3.May 26.Nis	13,16	21,27	32,26	19,09	10,74	18,47	26,2	15,46	1.May 24.Nis		7
7	10.May 3.May	12,55	20,16	30,45	17,89	12,06	19,92	27,78	15,72	8.May 1.May		8
8	17.May 10.May	14,1	22,65	33,8	19,7	12,68	23,04	33,41	20,73	15.May 8.May		9
9	24.May 17.May	17,19	24,5	34,59	17,4	18,56	28,54	38,51	19,95	22.May 15.May		10
10	31.May 24.May	17,93	26,79	38,44	20,51	11,93	20,99	30,05	18,12	29.May 22.May		11
11	7.Haz 31.May	17,2	25,64	36,13	18,93	11,75	20,74	29,73	17,98	5.Haz 29.May		12
12	14.Haz 7.Haz	18,6	25,85	35,84	17,24	13,64	25,26	36,86	23,22	12.Haz 5.Haz		13
Ortalama Mevsim Sıcaklıkları		13,57	21,27	32,03		11,41	19,88	28,36		Ortalama Mevsim Sıcaklıkları		

Not: Den. No: Deneme numarası, Min. (Minimum sıcaklık değeri), Ort. (Ortalama sıcaklık değeri), Mak. (Maksimum sıcaklık değeri), Mak. – Min. (Maksimum ve Minimum sıcaklık değeri farkı)

Bitki eldesi açısından değerlendirildiğinde ise Ufuk çeşidinde en yüksek bitki eldesi %150,00 oran ile ilk haftada gerçekleşmiştir. Bu haftada embriyo oluşum oranı da iyi olan çeşidin maksimum ve minimum yüksek sıcaklık farkından kaynaklı bitki oluşumu gerçekleştirdiği düşünülebilir. Bunun yanı sıra bu sezonda 3., 4. ve 12. haftalarda da iyi oranlarda bitki elde edilmiştir. Son üç haftada bitki oluşum oranlarının artmış olması da 10. haftada yaşanmış olan yüksek sıcaklık şokuna bağlı olabilir. Ancak bu değerler ile bitki oluşum oranları açısından bu sezonda net bir ilişki görülebilmiştir. Embriyodan bitkiye dönüşüm oranı açısından Ufuk en iyi embriyo dönüşümünü 7. haftada, en iyi ikinci ve üçüncü dönüşüm oranını ilk iki haftada gerçekleştirmiştir. Yedinci ve 2. haftalarda baz alınan sıcaklık değerlerinin bir önceki haftaya göre yaklaşık 2 °C düştüğü tespit edilmiştir. Bu çeşitte 5., 6. ve 9. haftalarda embriyo dönüşümü gerçekleşmemiştir. Bu haftalarda sıcaklık derecelerinin bir önceki haftaya göre düştüğü görülmüştür. Bu iki zıt durum embriyodan bitkiye dönüşüm oranında ovaryum sera içi sıcaklığının etkisi olmadığını göstermektedir.

Meriç çeşidinde ise en yüksek bitki oluşum oranı 1., 2. ve 5. haftalarda gerçekleşmiştir. Birinci ve 2. haftalar arasında maksimum ve minimum sıcaklık farkının ani olarak düşmüş olması bile bu iki hafta arasındaki bitki eldesi oranını çok ciddi bir şekilde etkilememiştir. 1. ve 5. haftalarda yaşanan sıcaklık derecelerinin yaklaşık olarak aynı seyretmesi 5. haftadaki bitki oluşum oranını olumlu etkilemiş olabileceği düşünülmektedir. Ancak genel olarak değerlendirildiğinde bitki oluşum oranlarında

giderek görülen azalma, bitki eldesi oranında da fotoperiyodun daha etkili bir faktör olduğunu göstermektedir. Embriyodan bitkiye dönüşüm açısından da bakıldığında da ovaryum sera içi sıcaklığı ile aralarında bir ilişki görülememiştir.

Sedir çeşidinde en yüksek bitki eldesi embriyoda olduğu gibi ilk haftada görülmüştür. Bitki eldesi oranları genel olarak düşüş göstermiş, ancak sıcaklığın bitki eldesi ile ilişkisi net olarak belirlenememiştir. Bu sezonda bu çeşidin donör bitki yaşına daha çok tepki verdiği düşünülmektedir. Embriyodan bitkiye dönüşüm oranı açısından da değerlendirildiğinde en yüksek bitkiye dönüşüm 11., 2., 10. ve 3. haftalarda gerçekleşmiştir. Bu haftalar arasında sıcaklık anlamında ciddi farklılıklar görülmektedir. Bu da bu haftalar arasında en yüksek embriyo oluşumlarına etkili olan faktörün sıcaklık olduğunu ispatlamamaktadır. Bu sezondan ortalama mevsim sıcaklık değerleri minimum 13,57 °C, ortalama 21,27 °C ve maksimum 32,03 °C olarak bulunmuştur. Bu sezonda sıcaklık değişimlerinden tüm çeşitler genel anlamda etkilenmiştir.

2019 Güz sezonunda 20 Eylül tarihinden itibaren sıcaklık verileri dikkate alınmış ve 29 Kasım tarihinde son denemeler kurulmuştur. Bu sezonun diğer sezonlar arasındaki en yüksek mevsim sıcaklık ortalamalarına sahip olduğu görülmüştür. Maksimum, ortalama ve minimum değerlerde bu sırasıyla 42,53 °C, 26,32 °C ve 21,79 °C olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.11). Bu sezonda en yüksek belirlenen sıcaklık değeri 9. ve 10. haftalarda yaşanan sıcaklık değeridir. Maksimum sıcaklık 48,07 °C ve 54,85 °C'ye yükselmiştir. Son 2 hafta arasındaki maksimum ve minimum sıcaklık farkı sırasıyla 30,37 °C ve 37,73 °C olarak hesaplanmıştır. Eylül ayında ölçülen sıcaklıklarda yüksek seyretmiştir. Bu dönemde ölçülen en düşük maksimum sıcaklık değeri 8. haftada görülen 37,18 °C 'dir. Minimum sıcaklık açısından değerlendirildiğinde en düşük sıcaklık değeri, 9. ve 10. haftalarda yaklaşık 17 °C olarak ölçülen sıcaklık değeridir. En yüksek ortalama sıcaklık değerleri 1. ve 4. haftalarda belirlenmiş olup yaklaşık 28 °C'dir. Ufuk çeşidi en yüksek embriyo oluşum oranını maksimum sıcaklığın yaşandığı son haftada elde ederken, genel anlamda en yüksek embriyo oluşumunu ilk haftalarda göstermiştir. Birinci sezonda bu çeşidin embriyo oluşum oranları bu sezona göre daha yüksek seyretmiştir. İlk sezonda bu çeşidin yüksek sıcaklıklardan hoşlandığı yorumu yapılmıştır. Ancak bu çeşidin genel anlamda mevsim sıcaklığının artmasından değil de daha çok maksimum, minimum sıcaklık farkının atmasından daha olumlu etkilendiği 10. denemede görülmüştür. İki sezon arasındaki en yüksek embriyo oluşum oranı 2019 Güz sezonu 10. denemede belirlenmiştir. Ancak 4.10.2019-11.10.2019 tarihleri arasında belirlenen sıcaklık farkı bu çeşitte embriyo oluşumunu olumlu etkilememiştir. Bu da embriyo oluşumunun sadece ovaryumun sera içi sıcaklığına bağlamanın doğru bir yaklaşım olmadığına işaret etmektedir. Bitki eldesi oranı bakımından incelendiğinde ise yine en yüksek bitki oluşumu son haftada gerçekleşmiştir. Ancak oldukça düşük bir oranda (%18,18) bitki elde edilmiştir. Embriyoda olduğu gibi bu haftada görülen yüksek sıcaklık farkının bitki eldesinin gerçekleştiği diğer haftalara göre daha etkili olduğu ve bu sebeple daha yüksek oranda bitki eldesi gerçekleştiği düşünülmektedir. Embriyoların bitkiye dönüşüm oranları açısından bakıldığında ise en yüksek rejenerasyon oranları Ufuk'ta 2. ve 3. haftalarda elde edilmiştir. Bu iki hafta arasında minimum sıcaklık dereceleri yaklaşık 2 °C oynamıştır, ancak dönüşüm oranlarında çok ciddi bir farklılık (%19,23-%25,00) görülememiştir. Diğer bitki elde edilen haftalarda ise çok sınırlı oranlarda bitki dönüşümü gerçekleşmiştir. Bu sebeple bu sezonda Ufuk çeşidinde embriyonun bitkiye dönüşmesi için ovaryumun sera içi sıcaklığının önemli olduğu sonucuna ulaşamaz.

Çizelge 4.11. Güz sezonları ovaryum sera içi sıcaklıkları karşılaştırılması (°C)

Den. No	2019 GÜZ SEZONU			2019 (°C)				2020 (°C)				2020 GÜZ SEZONU			Den. No
				Min.	Ort.	Mak.	Mak. – Min.	Min.	Ort.	Mak.	Mak. – Min.				
	Tarihler											Tarihler			
								21,64	30,54	42,97	21,34	18.Eyl	11.Eyl	1	
1	27.Eyl	20.Eyl	25,13	28,74	41,67	16,54	20,37	28,67	40,57	20,2	24.Eyl	17.Eyl	2		
2	4.Eki	27.Eyl	25,17	27,56	41,78	16,61	18,88	26,74	38,9	20,02	2.Eki	25.Eyl	3		
3	11.Eki	4.Eki	23,01	26,55	42,95	19,94	16,95	25,63	39,98	23,03	9.Eki	2.Eki	4		
4	18.Eki	11.Eki	25,39	28,05	41,01	15,62	16,43	24,07	36,43	20	15.Eki	8.Eki	5		
5	25.Eki	18.Eki	22,93	26,31	39,54	16,61	15,54	21,44	32,58	17,04	23.Eki	16.Eki	6		
6	1.Kas	25.Eki	20,58	24,78	39	18,43	14,82	22,29	35,28	20,46	30.Eki	23.Eki	7		
7	8.Kas	1.Kas	21,75	25,54	39,27	17,52	12,16	19,37	32,95	20,79	6.Kas	30.Eki	8		
8	15.Kas	8.Kas	19,07	23,53	37,18	18,11	11,52	18,92	32,39	20,87	13.Kas	6.Kas	9		
9	22.Kas	15.Kas	17,7	24,81	48,07	30,37	10,39	16,61	28,38	17,98	20.Kas	13.Kas	10		
10	29.Kas	22.Kas	17,11	27,39	54,85	37,73	8,14	15,6	30,27	22,13	27.Kas	20.Kas	11		
							9,16	14,87	27,95	18,79	4.Ara	27.Kas	12		
							9,61	15,47	28,58	18,97	11.Ara	4.Ara	13		
							9,39	14,32	24,94	15,55	18.Ara	11.Ara	14		
							7,2	13,98	28,13	20,93	25.Ara	18.Ara	15		
Ortalama Mevsim Sıcaklıkları			21,79	26,32	42,53		12,9	19,86	32,67	Ortalama Mevsim Sıcaklıkları					

Not: D. No: Deneme numarası, Min. (Minimum sıcaklık değeri), Ort. (Ortalama sıcaklık değeri), Mak. (Maksimum sıcaklık değeri), Mak. – Min. (Maksimum ve Minimum sıcaklık değeri farkı)

Meriç çeşidi ise en yüksek oranlarına 7. ve 9. haftalarda ulaşmıştır. Bu çeşitte sıcaklık değişiminin net bir etkisi görülmemiştir. Meriç'in bu sezonda genel anlamda embriyo oluşum oranları oldukça sınırlı seviyede kalmıştır. Bu çeşidin daha çok kısa gün koşullarına olumlu tepki verdiği görülmüştür. Aynı durum son denemede en yüksek embriyo oluşum oranına ulaşılması sebebiyle Ufuk çeşidinde de söz konusu olabilir. Meriç' te bitki oluşum oranları incelendiğinde de en yüksek bitki eldesi oranları 7. (%17,50) ve 8. (%17,78) haftalarda görülmüştür. Dokuzuncu haftada maksimum sıcaklık seviyesi bir önceki haftaya göre artmıştır, ancak 7. haftada bir önceki hafta ile aralarında ciddi bir farklılık tespit edilememiştir. Bu sebeple bitki oluşumuna ovaryum sera içi sıcaklığının etkili olduğu sonucuna bu sezonda varılmamıştır. Embriyodan bitkiye dönüşüm oranlarında da aynı durum söz konusudur.

Sedir çeşidi 2019 Güz sezonunda en yüksek embriyo oluşumunu 8 haftada göstermiştir. Bu haftada belirlenen sıcaklık farkı yaklaşık 18 °C'dir. Burada dikkat çeken nokta bu çeşidin birinci sezonda da en yüksek embriyo oluşumunu bu sıcaklık farkı derecesinde göstermiş olmasıdır. Ancak 3. ve 4. haftalarda da 8. haftaya yakın embriyo oluşum oranına ulaşılmıştır. Üçüncü haftada belirlenen sıcaklık farkı 19,94 °C ve 4. haftada belirlenen sıcaklık farkı 15,62 °C'dir. Özellikle 4. haftada sıcaklık farkının düşük olması kafalarda soru işareti yaratmıştır. Burada ovaryum sera içi sıcaklığından ziyade donör bitki yaşının daha etkili bir etmen olduğu düşünülmektedir. Bitki eldesi bakımında incelendiğinde ise 4., 3. ve 9. haftalarda yüksek bitki oluşum oranları belirlenmiştir. Ancak bu haftalar arasında net bir ilişki görülemediği. Sedir çeşidi embriyodan bitkiye dönüşüm oranları açısından değerlendirildiğinde ise en yüksek rejenerasyon 4. (%39,76), 7. (%40,00) ve 9. (%39,13) haftalarda gerçekleşmiştir. Bitki eldesi oranında olduğu gibi

bu konuda da ovaryum sera içi sıcaklığı ile ilgili bir ilişki görülememiştir. Bu sezonda sıcaklık değişimlerinden embriyo oluşumu açısından en çok etkilenen çeşidin Ufuk olduğu belirlenmiş olup, genel anlamda yüksek sıcaklıkların yaşanmasının çeşitlerde olumsuz etki yaratacağı kanısına varılmıştır. Mevsim sıcaklık ortalamasının genel olarak yüksek seyretmesinin embriyo elde ve bitki oluşum oranlarını olumsuz etkileyeceği saptanmıştır.

2020 Bahar sezonunda bir önceki bahar sezonuna göre bir hafta önce denemeler kurulmuş ve toplamda 13 haftalık sıcaklık değerleri belirlenmiştir. Bu sezon mevsim ortalama sıcaklıkları tüm sezonlarda görülen en düşük seviyeleri olarak ölçülmüştür. Ortalama mevsim sıcaklıkları minimum 11,41 °C, ortalama 19,88 °C ve maksimum 28,36 °C olarak ölçülmüştür. Belirlenen en düşük sıcaklık seviyesine (8,51 °C) 3. haftada ulaşılmış olup, maksimum en düşük sıcaklık seviyesi (22,31 °C) 2. haftada görülmüştür. En düşük sıcaklık farkı ilk hafta ölçülen maksimum ve minimum değerler arasında yaşanmış olup, bu değer 12,04 °C'dir. Nisan ayının ikinci haftasında maksimum değerler arasında 3 °C birden yükselme görülmüş olup, bunun tersine bu haftada minimum değer bir önceki haftaya göre 1 °C düşüş yaşamış ve 8,61 °C olarak belirlenmiştir. Bu haftada belirlenen sıcaklık farkı 18,57 °C'ye çıkmıştır. Mayıs ayının ilk haftasında maksimum sıcaklıklar artmaya başlamış 33,41 °C'ye ulaşmıştır. Bu haftada belirlenen ortalama sıcaklık 23,04 °C iken, maksimum-minimum sıcaklık farkı 20,73 °C'dir. Mayıs ayının ikinci haftası ise bu sezonda görülen en yüksek sıcaklık değerine ulaşılmış olup, bir önceki haftaya göre yaklaşık 5 °C birden artış göstermiş ve bu derece 38,51 °C olarak belirlenmiştir. Minimum sıcaklık seviyesi de bu sezonda belirlenen en yüksek seviyeye ulaşmış ve 18,56 °C olarak ölçülmüştür. Ancak maksimum ve minimum sıcaklık farkı bir önceki haftaya göre biraz (19,95 °C) düşmüştür. Son haftada ise belirlenen maksimum sıcaklık değeri tüm sezon boyunca belirlenen ikinci en yüksek seviyeye (36,86 °C) ulaşmıştır. Bu haftada belirlenen sıcaklık farkı ise en yüksek seviyeye ulaşmış ve 23,22 °C olarak hesaplanmıştır.

Ufuk çeşidi tüm sezonlar içerisindeki en yüksek embriyo oranına 2020 Bahar sezonunda ulaşmış olup, bu değer %1895,24 olarak hesaplanmıştır. Bu dönemde ölçülen ortalama sıcaklık değeri 16,67 °C'dir. Maksimum ile minimum sıcaklık farkı da tüm sezonlarda hesaplanan en küçük değerdir. Bundan önceki sezonlarda bu çeşidin yüksek sıcaklıklardan hoşlandığı ve sıcaklık farkının yüksek olmasının olumlu etki yaptığı görülmüştür. Ancak bu sezonda ilk denemede bu kadar az sıcaklık farkı yaşanmasına rağmen, bu çeşidin yüksek oranda embriyo oluşturması düşündürücüdür. Bu haftada daha çok etkili olan faktörün bitki yaşı veya fotoperiyot olabileceği düşünülmektedir. Bu çeşitte belirlenen ikinci en yüksek orana ulaşılan hafta ise 11. hafta olmuştur. Burada uyartımı sağlayan 10. haftada yaşanan ani sıcaklık artışı olabileceği düşünülmektedir. Ufuk çeşidi bitki eldesi açısından bu sezonda değerlendirildiğinde ise en yüksek bitki eldesi 1. (%97,62) ve 11. (%81,48) haftalarda gerçekleşmiştir. 11. haftada bir önceki hafta yaşanan yüksek sıcaklık stresinin bitki eldesini etkilediği düşünülmektedir. Birinci haftada ise donör bitki yaşına bağlı olarak bitki oluşum oranının yüksek elde edildiği savunulabilir. Bununla birlikte bu haftada çok yüksek oranda embriyo elde edilmiştir. Bitki eldesi oranının yüksek olmasını etkileyen diğer bir sebebinde bu olduğu iddia edilebilir. Elde edilen embriyoların bitkiye dönüşüm oranları incelendiğinde ise en yüksek dönüşüm 11. haftada (%73,33) gerçekleşmiştir. 10. haftada yaşanan sıcaklık stresinin bu oranı da etkileyebileceği düşünülmektedir. Ancak diğer %50,00 oranında

dönüşüm saptanan dördüncü haftada bir önceki haftalarla kıyasla bir farklılık görülmemiştir. Bu da embriyonun dönüşüm oranına ovaryum sera içi sıcaklığının etki etmeyebileceği görüşünü doğrulamaktadır.

Meriç çeşidinde ise bu sezon en yüksek embriyo oluşumu 5. ve 7. haftalarda yaşanmıştır. Beşinci haftada minimum sıcaklık değeri yaklaşık olarak 8 °C olarak belirlenirken, maksimum sıcaklık değeri ani bir yükseliş göstermiştir. Bu çeşidin birinci sezonda düşük sıcaklıklardan uyarıldığı bulgusu, üçüncü sezonda da desteklenmiştir. Ancak ilk dört haftada minimum değerlerde düşük sıcaklıklar yaşanmasına rağmen, sıcaklık farkının düşük olması bu çeşidin embriyo oluşumunu olumsuz etkilemiştir. Yedinci haftada ise tüm sezonlarda elde edilen en yüksek embriyo sayısına ulaşılmış ve bu haftada yaşanan sıcaklık dereceleri bir önceki haftaya göre az bir seviyede artış göstermiştir. Sıcaklık değerlerinin genel olarak artması bu çeşitte bu çaplı bir embriyo oluşumunu artırıcı etki yapacağı düşünülmektedir. Bu çeşidin ovaryum sera içi sıcaklığından daha çok ilk haftalarda embriyo vermiş olması ve embriyo oluşumlarının sonradan düşmüş olması bu çeşidin fotoperiyota olan tepkisini açıkça ispatlamaktadır. Geçen sezonlarda da bu çeşitte buna benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Bitki oluşumu açısından değerlendirildiğinde ise bu çeşidi en yüksek oranda bitkiyi 7. (%153,33) haftada oluşturmuştur. Bu haftada gözlemlenen sıcaklık değeri çok çarpıcı bir değişim göstermediğinden, bitki eldesini de bu değer etkileyebileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte en yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm ise 3. (%63,64) ve 6. (%44,44) haftalarda görülmüştür. Bu iki hafta arasında farklı seviyelerde sıcaklık ölçümleri yapılmıştır. Altıncı haftada ölçülen sıcaklık değerleri daha yüksektir. Ancak bununda bitkiye dönüşüm anlamında etki yaratmadığı savunulabilir.

Sedir çeşidinin 2020 Bahar döneminde en yüksek embriyo seviyesine ulaştığı haftalar 7. ve 12. haftalardır. Üçüncü, 4. 6. ve 11. haftalarda da bu çeşitte güzel sonuçlar elde edilmiştir. Yedinci hafta koşullarında ortalama sıcaklık değeri 18,47 °C olarak belirlenmiştir. Bu çeşidin ilk sezonda en verimli olduğu ortalama sıcaklık derecesinin de yaklaşık 18 °C olduğu belirlenmiştir. Bu ortalama sıcaklık derecesinde bu çeşidin olumlu tepki verdiği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra 12. haftada da ortalama sıcaklık seviyesi 20,74 °C olarak ölçülmüştür. 10. haftada yaşanan yüksek sıcaklık şoku bu çeşidi 9. ve 10. haftalarda olumsuz etkilemiş ve geçen sezonlarda olduğu gibi bu çeşidin yüksek sıcaklık şoklarını sevmediği kanısına varılmıştır. En son kurulan denemede de aynı durum söz konusu olmuş ve bu çeşit embriyo vermemiştir. 12. haftada ise sıcaklık seviyesi iki hafta önceye göre düşüş yaşamış ve bu olay çeşitte embriyo oluşumunu tetikleyici olmuş olabilir. Ortalama olarak 8 °C'lık bir düşüş görülmüştür. Bu çeşidin en yüksek oranda bitki oluşturduğu haftalar ise 3. (%150,00) ve 12. (%138,10) hafta olarak belirlenmiştir. Bu iki hafta arasında belirlenen sıcaklık farkları bir hayli fazladır. Genel anlamda iki haftaya bakıldığında benzer bir ilişki görülmemektedir. Üçüncü haftada gerçekleşen bitki oluşumlarının daha çok donör bitki yaşına bağlı bir faktör olduğu, 11. haftada görülen değer ise 10. haftadan sonra sıcaklıkların ani olarak düşmüş olması olarak gösterilebilir. Embriyo oluşumunda görülen benzer olay burada da saptanmıştır. Elde edilen embriyoların bitkiye dönüşümleri ise en fazla oranda 5. (%100,00) ve 3. (%79,12) haftalarda görülmüştür. Üçüncü haftada sıcaklık değişimleri mevsimsel bir ilerleyiş izlerken, 5. haftada maksimum sıcaklık değeri yükselerek maksimum ve minimum sıcaklık farkı artış göstermiştir. Bu durum en yüksek embriyodan bitkiye dönüşüm oranının elde edilmesine sebep olmuş olabilir, ancak bitkiye dönüşümü yüksek oranda

etkilediği savunulamaz. Bu sezon genel anlamda değerlendirildiğinde yüksek sıcaklık şoklarının Ufuk ve Sedir çeşitlerinde olumlu bir etki yaptığı, Meriç çeşidinin sıcaklık değişiminden çok fotoperiyota karşı duyarlı olduğu, ancak düşük sıcaklık farkı olduğu durumlarda da embriyo oluşumunun olumsuz etkilendiği belirlenmiştir.

2020 Güz döneminde ise eylül ayının ikinci haftasında sıcaklık dereceleri göz önüne alınmış ve toplamda 15 hafta deneme kurulmuştur. Bu sezonda mevsim ortalama sıcaklıkları 2019 Güz dönemindeki kadar yüksek bulunmamıştır. Bu derecelerin bu şekilde tespit edilmesi ısıtma yapılmayan serada yetiştiricilik yapılmış olmasıdır. Ortalama mevsim sıcaklıkları minimum, ortalama ve maksimum değerlerde sırasıyla 12,90 °C, 19,86 °C ve 32,67 °C olarak ölçülmüştür. Bu sezonda belirlenen maksimum en yüksek sıcaklık derecesi ilk haftada 42,97 °C'dir. Minimum sıcaklık değeri ise en düşük 25 12 2020 tarihinde kurulan denemede 7,20 °C olarak görülmüştür. Tüm sezonlar ortalama sıcaklık bakımından genel olarak değerlendirildiğinde kademeli bir düşüş saptanmıştır. Beşinci haftada tespit edilen maksimum sıcaklık değeri bir önceki haftaya göre yaklaşık 3 °C düşmüştür. Aynı durum 5. ve 6. haftalar arasında da yaşanmıştır. Onuncu haftada ölçülen maksimum sıcaklık 28,38 °C, minimum sıcaklık değeri ise 10,39 °C'dir. On birinci haftada ise maksimum sıcaklık değeri 30,27 °C, minimum sıcaklık değeri ise 8,14 °C'dir. Maksimum sıcaklık değeri yaklaşık 2 °C artarken, minimum sıcaklık değeri yaklaşık 2 °C düşmüştür. Bu iki hafta arasındaki maksimum ve minimum sıcaklık farkı yaklaşık 5 °C olarak bulunmuştur. On üçüncü ve on dördüncü haftalar arasındaki maksimum sıcaklık değeri yaklaşık 2,5 °C düşmüş olup, bu değer 24,94 °C olarak ölçülmüştür. 2020 Güz sezonu maksimum ve minimum sıcaklık farkları açısından değerlendirildiğinde en yüksek sıcaklık farkı 4. haftada yaşanmıştır. En yüksek ikinci sıcaklık farkı ise 11. haftada yaşanmıştır.

Ufuk çeşidinde en yüksek embriyo oluşumu %202,22 oranı ile 11. haftada gözlenmiştir. Bu hafta sıcaklık açısından değerlendirildiğinde maksimum ve minimum sıcaklık farkının yüksek olduğu görülmüştür. Bu durumun bu çeşitte daha önceden embriyo oluşumunu tetiklediği görülmüştür. 2020 Güz sezonunda da aynı sonuca ulaşılması şaşırtıcı değildir. Genel olarak bakıldığında bu sezonda bu çeşidin embriyo oluşturduğu 1., 4. ve 15. haftalarda da embriyo oluşum oranlarında artış saptanmıştır. Ayrıca bu genotipte fotoperiyodunda etkili olabileceği düşünülmektedir. En yüksek bitki oluşum oranı ise embriyoda olduğu gibi 11. haftada %77,78 oranında gerçekleşmiştir. Bunun yanı sıra bitki elde edilen haftalar genel anlamda incelendiğinde bitki eldesi maksimum ve minimum sıcaklık farkının artmış olduğu haftalarda elde edilmiştir. En yüksek bitki eldesinde bu farkın 22,13 °C olduğu zamanda görülmüştür. Embriyoların bitkiye dönüşüm oranları incelendiğinde ise Ufuk çeşidinde en yüksek dönüşüm 7. (%100,00), 9. (%50,00) ve 15. (%50,00) haftalarda elde edilmiştir. Bu haftalarda ölçülen sıcaklık dereceleri arasında yakın bir ilişki bulunamamıştır. Dolayısı ile Ufuk çeşidinin embriyodan bitkiye dönüşümünde ovaryumun sera içi sıcaklığı faktörü belirleyici bir unsur olarak görülmemektedir.

Meriç çeşidinde ise sadece 8. ve 15. haftalarda embriyo elde edilmiştir. On beşinci haftada bu çeşitte embriyo elde edilmesinin sebebi, minimum sıcaklık derecesinin 7,20 °C, maksimum sıcaklık derecesini 28,13 °C olması gösterilebilir. Aynı durum 2020 Bahar sezonunda 5. haftada yaşanmıştır. Minimum sıcaklık derecesi bir önceki haftaya göre düşüş yaşarken, maksimum sıcaklık derecesi bu her iki haftada da artmıştır. 2020 Güz sezonu 8. haftada ise maksimum sıcaklık seviyesinde artma yerine düşüş yaşanmıştır. Bu

da Meriç çeşidinin sadece sıcaklığa bağlı olarak embriyo geliştirmedeğini göstermektedir. Burada etkili olan değerinin düşük sıcaklık seviyesi olabileceği düşünülmektedir. Ancak bu sezonda da bu çeşidin fotoperiyota daha çok tepki verdiği söylenebilir. Bitki eldesi açısından bakıldığında ise Meriç çeşidinde sadece son haftada bitki elde edilmiş ve oransal olarak bakıldığında sınırlı bir yüzde (%11,11) ile karşılaşmıştır. Bitki eldesi açısından burada tetikleyici olan minimum sıcaklık değeri olmuş olabilir. Ancak bu haftaya göre yorum yapmanın yeterli sonuç doğurmayacağı düşünülmektedir. Embriyoların bitkiye dönüşüm oranları incelendiğinde ise bu haftada %100,00 oranında bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir.

Sedir çeşidinde ise en yüksek embriyo oranına 6. haftada ulaşılmıştır. Tüm sıcaklık değerlerinin bu hafta da düşmüş olması embriyo oluşumu tetiklemiş olabilir. Üçüncü haftada görülen embriyo değeri de tüm sıcaklık değerlerinin yaklaşık 2°C düşmüş olmasına verilmiş bir tepki olarak düşünülmektedir. Bunun tam tersi durum, 2019 Güz sezonunda ve 2019 Bahar sezonunda sıcaklığın ani yükselmesine Sedir çeşidinin olumsuz yanıt vermesi şeklinde gelişmiştir. 2019 Bahar sezonunda 2. haftada görülen ani sıcaklık düşüşü bu çeşitte embriyo oranı açısından yarı yarıya bir azalma sağlamıştır. Yukarıda iddia edilenin aksine bir durum gerçekleşmiştir. Buradan çıkan sonuç ise ‘Embriyo oluşumunu bu çeşitte sadece ani sıcaklık artışına veya azalışına bağlamak doğru değildir’ şeklinde olmuştur. Bunun dışındaki donör bitki yaşı, yetiştirilme mevsimi gibi faktörlerinde etkili olabileceği çalışmamızda görülmüştür. Bitki oluşum oranı açısından değerlendirildiğinde ise en yüksek bitki oluşum oranı 3. (%368,33) ve 6. (%357,78) haftalarda elde edilmiştir. Üçüncü ve altıncı haftada özellikle ortalama ve maksimum değerlerde yaşanan ani sıcaklık düşüşü bu çeşidi bitki eldesi açısından olumlu etkilemiş olabileceği düşünülmektedir. Embriyodan bitkiye dönüşüm oranları açısından bakıldığında ise en yüksek rejenerasyon 12. haftada görülmüştür. Bu haftada da maksimum sıcaklık değeri 3 °C düşüş göstermiştir. Ancak diğer dönüşüm oranları incelendiğinde bu konuda kesin bir yargıya varılamamaktadır.

Donör bitki üzerinde bulunan ovaryumların bir haftalık sera içi sıcaklığının hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi incelendiğinde Ufuk çeşidinin embriyo ve bitki oluşumunda genel olarak maksimum ve minimum sıcaklık farklarından olumlu etkilendiği, özellikle bu çeşidin ani değişmeyen yüksek sıcaklıklardan hoşlandığı söylenebilir. Ancak ani sıcaklık değişimlerinde ilk etapta embriyo ve bitki eldesi açısından olumsuz etkilendiği de görülmüştür. Elde edilen embriyoların ise bitkiye dönüşmelerinde ovaryum sera içi sıcaklığının yüksek oranda etkili olmadığı sonucuna varılmıştır. Bunun dışında bu çeşidin az da olsa kısa gün koşullarına tepki verdiği görülmüştür.

Meriç çeşidinde ise minimum sıcaklık derecelerinin yaşandığı koşullarda bazı durumlarda yanıt alınabileceği, ancak bu çeşidin sıcaklık faktörünün dışında kısa gün koşullarına olumlu tepki verdiği tespit edilmiştir. Bitki oluşumunda ve elde edilen embriyoların bitkiye dönüşümünde ovaryum sera içi sıcaklığının doğrudan bir etkisi görülmemiştir.

Sedir çeşidinde ise yüksek sıcaklıkların embriyo ve bitki oluşumunu olumsuz etkilendiği, ovaryum sera içi sıcaklığının yüksek sayılabilecek derecelerin altına düşmesinin ise bu çeşidi hem embriyo hem de bitki eldesi açısından olumlu etkilediği saptanmıştır. Bunun dışında az da olsa sıcaklık farkının artması özellikle embriyo

oluşumunu uyarıcı yönde etki etmektedir. Bunun yanı sıra embriyodan bitkiye dönüşüm oranının konusunda etkili olmadığı görülmüştür. Bu çeşitte donör bitki yaşının embriyo ve bitki oluşumuna etkisinin daha fazla olduğu düşünülmektedir.

Dahleen (1999) arpada yürütmüş olduğu haploid bitki eldesi üzerine çalışmada aralık ayında seraya ekilen bitkilerden gelişmiş yeşil bitki oranı daha az olduğunu, bitki rejenerasyonunun sıcaklıktan çok ortalama güneş radyasyonuna bağlı olduğunu bildirilmiştir. Meriç ve Ufuk çeşitlerinde de sıcaklıktan ziyade fotoperiyota bağlı embriyo ve bitki gelişiminin olması yukarıda belirtildiği gibi ışık faktörünün daha belirleyici olduğunu ispatlamaktadır. Ayrıca gynogenesis tepki oranının farklı fotoperiyot koşullarına uygun soğanlarda da değişiklik gösterdiği yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (Martinez vd. 2000; Campion vd. 1992; Khan vd. 2020).

Donör bitki yetiştirilme sıcaklığı üzerine yürütülen bir çalışmada (Ferrie vd. 2014) donör bitki yetiştirme sıcaklığının yulaf bitkisinde mikrospor kültürü üzerine etki gösterdiği, en verimli sonucun 20°C gündüz/15°C gece koşullarında yetiştirilmiş olan donör bitkinin mikrospordan alındığı bildirilmiştir. Başka bir çalışmada patlıcanda mikrospor kültürü üzerine çalışılmış ve sera koşullarında donör bitkilerin yetiştirildiği sıcaklığın yüksek embriyo verimi için optimum ortalama olarak kış aylarında 20°C, bahar aylarında 23°C ve yaz aylarında 26°C olması gerektiği bildirilmektedir (Rivas-Sendra vd. 2020). Başka bir çalışmada ise biberde embriyo gelişimi için optimum sıcaklığın 17,5-22,2 °C arasında olması gerektiği savunulmaktadır (Grozeva vd. 2013).

Ata vd. (2019), yüksek sıcaklık hassasiyeti, düşük sıcaklık toleransı gösteren biber çeşitlerinin yetiştirme ortamı sıcaklığı düşük olduğu dönemlerde embriyo veriminin arttığını belirlerken; düşük sıcaklık hassasiyeti, yüksek sıcaklık toleransı gösteren çeşitlerin ise sıcaklığın arttığı dönemlerde embriyo verimini artırdığını bildirmektedir. Çalışmamızda da soğuk döneme adaptasyonu yüksek olan Ufuk çeşidinin maksimum ve minimum sıcaklık farkının artmasına genel anlamda olumlu tepki verdiği saptanmıştır. Yine erken bahar dönem yetiştiriciliğine adaptasyonu yüksek olan Sedir çeşidinin, erken bahar döneminde embriyo ve bitki veriminin de yüksek olduğu, bu koşullarda yaşanan sıcaklık derecelerine olumlu tepki verdiği görülmüştür. Meriç çeşidinin ise düşük sıcaklıklarda uyarılabileceği düşünülmektedir.

Embriyojenik kallus oluşumunun donör bitki yetiştirme koşulları ile ilişkisi olduğunu belirten Thurling ve Chay (1984), kolzada donör bitki yetiştirme ortamı ışık yoğunluğu ve sıcaklığı konuları üzerine çalışmıştır. Özellikle embriyojenik kallus oluşumunda materyal olarak yetiştirilen donör bitkilerin gündüz 20°C, gece 15°C’de gölge olmayan ortamda yetiştirilmesi gerektiği görüşüne varmıştır. Bitkiler üzerine gölgeleme yapılmasının veya bitkilerin daha yüksek sıcaklığa maruz kalmasının kallus oluşumunu olumsuz etkilediğini bildiren bilim insanları, fotoperiyota olan tepkinin daha yüksek olduğunu düşünmektedir. Özellikle Meriç ve Ufuk çeşitlerinden elde ettiğimiz sıcaklık ve fotoperiyot tepkisi ile eş değer sonuçlara ulaşılmıştır.

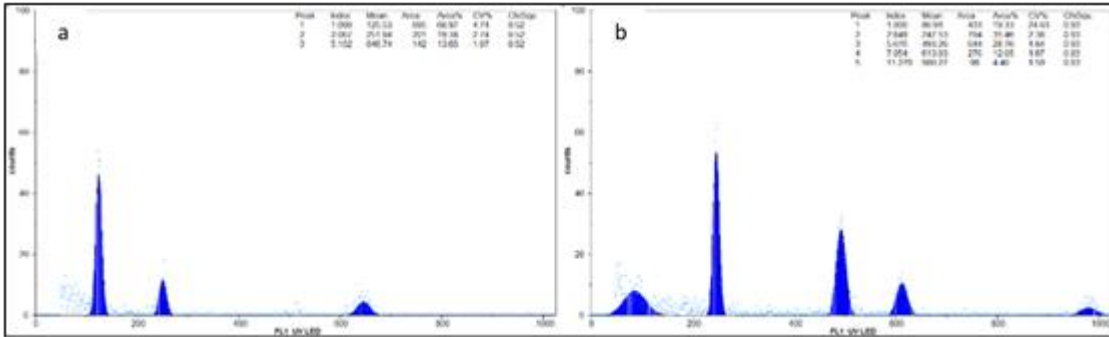
Tütünde anter kültürü üzerine yürütülen bir çalışmada da kısa gün koşullarında, düşük sıcaklıkta yetiştiricilik yapılmasının embriyoyu oluşturan sporofitik polen sayısını artırdığı savunulmaktadır (Heberle-Bors, 1983). Aynı şekilde kolza, çin lahanası, tütün mikrospor kültürleri üzerine yapılan başka bir çalışmada da benzer sonuçlara ulaşılmış,

bitkilerin düşük sıcaklık (15°C /10°C-12 °C/gündüz/gece) ve kısa gün koşullarında embriyo frekanslarının arttığı bildirilmiştir (Lo ve Pauls 1992; Tuncer ve Yanmaz 2007)

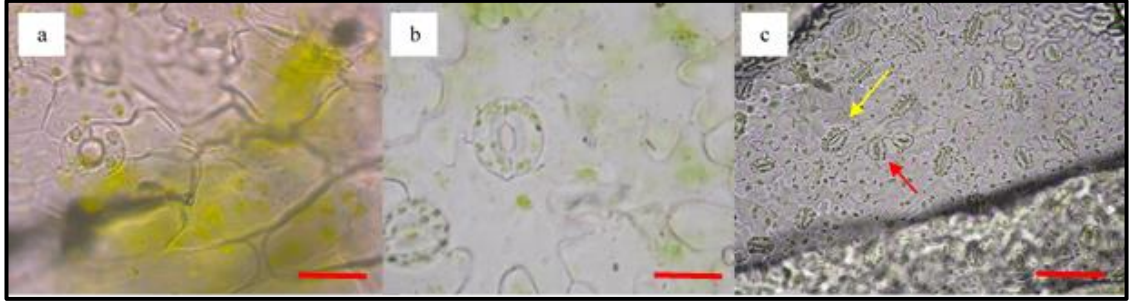
Mevsim etkisi ve donör bitki yetiştirme sıcaklığı etkisi üzerine pirinçte mikrospor kültürü üzerine yürütülen bir araştırmada mevsimin ve sıcaklığın sürgün verme yeteneği olan kallus üretmede çok etkili bir faktör olduğu, donör bitkilerin yapay koşullarda 21 °C’de yetiştirilerek de mevsim etkisinin ortadan kaldırılabileceği görülmüştür (Ilyushko ve Romashova 2019). Benzer sonuçlar elde edilen başka bir çalışmada da pirinç için optimum gelişme eşiği olarak kabul edilen 20°C’de gelişen donör bitkilerden mikrospor kültürü yolu ile en yüksek kallus oluşumu ve rejenerasyonu gerçekleştiği bildirilmektedir. Ayrıca araştırmacılar düşük sıcaklığın bitki rejenerasyonu üzerindeki etkisini değiştirdiği ve özellikle düşük sıcaklık ani stres oluşturuyorsa kromozomların katlanmasına da sebep olduğu söylenmektedir (Vladislavovna 2015). Özellikle bu iddianın haploid çalışmalarında önemli bir anahtar olabileceği, bu da donör bitki yetiştirme sıcaklığının üzerinde araştırma yapılması gerektiğini bize işaret etmektedir. Elde edilen diploid yapıdaki bitkilerin donör bitkinin maruz kaldığı ani sıcaklık stresine bağlı olarak gelişmiş spontan double haploidler olmuş olma ihtimali bütün türler için araştırılmalıdır. Yürüttüğümüz bu çalışmada ovaryumun sera içi sıcaklığın önemli bir faktör olduğu görülmüş olup, çeşitlere göre etki oranları ve etki eden sıcaklık değerlerinin farklılık gösterebileceği görülmüştür.

4.10. Gynogenesis Tekniği ile Elde Edilen Gelişmiş Bitkilerin Ploidi Düzeylerinin Belirlenmesi

Hıyar ovaryumlarının kültüre alınması ile direkt ve indirekt olarak gelişmiş ve bitkiciklere dönüşmüşlerdir. Son sezonda elde edilen 52 adet bitkinin genel olarak ploidi seviyelerini belirlemek amacı ile bitki örnekleri hazırlanmış ve Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümüne gönderilmiştir. Flow sitometri yöntemi ile ploidi seviyesi belirlenen bitkilerin 17 adedi haploid, 21 tanesi diploid ve 5 tanesi mikroploid olarak belirlenmiştir (Şekil 4.45). Diğer bitkilerin ploidi seviyesi flow sitometri yöntemi ile belirlenememiştir. Birinci sezonda ise elde edilen 78 adet bitkinin de ploidi seviyesi stomada kloroplast sayım yöntemi ile tespit edilmiştir. Kloroplast sayım yöntemi ile ploidi seviyesi belirlenen bitkilerin 49 adedi haploid, 17 diploid ve 12 adedi mikroploid olarak belirlenmiştir. Diploid, haploid ve mikroploid yapıdaki bitkilerin stomaları Şekil 4.46’da verilmiştir.



Şekil 4.45. Flow sitometri yöntemine göre ploidi düzeyi analiz sonuçları; **a.** Haploid ploidi düzeyi, **b.** Diploid ploidi düzeyi



Şekil 4.46. Stomada bulunan kloroplast sayısına göre ploidi seviyesi gösterimi; **a.** Haploid yapıdaki bitki stoması (100x), **b.** Diploid yapıdaki bitki stoması (100x), **c.** Miksoploid yapıdaki bitki stomaları (40x) (Sarı ok ile işaretlenmiş stoma diploid yapıda, kırmızı ok ile işaretlenmiş stoma haploid yapıdadır.) (x= mikroskop büyütme katsayısı) (bar=1cm)

Ploidi seviyesini belirleyebildiğimiz bitkilerde oldukça yüksek oranda diploid bitki oluşması aslında istediğimiz bir sonuç değildir. Ancak embriyoların ve gelişen bitkilerin ovaryumda gelişim gösterdikleri alan ovül düzlemi boyunca gerçekleşmiş olup, somatik embriyogenesis kaynaklı bir oluşum olmadığı düşünülmektedir. Bu da elde ettiğimiz diploid yapıdaki bitkilerin spontan double haploid olabileceği yönünde bir düşünce doğurmuştur. Özellikle kallusa dönüşen embriyolardan gelişen çoklu bitkiciklerde bunun daha fazla görülebileceği düşünülmektedir. Hıyarda yürütülen bir ovaryum kültürü çalışmasında 33 adet elde edilen diploid bitkinin SSR marker yöntemi ile 17 adedinin double haploid yapıda olduğu bizim düşüncemizi destekler niteliktedir (Diao vd. 2009). Aynı zamanda karpuzda ovaryum kültürü çalışması yürüten Zhu vd. (2019)'nin elde ettikleri diploid ve tetraploid yapıdaki bitkilerin SSR marker analiz sonuçlarına göre double haploid ve tetra haploid yapıda olduklarını belirtmesi de *Cucurbitaceae* familyasının diğer üyelerinde de yürütülen ovaryum kültürü çalışmalarında da benzer sonuçlara rastlanabileceğini göstermektedir. Hıyar ovaryum kültürü çalışmalarında diploid yapıda gelişim gösteren bitkilerin ıslah çalışmaları için doğrudan elemine edilmemesi gerektiği, bu bitkilerin double haploid yapıda olup olmadığına, SSR marker yöntemine göre tespit edilerek karar verilmesinin daha doğru olacağı düşünülmektedir.



5. SONUÇLAR

Hıyarda haploid embriyo ve bitki üretmenin hıyar ıslah çalışmaları için önemli bir faktör olduğu bilinmektedir. Özellikle hibrit çeşitlerin geliştirilmesi için ön görülen ebeveyn adaylarının kısa sürede homozigotlaştırılması ve resesif karakterlerin kısa sürede tespit edilebilmesine olanak sağlaması ile tohum ve çeşit geliştirme çalışmalarına büyük katkıda bulunmaktadır. Dünya ticaretinde önemli bir sebze olan bu bitkinin ıslahı üzerinde yapılan çalışmalarda özellikle üzerinde durulan konular meyve rengi, meyve şekli, meyve uzunluğu, bir boğumda bulunan meyve sayısı, meyve dikenliliği, meyve sapının meyveye bağlanma şekli, meyve gevrekliği, meyvenin değerlendirilme şekli ve tat ve aroma durumu, külleme (PM), hıyar mozaik virüsü (CMV), kabak mozaik virüsü (ZYMV) gibi hastalık dayanımlarıdır. Bu özelliklerin gözlemlenen ıslah hatlarında fenotipik olarak daha kısa sürede tespit edilmesine imkân sağlayan hıyar haploid bitki teknolojisi çalışmaları, işçilik ve maliyet konularında da tasarruf sağlamada bir avantaj olarak görülmektedir.

Monoik çiçek yapısına sahip hıyar bitkilerinin saf hat olarak üretilmesinin güçlüğü, sadece dişi çiçek üretmeye eğilimli genotiplerin erkek çiçek elde edilerek homozigotlaştırma işlemlerinin zorluğu nedeni ile dişi gamete bağlı haploid embriyo ve uyartım sağlanması büyük avantaj sağlamaktadır.

Hıyarda haploid bitki üretimini etkileyen birçok faktör vardır. Özellikle genelde üzerinde durulan konular, etkili haploid embriyo ve bitki eldesi tekniği, uygun besi ortamı protokolünün oluşturulması, uygun çiçek alım aşaması, ön sıcaklık uygulamaları, gibi *in vitro* faktörler olmuştur. Ancak sadece bunlara bağlı olarak embriyo oluşumu ve bitki oluşumu gerçekleşmemektedir. Özellikle donör bitkiye bağlı faktörlerin de önemli olduğu unutulmamalıdır. Çalışmamızda da bu açıkça görülmüştür. Donör bitkinin yetiştirilme şartlarının bitkinin isteği doğrultusunda iyileştirilmesinin haploid embriyo ve bitki oluşumuna olumlu yönde etki yapacağı ve başarı oranını artıracığı düşünülmektedir. Çalışmamızda özellikle donör bitki çeşidi, donör bitki yaşı, donör bitkinin yetiştirilme mevsiminin etkisi, donör bitkinin yetiştirilme aylarının etkisi, kültüre alınacak ovaryumların sera içi sıcaklığının etkisi konuları üzerinde durulmuş ve haploid bitki üretimde bu konuların önem derecesi belirtmeye çalışılmıştır. Üç farklı çeşit, dört farklı sezonda yetiştirilmiş, haftalık elde edilen embriyo ve bitki sayıları hesaplanmış ve bu hesaplara göre embriyo oluşum, bitki oluşum ve elde edilen embriyoların bitkiye dönüşüm oranları üzerinde durulmuştur. Çalışmamızdan çıkarılan sonuçlar şu şekildedir.

Donör bitki yaşı 15 haftaya göre değerlendirildiğinde, çeşitlerin embriyo oluşumu açısından farklı tepkiler verdiği görülmüştür. Tüm çeşitlere göre ilk 7 haftanın embriyogenesis açısından en verimli yaşlar olduğu görülmüştür. Çalışmamızdan anlaşıldığı üzere embriyo oluşturmada donör bitki yaşının önemi büyüktür. Donör bitki yaşına bağlılık sıralaması açısından değerlendirildiğinde Sedir birinci, Meriç ikinci ve Ufuk üçüncü sırada gelmektedir.

Kültüre alınan ovaryum sayısına göre elde edilen bitki eldesi oranları haftalık olarak değerlendirildiğinde yine embriyo eldesinde olduğu gibi donör bitki yaşının 7 haftaya kadar ortalama olarak bitki elde oranlarını olumlu etkilediği, 7 haftadan sonra bu oranların düştüğü sonucuna varılmıştır. Bitki eldesi oranı bakımından çeşitlerde donör

bitkiye bağımlılık sıralaması yapıldığında Sedir birinci, Meriç ikinci ve Ufuk üçüncü çeşit olarak bulunmuştur.

Genel olarak tüm sezon incelendiğinde haftalar arasında embriyodan bitkiye dönüşüm oranı açısından sabit oranlarda artış veya azalış görülmemiş ve donör bitkinin yaşının bu konuda etkili olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Bahar mevsiminde en yüksek embriyo eldesi, en yüksek bitki eldesi ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları çeşitler bazında değişiklik göstermiş ve mart ayının son haftasından itibaren haziran ayı ortasına kadar en yüksek embriyo oluşumu ve bitki oluşumu Sedir çeşidinde gerçekleşmiştir. Bu çeşit için embriyo oluşumu bakımından bahar sezonunda en yüksek yanıtın alındığı ay mart sonu olarak belirlenmiştir. Bitki eldesi bakımından da aynı şeyi söylemek mümkündür. Embriyo rejenerasyonu açısından değerlendirdiğimizde ise en iyi yanıtın alındığı ay nisan ayıdır.

Meriç çeşidinde ise embriyo oluşum oranı en yüksek nisan ayında görülmüş olup, en yüksek bitki oluşum oranı mart ayının son haftasında tespit edilmiştir. Embriyo rejenerasyonu açısından değerlendirildiğinde ise bu çeşit en yüksek embriyo rejenerasyonunu mayıs ayında gerçekleştirmiştir.

Ufuk çeşidinde ise tek embriyo oluşum oranı mart ayının 3. haftasında kurulan denemede görülmüştür. Genel anlamda bakıldığında bu çeşit mart ayında iyi bir embriyo oluşum oranı yakalamıştır. Ancak bu oran nisan ve mayıs aylarında düşüş yaşarken, haziran ayında tekrar yükselişe geçmiştir. Bitki oluşumu açısından değerlendirildiğinde ise en yüksek bitki oluşumu bu çeşitte mart ayının 3. haftasında gerçekleşmiştir mart ayından sonra bitki eldesi oranları düşüşe geçmiştir. Bunun yanı sıra en yüksek embriyo rejenerasyonu da mayıs ayında gerçekleşmiştir.

Bahar mevsiminde toplamda kültüre alınan ovaryum sayılarına göre embriyo oluşumu, bitki oluşumu ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranı açısından en uygun olan ay mart ayının son iki haftası olmuştur.

Güz mevsiminde en yüksek embriyo eldesi, en yüksek bitki eldesi ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranları çeşitler bazında değişiklik göstermiş, Sedir çeşidi en yüksek embriyo oluşumuna ekim ayında sahip olurken, ikinci en iyi olduğu dönem eylülün son haftası olarak belirlenmiştir. Bunun aksine en düşük embriyo oluşum oranına sahip olduğu ay ise aralık ayı olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çeşit en yüksek bitki oranına yine ekim ayında ulaşmıştır. Ayrıca en düşük bitki oluşum oranı aralık ayında tespit edilmiştir. Embriyo rejenerasyon oranı açısından değerlendirildiğinde bu çeşidin en iyi yanıt verdiği ay ise aralıktır.

Ufuk çeşidi en yüksek embriyo oluşum oranına kasım ayında ulaşmıştır. Bunun aksine en düşük embriyo eldesini aralık ayında gerçekleştirmiştir. En yüksek bitki eldesi ise kasım ayında görülürken, bu çeşit en yüksek embriyo rejenerasyon oranına ekim ayında ulaşmıştır. Bitki oluşum oranı açısından bu çeşidin en az tepki verdiği ay eylül ayı olarak belirlenmiştir.

Meriç çeşidinde ise en yüksek embriyo eldesine kasım ayında ulaşılmış olup, bu çeşitte eylül, ekim ve aralık aylarında oldukça sınırlı bir oranda embriyo oluşumu

gerçekleşmiştir. En yüksek bitki oluşum oranına kasım ayında ulaşılmış olup, en yüksek embriyo rejenerasyon oranı aralık ayında gerçekleşmiştir.

Güz mevsiminde ise toplamda kültüre alınan ovaryum sayılarına göre en yüksek embriyo ve bitki oluşum oranı ekim ayında gerçekleşmiştir. Ancak embriyodan bitkiye dönüşme oranı açısından en yüksek oran aralık ayında tespit edilmiştir.

Mevsimsel açıdan değerlendirildiğinde hıyarda haploid embriyo ve bitki eldesi için en etkili olan mevsimin bahar mevsimi olduğu, bu mevsimin hem embriyo hem de bitki eldesi oranları açısından daha yüksek oranda embriyo ve bitki oluşturduğu görülmüştür. Ancak embriyodan bitkiye dönüşüm oranlarının mevsimsel değişimle ilgili olmadığı kanısına varılmıştır. Mevsimin hıyarda ovaryum kültürü ile haploid embriyo ve bitki elde etmeye yüksek bir oranda etkisi olduğu savunulabilir. Ayrıca mevsimin tip ve çeşitlerin multi, tekli ve yarı multi olma durumlarına bağlı olarak da mevsimin etkili olabileceği düşünülmektedir. Donör bitkinin yetiştirilmesi esnasında bitki ovaryum sayılarında gerçekleşen yükselişin embriyo ve bitki oranlarını da arttırdığı, çiçeklenme ile gynogenesis başarı oranında ilişki olduğu görülmüştür. Bu durumun da yüksek oranda mevsime bağlı bir faktör olduğu, ancak çeşit bazında dikim tarihlerinde değişikliklerin başarı oranını arttırabileceği düşünülmektedir.

Bitki yaşı ve mevsimin etkisi birlikte değerlendirildiğinde gynogenesis başarı oranlarının artması için Sedir (kokteyl-multi) ve Ufuk (dilimlenebilir-tekli) çeşitleri ile benzer özellikleri olan çeşitlerin ve bahar mevsiminde dikilmesinin gerektiği ve dikim tarihinin şubat ayının ortasında olmasının hem bitki yaşı, hemde mevsim açısından etkili olacağı saptanmıştır. Bunun yanısıra yarı multi dikenli tip olan Meriç çeşidi ile benzer özellikler taşıyan çeşitlerin ise fide dikim tarihlerinin Kasım ayında olmasının hem bitki yaşı hem de mevsim etkisi açısından yüksek oranda yarar sağlayacağı düşünülmektedir.

Donör bitki üzerinde bulunan ovaryumların bir haftalık sera içi sıcaklığının hıyarda ovaryum kültürü üzerine etkisi incelendiğinde Ufuk çeşidinin embriyo ve bitki oluşumunda genel olarak sıcaklık faktöründen ziyade diğer faktörlerden daha fazla etkilendiği görülmüştür. Ani sıcaklık değişimleriyle yaşanan artış veya düşüşler net olarak ifade edilememiştir. Elde edilen embriyoların ise bitkiye dönüşmelerinde ovaryum sera içi sıcaklığının yüksek oranda etkili olmadığı sonucuna varılmıştır. Meriç çeşidinde ise minimum sıcaklık derecelerinin yaşandığı koşullarda bazen olumlu yanıt alınabileceği, ancak bu çeşidin sıcaklık faktörünün dışında kısa gün koşullarına olumlu tepki verdiği tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklıklardan hoşlanmadığı tespit edilmiştir. Bitki oluşumunda ve elde edilen embriyoların bitkiye dönüşümünde ovaryum sera içi sıcaklığının doğrudan bir etkisi görülmemiştir. Sedir çeşidinde ise yüksek sıcaklıkların embriyo ve bitki oluşumunu olumsuz etkilediği, ovaryum sera içi sıcaklığının yüksek sayılabilecek derecelerin altına düşmesinin ise bu çeşidi hem embriyo hem de bitki eldesi açısından olumlu etkilediği saptanmıştır. Bunun dışında az da olsa sıcaklık farkının artması özellikle embriyo oluşumunu uyarıcı yönde etki etmektedir. Ayrıca embriyodan bitkiye dönüşüm oranı konusunda etkili olmadığı görülmüştür. Ani sıcaklık değişimi ise bu çeşidi genel olarak olumsuz etkilemiştir. Bu çeşitte donör bitki yaşının embriyo ve bitki oluşumuna etkisinin daha fazla olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda ovaryumun sera içi sıcaklığının önemli bir faktör olduğu, çeşitlere göre tepki oranları ve etki eden sıcaklık değerlerinin değişebileceği görülmüştür.

Meriç çeşidinin kısa gün koşullarından embriyo oluşumu ve bitki eldesi açısından yüksek oranda olumlu etkilendiği, Ufuk çeşidinin de az da olsa kısa gün koşullarına olumlu yanıt verdiği görülmüştür.

Çeşitler tüm değerlendirme kriterleri bakımından değerlendirildiğinde ise en başarılı çeşit Sedir olurken, Meriç embriyo oluşumu bakımından üçüncü, bitki oluşum oranı ve embriyoların bitkiye dönüşüm oranı bakımından ikinci en iyi yanıt alınan çeşit olarak belirlenmiştir. Ufuk çeşidi ise embriyo oluşum oranı bakımından ikinci, bitki oluşum ve embriyoların bitkiye dönüşüm oranı bakımından üçüncü olmuştur. Çeşidin gynogenesisi yüksek oranda etkileyen önemli bir faktör olduğu saptanmıştır.

Tüm çeşitlerden ortalama %112,69 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiş olup, bitki oluşum oranı %39,35 olarak kaydedilmiştir. Elde edilen embriyolara göre embriyoların bitkiye dönüşme oranları ise %34,91'dir.

Son sezonda elde edilen 52 adet bitkinin genel olarak ploidi seviyelerini belirlemek amacı ile bitki örnekleri hazırlanmış, Flow sitometri yöntemi ile ploidi seviyesi belirlenen bitkilerin 17 adedi haploid, 21 tanesi diploid ve 5 tanesi miksploid olarak belirlenmiştir. Birinci sezonda stomada bulunan kloroplast sayısına göre analizi yapılan 75 adet bitkiden 49 adedi haploid, 17 adedi diploid ve 12 adedi miksploid olarak kaydedilmiştir. Diğer bitkilerin ploidi seviyesi net olarak tespit edilememiştir. Literatür çalışmalarına ve bitkilerin ovül düzleminde gelişim durumuna bağlı olarak diploid yapıda gelişim gösteren bitkilerin double haploid yapıda da olabilme ihtimalinin olduğu düşünülmektedir.

Elde edilen bu sonuçların hıyarda uygulanan tüm haploid teknikleri için donör bitki gelişimi adına bir klavuz olacağı ön görülmektedir. Ayrıca bu çalışma hıyarda haploid bitki üretiminde haploid çalışmalarının hangi mevsimde yürütülmesi gerektiği, hangi gelişim sıcaklıkları göz önünde bulundurularak donör bitkilerin yetiştirilmesinin uygun olacağı, donör bitkilerden alınan ovaryumların hangi sürede sera içerisinde yetiştiriciliğinin yeterli olacağı konularına ışık tutacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Aalders, L. E. 1958. Monoploidy in cucumbers. *Journal of Heredity*, 49 (1): 41-44.
- Abak, K. 1993. Biber Islahında Anther Kültüründen Yaralanma. Bitki Islahı Sempozyumu Bildirileri, Tübitak Toag Yayınları, 59-66 s.
- Abdollahi, M. R., Darbandi, M., Hamidvand, Y. and Majdi, M. 2015. The influence of phytohormones, wheat ovary co-culture, and temperature stress on anther culture response of watermelon (*Citrullus lanatus* L.). *Brazilian Journal of Botany*, 38 (3): 447-456.
- Abdollahi, M. R., Najafi, S., Sarikhani, H. and Moosavi, S. S. 2016. Induction and development of anther-derived gametic embryos in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by optimizing the macronutrient and agar concentrations in culture medium. *Turkish Journal of Biology*, 40 (3): 571-579.
- Açar, E. and Kaçar, Y. A. 2021. CRISPR/Cas9 technology and applications in plants. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 9(1): 1-6.
- Akbaş, F. C. and Solmaz, İ. 2019. Obtention of haploid plant in *Citrullus lanatus* var. *lanatus* and *Citrullus lanatus* var. *citroides* species by anther culture method. *International Journal of Environmental Research and Technology*, 2 (3): 25-36.
- Alan, A. R., Brants, A., Cobb, E. D., Goldschmied, P. A., Mutschler, M. A. and Earle, E. D. 2004. Fecund gynogenic lines from onion (*Allium cepa* L.) breeding materials. *Plant science*, 167(5): 1055-1066.
- Amirian, R., Hojati, Z. and Azadi, P. 2020. Male flower induction significantly affects androgenesis in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 95 (2): 183-191.
- Anagnostakis, S. L. 1974. Haploid plants from anthers of tobacco—enhancement with charcoal. *Planta*, 281-283.
- Anonim 1: <https://www.drdatastats.com/illere-gore-turkiyede-sebze-uretimi-ton-2019-yili-hiyar-sofralik> [Son Erişim Tarihi 20.05.2021].
- Anonim 2: <https://www.drdatastats.com/illere-gore-turkiyede-sebze-uretimi-ton-2019-yili-hiyar-tursuluk> [Son Erişim Tarihi 20.05.2021].
- Anonim 3: <http://www.genetikatohum.com/hiyar-tohumu> [Son Erişim Tarihi 20.05.2021].
- Ari, E., Ikten, H., Gocmen, M., Coskun, R. and Eren, A. 2010. Comparative evaluation of different embryo rescue techniques on parthenogenetic melon (*Cucumis melo* L.) fruits induced with irradiated pollen. *African Journal of Biotechnology*, 9 (33): 5347-5356.
- Asadi, A., Zebajadi, A., Abdollahi, M. R. and Seguí-Simarro, J. M. 2018. Assessment of different anther culture approaches to produce doubled haploids in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Euphytica*, 214 (11): 216.
- Asadi, A., Zebajadi, A. and Abdollahi, M. R. 2019. Production of cucumber doubled haploid plants via ovule culture. *Journal of Plant Productions (Agronomy, Breeding and Horticulture)*, 42 (1): 77-88.

- Ata, A., Keleş, D., Taşkın, H. and Büyükalaca, S. 2019. Effects of season, genotype, and nutrient medium on pepper anther culture and microspore development. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 43(2): 123-137.
- Ayanoğlu, H. ve Yalvaç, K., 2002. Tohumculuk Politikaları. Türkiye 1. Tohumculuk Kongresi 11-13 Eylül, Bornova- İzmir.
- Aybak, H. Ç. ve Kaygısız, H. 2004. *Hıyar yetiştiriciliği*. Hasad Yayıncılık, Türkiye, ss. 40-41
- Badawi, M. A., Metwally, E. I., Taha, S. S. and Arafeh, M. O. 2008. Large scale production of haploid plants by unpollinated ovules culture in squash (*Cucurbita pepo*, L.). *Journal of Plant Production*, 33 (7): 4981-4992.
- Baktemur, G., Taşkın, H. and Büyükalaca, S. 2013. Comparison of different methods for separation of haploid embryo induced through irradiated pollen and their economic analysis in melon (*Cucumis melo* var. *inodorus*). *The Scientific World Journal*, 2013
- Baktemur, G., Yücel, N. K., Taşkın, H., Çömlekçioglu, S. and Büyükalaca, S. 2014. Effects of different genotypes and gamma ray doses on haploidization using irradiated pollen technique in squash. *Turkish Journal of Biology*, 38 (3): 318-327.
- Bal, S. and Pal, S. 2020. Double haploidy in vegetable improvement. *Agriculture&Food:E-Newslater*. 2(6)
- Bhat, J. G., and Murthy, H. N. 2007. Factors affecting *in vitro* gynogenic haploid production in niger (*Guizotia abyssinica* (L. f.) Cass.). *Plant growth regulation*, 52 (3): 241-248.
- Bing, X., Xiufeng, W. and Zhicheng, F. 2006. Improved conditions of *in vitro* culture of unpollinated ovules and production of embryonary sac plants in summer squash (*Cucurbita pepo* L.). *Scientia Agricultura Sinica*. 39 (1): 132-138
- Bjornstad, Å., Opsahl-Ferstad, H. G. and Aasmo, M. 1989. Effects of donor plant environment and light during incubation on anther cultures of some spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Plant cell, tissue and organ culture*, 17 (1): 27-37.
- Blakeslee, A. F. 1922. Variations in *Datura* due to changes in chromosome number. *The American Naturalist*, 56 (642):16-31.
- Bohanec, B., Jakše, M., Ihan, A. and Javornik, B. 1995. Studies of gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.): induction procedures and genetic analysis of regenerants. *Plant Science*, 104 (2): 215-224.
- Bohanec, B. and Jakse, M. 1999. Variations in gynogenic response among long-day onion (*Allium cepa* L.) accessions. *Plant Cell Reports*, 18 (9): 737-742.
- Bohanec, B. 2009. Doubled haploids via gynogenesis. In: Touraev, A., Forster, B. P., and Jain, S. M. (Eds.), *Advances in haploid production in higher plants*. Springer, Berlin, pp. 35-46.
- Buyukalaca, S., Kilic, N., Comlekcioglu, N., Abak, K. and Ekbic, E. 2004. Effects of silver nitrate and donor plant growing conditions on production of pepper

- (*Capsicum annuum* L.) haploid embryos via anther culture. *European Journal of Horticultural Science*, 69 (5): 206-209.
- Caglar, G. and Abak, K. 1997. Progress in the production of haploid embryos, plants and doubled haploids in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by gamma irradiated pollen in Turkey. In I International Symposium on Cucurbits, pp. 317-322, May, Adana.
- Campion, B. and Alloni, C. 1990. Induction of haploid plants in onion (*Allium cepa* L.) by *in vitro* culture of unpollinated ovules. *Plant cell, tissue and organ culture*, 20 (1): 1-6.
- Campion, B., Azzimonti, M. T., Vicini, E., Schiavi, M. and Falavigna, A. (1992). Advances in haploid plant induction in onion (*Allium cepa* L.) through *in vitro* gynogenesis. *Plant Science*, 86(1): 97-104.
- Chambonnet, D. and De Vaulx, R. D. 1985. Obtention of embryos and plants from *in vitro* culture of unfertilized ovules of *Cucurbita pepo*. Cucurbit Genet Coop, Report number: 8:66, Montfavet.
- Chee, R. P., Leskovar, D. I. and Cantliffe, D. J. 1992. Optimizing embryogenic callus and embryo growth of a synthetic seed system for sweetpotato by varying media nutrient concentrations. *Journal of the American Society For Horticultural Science*, 117 (4): 663-667.
- Chen X. P., Liu S. T., Sun X. L., Zhao Z. Z. and Wang X. F. 2005. Primary study on embryoids induced from unpollinated ovaries of cucumber. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2: 148-151
- Chen, J. F., Cui, L., Malik, A. A. and Mbira, K. G. 2011. *In vitro* haploid and dihaploid production via unfertilized ovule culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 104 (3): 311-319.
- Chen, L., Fu, S. H., Xiang, J. and Li, Y. 2016. Preliminary studies on the high frequency of double haploid in the ovary culture of cucumber. In II Asian Horticultural Congress 1208, pp. 159-164, September, Chengdu City, China
- Choob, V. V., Vlassova, T. A. and Butenko, R. G. 1994. Callusogenesis and morphogenesis in generative organ-culture of the spring-flowering species of *Crocus* L. *Russian Journal of Plant Physiology*, 41 (6): 712-716.
- Chunyun, G. 1995. Studies of microspore culture and doubled haploid breeding on rape. I. Effect of Donör plant and microspore density on microspore culture in *Brassica napus*. *Zuo wu xue bao*, 21 (6), 665-670.
- Chuong, P. V., Deslauriers, C., Kott, L. S. and Beversdorf, W. D. 1988. Effects of donor genotype and bud sampling on microspore culture of *Brassica napus*. *Canadian Journal of Botany*, 66 (8): 1653-1657.
- Claveria, E., Garcia-Mas, J. and Dolcet-Sanjuan, R. 2005. Optimization of cucumber doubled haploid line production using *in vitro* rescue of *in vivo* induced parthenogenic embryos. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130 (4): 555-560.
- Caglar, G. and Abak, K. 1999. *In situ* haploid embryo induction in cucumber (*Cucumis sativus* L.) after pollination by irradiated pollen. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23 (EK1): 63-72.

- Çelikli, F. B. 2016. Farklı besi ortamı ve ışın dozu uygulamalarının Galia ve Kırkağaç kavun *Cucumis melo* L. genotiplerinde haploid embriyo eldesi ve bitki oluşumuna etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, 57 s.
- Çetinkaya, E. 2015. Farklı besi ortamı kombinasyonlarının bazı hıyar (*Cucumis sativus* L.) genotiplerinde gynogenesis yolu ile embriyo ve haploid bitki oluşumu üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, 58 s.
- D'Halluin K, Keimer B 1986. Production of haploid sugarbeets (*Beta vulgaris* L.) by ovule culture. In: Horn W, Jensen CJ, Odenbach W, Schieder O (eds) Genetic manipulation in plant breeding, de Gruyter, Berlin, pp. 307–309.
- Dahleen, L. S. 1999. Donor-plant environment effects on regeneration from barley embryo-derived callus. *Crop Science*, 39 (3): 682-685.
- Demir, İ. 1990. Bitki Islahı. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Yayınları*, İzmir, (496), 366.
- Demir, İ., Balkaya, A., Yılmaz, K., Onus, A. N., Uyanık, M., Kaycıoğlu, M. ve Bozkurt, B. 2010. Sebzelerde tohumluk ve fide üretimi. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, VII. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, 11-15 Ocak, Ankara.
- Demirel E., İnci N. ve Onus A. N. 2016. Günümüz hıyar (*Cucumis sativus* L.) ıslahının genel hedeflerinde aranan kıstaslar. III. Ulusal Tarım Kongresi, ss.22, 5-8 Ekim, Afyonkarahisar, Türkiye
- Diao, W. P., Jia, Y. Y., Song, H., Zhang, X. Q., Lou, Q. F. and 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.
- Dirks, R. 1996. Method for the production of double haploid cucumbers. U.S. Patent No. 5,492,827. DC: U.S. Patent and Trademark Office, Washington.
- Doctrinal, M., Sangwan, R. S. and Sangwan-Norreel, B. S. 1989. *In vitro* gynogenesis in *Beta vulgaris* L.: Effects of plant growth regulators, temperature, genotypes and season. *Plant cell, tissue and organ culture*, 17 (1): 1-12.
- Dolcet-Sanjuan, R., Claveria, E. and Garcia-Mas, J. 2004, Cucumber (*Cucumis sativus* L.) dihaploid line production using *in vitro* rescue of *in vivo* induced parthenogenic embryos., In: V International Symposium on *In Vitro* Culture and Horticultural Breeding 725, pp. 837-844, September, Debrecen, Hungary.
- Domblides, E. A., Shmykova, N. A., Belov, S. N., Korottseva, I. B. and Soldatenko, A. V. 2019b. DH-plant production in culture of unpollinated ovules of cucumber *Cucumis sativus* L.. *Vegetable crops of Russia*, 2019 (6): 3-9.
- Domblides, E., Shmykova, N., Khimich, G., Korotseva, I., Kan, L., Domblides, A., ... and Soldatenko, A. 2019a. Production of doubled haploid plants of *Cucurbitaceae* family crops through unpollinated ovule culture *in vitro*. In VI International Symposium on Cucurbits 1294, pp. 19-28, Ghent, Belgium.
- Dryanovska, O. A., and Ilieva, I. N. 1983. *In vitro* anther and ovule cultures in muskmelon (*Cucumis melo* L.). *Dokladi Na Bolgarskata Akademiya Na Naukite*, 36(8): 1107-1110.

- Dumas De Vaultx, R. 1979. Obtention de plantes haploides chez le melon (*Cucumis melo* L.) apres pollinisation par *Cucumis ficifolius* A. Rich. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences. Série D, Sciences naturelles*, 289: 875-878.
- Dunwell, J. M. 1976. A comparative study of environmental and developmental factors which influence embryo induction and growth in cultured anthers of *Nicotiana tabacum*. *Environmental and Experimental Botany*, 16 (2-3): 109-118.
- Dunwell, J. M., Cornish, M. and De Courcel, A. G. L. (1985). Influence of genotype, plant growth temperature and anther incubation temperature on microspore embryo production in *Brassica napus* ssp. *oleifera*. *Journal of experimental botany*, 36(4): 679-689.
- Ebrahimzadeh, H., Shariatpanahi, M. E., Ahmadi, B., Soltanloo, H., Lotfi, M. and Zarifi, E. 2018. Efficient parthenogenesis induction and *in vitro* haploid plant regeneration in cucumber (*Cucumis sativus* L.) using putresin, spermidine, and cycocel. *Journal of Plant Growth Regulation*, 37 (4): 1127-1134.
- Ellialtıoğlu, Ş., Başay, S. and Kuşvuran, Ş. 2012. Patlıcanda polen dimorfizmi ve anter kültürü ilişkisinin incelenmesi. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 5 (1): 149-152.
- El-Maksoud, A., El-Gendy, S. E. and El-Kady, M. M. 2009. Genotypes and genotype× medium composition interaction effects on androgenetic haploid production in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology*, 34 (11): 10305-10312.
- Engin, A. 1991. Tohumlu Bitkiler Sistematigi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Eğitim Fakültesi Yayınları, Samsun, 330 s.
- Erol, M. H. and Sarı, N. 2019. The effect of ovule-ovary culture and spermidine-putresin applications on haploid embryo induction of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Alatarim*, 18 (2), 108-117.
- Erol, M.H., 2018. Hıyarlarda ovül-ovaryum kültürleri ve ışınlanmış polen tekniği ile spermidin ve putresin uygulamalarının haploid embriyo uyartımına etkileri. Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- FAO, 2019. FAOSTAT Statistic Database. <http://www.fao.org> [Erişim Tarihi: 02.03.2021]
- Faris, N. M., Nikolova, V. and Niemirowicz-Szczytt, K. 1999. The effect of gamma irradiation dose on cucumber (*Cucumis sativus* L.) haploid embryo production. *Acta Physiologiae Plantarum*, 21 (4): 391-396.
- Fayos, O., Vallés, M. P., Garcés-Claver, A., Mallor, C. and Castillo, A. M. 2015. Doubled haploid production from Spanish onion (*Allium cepa* L.) germplasm: embryogenesis induction, plant regeneration and chromosome doubling. *Frontiers in plant science*, 6: 384.
- Ferrie, A. M. R. and Caswell, K. L. 2011. Isolated microspore culture techniques and recent progress for haploid and doubled haploid plant production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 104 (3): 301-309.

- Ferrie, A. M. R., Irmen, K. I., Beattie, A. D. And Rossnagel, B. G. 2014. Isolated microspore culture of oat (*Avena sativa* L.) for the production of doubled haploids: effect of pre-culture and post-culture conditions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 116 (1), 89-96.
- Ficcadenti, N., Sestili, S., Annibali, S., Di Marco, M., and Schiavi, M. 1999. *In vitro* gynogenesis to induce haploid plants in melon *Cucumis melo* L. *Journal of Genetics and Breeding*, 53: 255-258.
- Galazka, J., Niemirowicz-Szczytt, K. 2013. Review of research on haploid production in cucumber and other cucurbits. *Folia Horticulturae*, 25 (1): 67-78.
- Gamborg, O. L. 1984. Plant cell culture: nutrition and media. *Cell culture and somatic cell genetics of plants*, 1: 18-26.
- Gemes-Juhasz, A., Balogh, P., Ferenczy, A. and Kristof, Z. 2002. Effect of optimal stage of female gametophyte and heat treatment on *in vitro* gynogenesis induction in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Cell Reports*, 21 (2): 105-111.
- Gemes-Juhasz, A., Venczel, G. and Balogh, P. 1996. Haploid plant induction in zucchini (*Cucurbita pepo* L. convar. giromontiina Duch) and in cucumber (*Cucumis sativus* L.) lines through *in vitro* gynogenesis. In III International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding 447, pp. 623-626, Jerusalem, Israel.
- Germana, M. A. 2011. Anther culture for haploid and doubled haploid production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 104(3): 283-300.
- Gibson, M. S. 1987. Dihaploid plant production from ovule cultures of sugarbeet. *Proc. ND Acad. Sci*, 41: 11.
- Gioffriau E., Kahane R., Rancillac M. 1997. Variation of gynogenesis ability in onion (*Allium cepa* L.). *Euphytica*, 94: 37-44
- Godbole, M. and Murthy, H. N. 2012. Parthenogenetic haploid plants using gamma irradiated pollen in snapmelon (*Cucumis melo* var. momordica). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 109 (1): 167-170.
- Golabadi, M., Ghanbari, Y., Keighobadi, K. and Ercisli, S. 2017. Embryo and callus induction by different factors in ovary culture of cucumber. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 90: 68-75.
- Grozeva, S., Todorova, V., Cholakov, T. and Rodeva, V. 2013. Effect of temperature and growth period of donor plants on pepper anther culture. In Proceedings of the Fourth International Conference, pp. 60-64, 12-16 June, Lozenec, Bulgaria.
- Guha, S. and Maheshwari, S. C. 1964. *In vitro* production of embryos from anthers of *Datura*. *Nature*, 204(4957): 497-497.
- Guha, S. and Maheshwari, S. C. 1966. Cell division and differentiation of embryos in the pollen grains of *Datura in vitro*. *Nature*, 212(5057): 97-98.
- Günay, A., 1993. Özel Sebze Yetiştiriciliği. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Ders Kitabı, Ankara, 40-46
- Gürsöz, N., Abak, K., Pitrat, M., Rode, J. C. and Dumas de Vaulx, R. 1991. Obtention of haploid plants induced by irradiated pollen in watermelon (*Citrullus lanatus*). Cucurbit Genetic Cooperative, Report number: 11, 109-110.

- Haliloglu, K. and Baenziger, P. S. 2003. The effects of age and size of wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture-derived embryos on regeneration of green and albino plantlets. *Israel journal of plant sciences*, 51(3): 207-212.
- Hamidvand, Y., Abdollahi, M. R., Chaichi, M., and Moosavi, S. S. 2013. The effect of plant growth regulators on callogenesis and gametic embryogenesis from anther culture of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences (IJACS)*, 5 (10): 1089-1095.
- Hazem, F. and Golabadi, M. 2018. Use of chemical mutagens for production of inactive pollen grains, embryo rescue, and morphological changes in cucumber. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 42 (1): 11-21.
- Heberle-Bors, E. 1983. Induction of embryogenic pollen grains in situ and subsequent *in vitro* pollen embryogenesis in *Nicotiana tabacum* by treatments of the pollen Donör plants with feminizing agents. *Physiologia Plantarum*, 59 (1): 67-72.
- Heberle-Bors, E. and Reinert, J. 1981. Environmental control and evidence for predetermination of pollen embryogenesis in *Nicotiana tabacum* pollen. *Protoplasma*, 109(3): 249-255.
- Honkanen, J., Aapola, A., Seppänen, P., Törmälä, T., Oy, K., de Wit, J. C., ... and Terra Nigra, B. V. 1990. Production of doubled haploid *Gerbera* clones. *In Vitro Culture, XXIII IHC 300*, 341-346.
- Hooghvorst, I., Torrico, O., Hooghvorst, S. and Nogues Mestres, S. 2020. Parthenogenetic double haploid production in melon 'Piel de Sapo' for breeding purposes. *Frontiers in Plant Science*, 2020 (11): 378.
- Hussain, B., Khan, M. A., Ali, Q. and Shaukat, S. 2012. Double haploid production is the best method for genetic improvement and genetic studies of wheat. *Int J Agro Vet Med Sci*, 6(4): 216-228.
- Ilyushko, M. V. and Romashova, M. V. 2019. Seasonality of androgenetic responses in the anther culture *in vitro* in rice (*Oryza sativa* L.). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*, 54 (3): 557-565.
- Izawa, T. 2021. What is going on with the hormonal control of flowering in plants?. *The Plant Journal*, 105 (2): 431-445.
- Jones, A. M. and Petolino, J. F. 1987. Effects of donor plant genotype and growth environment on anther culture of soft-red winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant cell, tissue and organ culture*, 8 (3): 215-223.
- Kalinin F. S., Davojan N. I. and Mosolygina M. K. 1991. Isolation vitality embryo sacs of plant. Materialy Vsesoyuznoi Konferencii po Selsko Hozyaistvennoi Biotehnologii, pp 69–70, Tselinograd.
- Kara, B. and Sari, N. 2019. Effects of spermidine and putresin applications on haploid plant obtention via ovule culture in sakız and dark green squashes (*Cucurbita pepo* L.). *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 6 (2): 206-213.
- Karaağaç, O. ve Balkaya, A. 2017. Türkiye’de yerel sebze çeşitlerinin mevcut durumu ve ıslah programlarında değerlendirilmesi. *Türktob Dergisi*, 23: 8-15.

- Kasha K.J., Simion E., Oro R., Shim Y.S. 2003. Barley isolated microspore culture protocol. In: Maluszynski M, Kasha KJ, Forster BP, Szarejko I (eds) Doubled haploid production in crop plants: a manual. Kluwer, Dordrecht, pp 43–47.
- Kasnak, C. ve Palamutoğlu, R. 2015. Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 3 (5): 226-234.
- Kernan, Z. and Ferrie, A. M. R. 2006. Microspore embryogenesis and the development of a double haploidy protocol for cow cockle (*Saponaria vaccaria*). *Plant cell reports*, 25 (4): 274-280.
- Khan, P. S. S. V., Vijayalakshmi, G., Raja, M. M., Naik, M. L., Germanà, M. A., and Terry, R. G. 2020. Doubled haploid production in onion (*Allium cepa* L.): from gynogenesis to chromosome doubling. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 142 (1): 1-22.
- Kobayashi, R. S., Sinden, S. L., & Bouwkamp, J. C. (1993). Ovule culture of sweet potato (*Ipomoea batatas*) and closely related species. *Plant cell, tissue and organ culture*, 32(1), 77-82.
- Kristiansen, K., and Andersen, S. B. 1993. Effects of Donör plant temperature, photoperiod, and age on anther culture response of *Capsicum annuum* L.. *Euphytica*, 67 (1), 105-109.
- Kumar, A. A., Mishra, P., Kumari, K. and Panigrahi, K. C. 2012. Environmental stress influencing plant development and flowering. *Front Biosci*, 2012 (4), 1315-1324.
- Kumar, H. A., and Murthy, H. N. 2004. Effect of sugars and amino acids on androgenesis of *Cucumis sativus*. *Plant cell, tissue and organ culture*, 78 (3), 201-208.
- Kumar, H. A., Murthy, H. N., and Paek, K. Y. 2003. Embryogenesis and plant regeneration from anther cultures of *Cucumis sativus* L. *Scientia horticulturae*, 98 (3), 213-222.
- Kumar, H. A., Ravishankar, B. V., and Murthy, H. N. 2004. The influence of polyamines on androgenesis of *Cucumis sativus* L. *European Journal of Horticultural Science*, 69: 201-205.
- Kuo, C. S. 1982. The preliminary studies on culture of unfertilized ovary of rice *in vitro*. *Acta Bot Sin*, 24: 33-38.
- Kurtar, E. S., Sarı, N., and Abak, K. 2002. Obtention of haploid embryos and plants through irradiated pollen technique in squash (*Cucurbita pepo* L.). *Euphytica*, 127(3): 335-344.
- Kurtar, E. S., Balkaya, A., Ozbakir, M. and Ofluoglu, T. 2009. Induction of haploid embryo and plant regeneration via irradiated pollen technique in pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne ex. Poir). *African Journal of Biotechnology*, 8 (21): 5944-5951.
- Kurtar, E. S., Balkaya, A. and Kandemir, D. 2016. Evaluation of haploidization efficiency in winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) through anther culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 127 (2): 497-511.

- Kurtar, E. S., Balkaya, A., Göçmen, M. ve Karaağaç, O. 2017. Hıyara (*Cucumis sativus* L.) anaç olabilecek ümitvar kabak (*Cucurbita* spp.) çeşitlerinde ışınlanmış polen tekniği ile dihaploidizasyon. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 31 (1): 34-41.
- Kurtar, S. E., Balkaya, A. and Ozer, M. O. 2018. Production of callus mediated gynogenic haploids in winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.). *Czech journal of genetics and plant breeding*, 54 (1): 9-16.
- Kwack, S. N., and Fujieda, K. 1988. Somatic embryogenesis in cultured unfertilized ovules of *Cucurbita moschata*. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 57 (1): 34-42.
- Lantos, C., Juhász, A. G., Somogyi, G., Ötvös, K., Vági, P., Mihály, R. and Pauk, J. 2009. Improvement of isolated microspore culture of pepper (*Capsicum annuum* L.) via co-culture with ovary tissues of pepper or wheat. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 97 (3): 285-293.
- Lazar, M. D., Schaeffer, G. W. and Baenziger, P. S. 1984. Cultivar and cultivar x environment effects on the development of callus and polyhaploid plants from anther cultures of wheat. *Theoretical and applied genetics*, 67 (2-3): 273-277.
- Lazarte J. E., Sasser C. C. 1982. Asexual embryogenesis and plantlet development in anther culture of *Cucumis sativus* L. *Hort. Science* 17 (1): 88.
- Li, J. W., Si, S. W., Cheng, J. Y., Li, J. X. and Liu, J. Q. 2013. Thidiazuron and silver nitrate enhanced gynogenesis of unfertilized ovule cultures of *Cucumis sativus*. *Biologia Plantarum*, 57 (1): 164-168.
- Li, J. X., Ge, G. M., Pang, S. M., Fang, G. N., Wu, X. B. And Zhou, H. X. 2012. Study on *in vitro* culture and plantlet regeneration from unpollinated ovary of *Cucumis sativus* L.. *Northern Horticulture*, 23.
- Lichter, R. 1982. Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 105 (5): 427-434.
- Lo, K. H. and Pauls, K. P. 1992. Plant growth environment effects on rapeseed microspore development and culture: a flow cytometric study. *Plant physiology*, 99 (2): 468-472.
- Lotfi, M., Kashi, A. and Onsinejad, R. 1997. Induction of parthenogenetic embryos by irradiated pollen in cucumber. *Acta Hortic.* 492: 323–326
- Lotfi, M., Alan, A. R., Henning, M. J., Jahn, M. M. and Earle, E. D. 2003. Production of haploid and doubled haploid plants of melon (*Cucumis melo* L.) for use in breeding for multiple virus resistance. *Plant cell reports*, 21(11): 1121-1128.
- Lu, C. S., Sharma, H. C. and Ohm, H. W. 1991. Wheat anther culture: effect of genotype and environmental conditions. *Plant cell, tissue and organ culture*, 24 (3): 233-236.
- Maluszynski, M., Kasha, K.J. and Szarejko, I. 2003. Published double haploid protocols in plant species. In: Maluszynski, M., Kasha, K. J., Forster, B.P. and Szarejko, I. (Eds.), *Haploid Production in Crop Plants*. Kluwer Academic Publ. pp. 309–335

- Martinez, L. E., Agüero, C. B., Lopez, M. E. and Galmarini, C. R. 2000. Improvement of *in vitro* gynogenesis induction in onion (*Allium cepa* L.) using polyamines. *Plant Science*, 156(2): 221-226.
- Masuda, K., Kikuta, Y. and Okazawa, Y. 1981. A revision of the medium for somatic embryogenesis in carrot suspension culture. *Journal of the Faculty of Agriculture, Hokkaido University*, 60 (3): 183-193.
- Metwally, E. I., Haroun, S. A. and El-Fadly, G. A. 1996. Interspecific cross between *Cucurbita pepo* L. and *Cucurbita martinii* through *in vitro* embryo culture. *Euphytica*, 90(1): 1-7.
- Metwally, E. I., Moustafa, S. A., El-Sawy, B. I. and Shalaby, T. A. 1998. Haploid plantlets derived by anther culture of *Cucurbita pepo*. *Plant cell, tissue and organ culture*, 52(3): 171-176.
- Min, Z., Li, H., Zou, T., Tong, L., Cheng, J. And Sun, X. 2016. Studies of *in vitro* culture and plant regeneration of unfertilized ovary of pumpkin. *Chinese Bulletin of Botany*, 51 (1): 74.
- Mishra, V. K. and Goswami, R. 2014. Haploid production in higher plant. *Int J Chem Biol Sci*, 1(1): 25-45.
- Mityko J. and Gemes A. J. 2006. Improvement of the haploid technique routinely used for breeding sweet and spice peppers in Hungary. *Acta Agron Hung.* 54: 203–219
- Mohamed, M. F. and Refaei, E. F. S. 2004. Enhanced haploids regeneration in anther culture of summer squash (*Curcubita pepo* L.). *Report-Cucurbit Genetics Cooperative*, 27: 57.
- Moqbeli, E., Peyvast, G., Hamidoghli, Y. And Olfati, J. A., 2013. *In vitro* cucumber haploid line generation in several new cultivars. *As. Pac. J. Mol. Biol. Biotechnology*, 21 (1): 18-25
- Mukhambetzhonov, S. K. 1997. Culture of nonfertilized female gametophytes *in vitro*. *Plant cell, tissue and organ culture*, 48 (2): 111-119.
- Mukhambetzhonov, S. K., Rakhimbaev, I. R., Erezhepov, A. E. and Boguspaev, K. K. 2011. The phenomenon of androgenesis and gynogenesis for haploid production. *Вестник КазНУ. Серия биологическая*, 48 (2): 197-202
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15 (3): 473-497.
- Nguyen, T. T. V. and Chen, J. 2012. Cucumber (*Cucumis sativus* L.) anther culture. *China Cucurbits and Vegetables*, 25 (2): 1-5.
- Niemirowicz-Szczytt, K. and Dumas de Vaulx, R. (1989). Preliminary data on haploid cucumber (*Cucumis sativus* L.) induction. *Cucurbit Genet Coop*, 12: 24-25.
- Nitwatthanakul, N. and Tiraumphon, A. 2018. Effect of induction media on callus formation in un-pollinated ovule culture of three melon cultivars. In XXX International Horticultural Congress IHC2018: II International Symposium on Micropropagation and *In Vitro* Techniques 1285, pp. 103-108, İstanbul, Turkey.

- Ouyang, J. W., He, D. G., Feng, G. H. and Jia, S. E. 1987. The response of anther culture to culture temperature varies with growth conditions of anther-donor plants. *Plant Science*, 49 (2): 145-148.
- Özdemir Çelik B., Demirel E., Onus A. N., 2019, "The effect of heat pretreatments and sucrose concentrations on haploid embryo and plant formation via gynogenesis in cucumber (*Cucumis sativus* L.)", III. Uluslararası Avrasya Tarım ve Doğa Bilimleri Kongresi, pp. 551-556, Antalya,
- Palmer C. D., Keller W. A. 2005. Overview of Haploidy. *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Haploids in Crop Improvement II* (Ed. By Palmer CE, Keller WA and Kasha KH), Springer, Berlin, Heidelberg, 56, pp. 3-7.
- Pavlova, M. K. 1987. Culture of unfertilized gynaecia and seedbuds: Potential and prospects. *Selskohozyaistvennaya Biologiya*, 1: 27-33.
- Plapung, P., Khamsukdee, S., Potapohn, N. and Smitamana, P. 2014a. Screening for cucumber mosaic resistant lines from the ovule culture derived double haploid cucumbers. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 9 (3): 261-269.
- Plapung, P., Khumsukdee, S. and Smitamana, P. 2014b. Development of cucumber lines resistant to Cucumber mosaic virus by ovule culture. *Int. J. Agric. Technol.*, 10 (3): 733-741.
- Przyborowski, J. and Niemirowicz-Szczytt, K. 1994. Main factors affecting cucumber (*Cucumis sativus* L.) haploid embryo development and haploid plant characteristics. *Plant breeding*, 112 (1): 70-75.
- Rao P. S. and Suprasanna P. 1996. Methods to double haploid chromosome numbers. In: Jain S. M., Sopory S. K., Veilleux R. E. (Eds.) *In vitro* haploid production in higher plants, vol 1. Kluwer, Dordrecht, pp 317-339
- Ren, J., Wu, P., Trampe, B., Tian, X., Lübberstedt, T. and Chen, S. 2017. Novel technologies in doubled haploid line development. *Plant biotechnology journal*, 15 (11): 1361-1370.
- Rivas-Sendra, A., Corral-Martínez, P., Camacho-Fernández, C., Porcel, R. and Seguí-Simarro, J. M. 2020. Effects of growth conditions of donor plants and *in vitro* culture environment in the viability and the embryogenic response of microspores of different eggplant genotypes. *Euphytica*, 216 (11): 1-15.
- Rodeva, V. and Cholakov, T. 2006. Influence of some climatic factors in the period of donor plants growing on responsiveness of pepper anthers to embryogenesis. In *The international conference haploids in higher plants III*, pp. 12-15, Vienna, Austria
- Sagi, Z. S., Gajdos, L., Kristof, Z., Vagi, P., Zatykó, L., Gémes Juhasz, A. and Venczel, G. 2004. Production of doubled haploid breeding lines in case of paprika, spice paprika, eggplant, cucumber, zucchini and onion. In *V International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding* 725, pp. 845-854, Debrecen, Hungary.
- Sarıkamış, G. 2016. Sofralarımızın Sağlık Kaynağı Kış Sebzeleri. *TÜRKTOB*. 20: 51-57.

- Sari, N., Abak, K., Pitrat, M., Rode, J. C. and De Vaulx, R. D. 1994. Induction of parthenogenetic haploid embryos after pollination by irradiated pollen in watermelon. *HortScience*, 29 (10): 1189-1190.
- Sauton, A. 1988. Effect of season and genotype on gynogenetic haploid production in muskmelon, *Cucumis melo* L.. *Scientia horticultruae*, 35 (1-2): 71-75.
- Sauton, A. 1989. Haploid gynogenesis in *Cucumis sativus* induced by irradiated pollen. *Cucurbit Genet. Coop. Rpt.* 12: 22-23
- Sauton, A. and De Vaulx, R. D. 1987. Obtention de plantes haploïdes chez le melon (*Cucumis melo* L.) par gynogenèse induite par du pollen irradié. *Agronomie*, 7(2): 141-148.
- Sayılır, A., 2002. Değişik biber çeşitlerinde *in vitro* androgenesis ve haploid bitki oluşumunu uyarıcı bazı etmenler üzerinde araştırmalar, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, İzmir.
- Sevgican, A., 1989. Örtüaltı Sebzeciliği. TAV Yayınları, 19.
- Shail, J. W. and Robinson, R. W. 1987. Anther and ovule culture of Cucurbita. *Cucurbit Genet Coop. Report number*:10, 92.
- Shalaby, T. A. 2007. Factors affecting haploid induction through *in vitro* gynogenesis in summer squash (*Cucurbita pepo* L.). *Scientia horticultruae*, 115 (1): 1-6.
- Shariatpanahi, M. E. and Ramezani, S. S. 2019. Induction of parthenogenetic haploid embryos and production of haploid plants in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Plant Production Research*, 26 (1): 21-33.
- Shoemaker, J. S. 1953. Vegetable growing. John Wiley and sons Inc. London Chalmers Hall Limited. London, 75 (4), p. 332.
- Skalova, D., Navratilova, B., Ondrej, V. and Lebeda, A. 2010. Optimizing culture for *in vitro* pollination and fertilization in *Cucumis sativus* and *C. melo*. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 52 (1): 111-115.
- Smiech, M., Sztangret-Wisniewska, J., Galecka, T., Korzeniewska, A., Marzec, L., Kolakowska, G., ... and Niemirowicz-Szczytt, K. 2008. Potential use of RAPD markers in characteristics of cucumber (*Cucumis sativus* L.) haploids and double-haploids. *Acta Societatis Botanicorum*, 77(1).
- Song, H., Lou, Q. F., Luo, X. D., Wolukau, J. N., Diao, W. P., Qian, C. T., and 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.
- Sorntip, A., Poolsawat, O., Kativat, C. And Tantasawat, P. A. 2017. Gynogenesis and doubled haploid production from unpollinated ovary culture of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Canadian Journal of Plant Science*, 98 (2): 353-361.
- Suprunova, T. and Shmykova, N. 2008. *In vitro* induction of haploid plants in unpollinated ovules, anther and microspore culture of *Cucumis sativus*. In *Cucurbitaceae* 2008. Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of *cucurbitaceae*, pp. 371-374, 21-24 May, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Avignon, France.

- Swaminathan, M. S. and Singh, M. P. 1958. X-ray induced somatic haploidy in watermelon. *Current Science*, 27 (2): 63-64.
- Şeniz, V., Özgür, M., Sivritepe, Ö. and Özer, M. H. 1995. Sebzecilik. Anadolu Üniversitesi Basımevi, Eskişehir.
- Şensoy, F. A. 2011. Biberde (*Capsicum annuum* L.) çeşit, bitki yaşı ve mevsimin haploid bitki eldesinde etkisinin araştırılması. Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya
- Takahata, Y., Brown, D. C. W. and Keller, W. A. 1991. Effect of Donör plant age and inflorescence age on microspore culture of *Brassica napus* L. *Euphytica*, 58 (1): 51-55.
- Tantasawat, P. A., Sorntip, A., Poolsawat, O., Chaowiset, W. And Pornbungkerd, P. 2015. Evaluation of factors affecting embryo-like structure and callus formation in unpollinated ovary culture of cucumber (*Cucumis sativus*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 17 (3).
- Taskin, H., Kemal Yucel, N., Baktemur, G., Çömlekçioğlu, S. and Buyukalaca, S. 2013. Effects of different genotypes and gamma ray doses on haploidization with irradiated pollen technique in watermelon (*Citrullus lanatus* L.). *Canadian Journal of Plant Science*, 93 (6): 1165-1168.
- Thomas, W. T. B., Newton, A. C., Wilson, A., Booth, A., Macaulay, M. and Keith, R. 1999. Development of recombinant chromosome substitution lines-a barley resource. SCRI annual report, Report number: 2000, 99-100.
- Thompson, C.H. and Kelly, W.C., 1957. Vegetable Crops. Mc Graw Hill Book Company, Inc. New York, Toronto, London.
- Thurling, N. and Chay, P. M. 1984. The influence of Donör plant genotype and environment on production of multicellular microspores in cultured anthers of *Brassica napus* ssp. *oleifera*. *Annals of Botany*, 54 (5): 681-693.
- Tiainen, T. 1992. The role of ethylene and reducing agents on anther culture response of tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant cell reports*, 10(12): 604-607.
- Tosca, A., Arcara, L. and Frangi, P. 1999. Effect of genotype and season on gynogenesis efficiency in *Gerbera*. *Plant cell, tissue and organ culture*, 59 (1): 77-80.
- Truong-Andre, I. 1988. In vitro haploid plants derived from pollination by irradiated pollen on cucumber. In Eucarpia meeting on cucurbit genetics and breeding, Montfavet (France), 31 May-2 Jun 1988. INRA.
- Truong-Andre, I. and Demarly, Y. 1984. Obtaining plants by *in vitro* culture of unfertilized maize ovaries (*Zea mays* L.) and preliminary studies on the progeny of a gynogenetic plant. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*, 92 (4): 309-320.
- Tuncer, B., ve Yanmaz, R. 2007. Haploid bitki elde etme yollarından biri: Mikrospor kültürü. *Alatarım*, 6 (2): 1-8.
- TÜİK., 2019. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Urun-Denge-Tablolari-2019-2020-37246>. Erişim Tarihi: 09:02:2022

- Tyrnov V. S. and Alatorceva T. A. 1990. Corn ovaries culture *in vitro* as a model system for study of parthenogenesis. *Materialy II Vsesoyuznogo (USSR) Soveshania. Genetica Razvitiya*, pp 164– 166, Tashkent
- Vavilov, N. I., Vavilov, M. I., Vavilov, N. Í. and Dorofeev, V. F. 1992. *Origin and geography of cultivated plants*. Cambridge University Press.
- Velioğlu S. 2000. Doğal antioksidanların insan sağlığına etkileri. *Gıda*, 25 (3): 167-176.
- Verheul, M. J., Sønsteby, A. and Grimstad, S. O. 2006. Interactions of photoperiod, temperature, duration of short-day treatment and plant age on flowering of *Fragaria x ananassa* Duch. cv. Korona. *Scientia horticulturae*, 107 (2): 164-170.
- Vijverberg, K., Ozias-Akins, P. and Schranz, M. E. 2019. Identifying and engineering genes for parthenogenesis in plants. *Frontiers in Plant Science*, 10: 128.
- Vladislavovna, I. M. 2015. Effect of growing conditions of rice donor plants on anther culture *in vitro*. *J. Agric. Sci. Technol. A*, 5: 686-694.
- Vural, H., Esiyok, D., Duman, İ. 2000. Kültür Sebzeleri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, İzmir.
- Wagner, V. T., Song, Y. C., Matthys-Rochon, E. and Dumas, C. 1989. Observations on the isolated embryo sac of *Zea mays* L.. *Plant Science*, 59 (1): 127-132.
- Wei, A., Du, S., Han, Y., Liu, N. and Zhang, G. 2010. A study on the relationship between cucumber gynogenesis and content of ovary hormones and polyamines. *Acta horticulturae*, (871): 625.
- Wolyn D. J., Nichols B. 2003 *Asparagus* microspore and anther culture. In: Maluszynski M., Kasha K. J., Forster B. P., Szarejko I. (Eds.) *Doubled haploid production in crop plants: a manual*. Kluwer, Dordrecht, pp. 265–273
- Wu, C. H. 2003. *In vitro* culture and embryological studies on unfertilized ovules in Orchidaceae. *Chinese Academy of Sciences*, 25-45.
- Xiaoli, P. 2011, *In vitro* gynogenesis to induce haploid plants in cucumber and construction of genetic map with SSR markers in DH population. Master thesis, Gansu Agricultural University.
- Xie, J. H., Gao, M. W., Cai, Q. H., Liang, Z. Q. and Xue, Q. Z. 1996. Effects of donor plant growth status and preculture temperature on isolated microspore culture ability in japonica rice (*Oryza sativa* L.). *Cereal Research Communications*, 133-138.
- Xie, M., Qin, L. Y., Pan, J. S., He, H. L., Wu, A. Z. and Cai, R. 2005. Flower morphogenesis and microspore development versus anther culture of cucumber. *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica*, 25 (6): 1096.
- Yıldız, Ç. ve Solmaz, İ. 2020. Karpuz genetik kaynaklarında ovül-ovaryum kültürü yöntemiyle haploid bitki elde edilmesi. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 35 (1): 35-42.
- Yılmaz, Ö. 2005. Yazlık kabakta (*Cucurbita pepo* L.) ovaryum kültürü yoluyla haploid bitki elde edilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, 66s.

- Zhan, Y., Chen, J. and Malik, A. A. 2009. Embryoid induction and plant regeneration of cucumber (*Cucumis sativus* L.) through microspore culture. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (2): 221-226.
- Zhou C. and Yang H. Y. 1980 *In vitro* induction of haploid plantlets from unpollinated young ovaries of *Oryza sativa* L.. *Acta Genetica Sinica*, (7): 287–288
- Zhou C. and Yang H. Y. 1981. Induced of haploid plantlets by ovary culture. *Plant Sci. Let.*, (20): 231–237
- Zhu, Y., Sun, D., Deng, Y., Li, W., An, G., Si, W., ... and Liu, J. 2019. Regeneration of double haploid plants from unpollinated ovary cultures of watermelon. <https://www.researchsquare.com/article/rs-4797/v1> [Son Erişim Tarihi: 10.12.2021]
- Znamenskaya, V. V., Podvigina, O. A. and Zhuzhzhhalova, T. P. 1994. Production of new breeding material. *Sakharnaya Svekla*, 6 (8).
- Zou, T., Su, H. N., Wu, Q. and Sun, X. W. 2018. Haploid induction via unfertilized ovary culture in watermelon. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 135 (2): 179-187.
- Zou, T., Song, H., Chu, X., Tong, L., Liang, S., Gong, S., ... and Sun, X. 2020. Efficient induction of gynogenesis through unfertilized ovary culture with winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.). *Scientia Horticulturae*, 264: 109152.



ÖZGEÇMİŞ

ESMANUR DEMİREL

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora	Akdeniz Üniversitesi
2015- 2022	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri A.B.D., Antalya
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2013-2015	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri A.B.D., Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2007-2012	Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Öğretim Görevlisi	Akdeniz Üniversitesi
2015-Devam Ediyor	Kumluca Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Antalya

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1- Demirel E., Onus A. N. (2021). Bazı Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Çeşit ve Tiplerinde Gynogenesis Yolu ile Haploid Embriyo ve Bitki Eldesi. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi, cilt.7, sa.3, ss.360-367.

2- Demirel, E., & Celikli, F. B. (2020). Obtaining polyploid cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants by using different explants. In XXX International Horticultural Congress IHC2018: II International Symposium on Micropropagation and In Vitro Techniques 1285 (pp. 57-62).

Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1- Çelikli, F. B., Demirel, E., & Onus, A. N. (2017). Kavunda (*Cucumis melo* L.) poliploid bitki eldesinde farklı eksplantların etkisinin belirlenmesi. Akademik Ziraat Dergisi, 6, 269-274.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- Özdemir Çelik B., Demirel E., Onus A. N. (2019). the effect of heat pretreatments and sucrose concentrations on haploid embryo and plant formation via gynogenesis in cucumber (*Cucumis sativus* L.). II. Uluslararası Avrasya Tarım ve Doğa Bilimleri Kongresi, Antalya, Türkiye, ss. 551-556

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- Demirel E., Çelikli F. B. , Onus A. N. (2016). farklı eksplantlar kullanılarak elde edilmiş poliploid hıyar (*Cucumis sativus* L.) bitkileri için en uygun eksplantın belirlenmesi. 11. Sebze Tarımı Sempozyumu, Ordu, Türkiye, ss 51

2- İnci N., Akan K., Demirel E. (2016). Türkiye'nin yedi farklı bölgesinde hastalıklı nohut tarlalarından izole edilen nohut antraknozu etmeni *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.'nin fizyolojik karakterizasyonu. III. Ulusal Tarım Kongresi, Afyonkarahisar, Türkiye, 5 – 08 Ekim 2016, ss.53

3- Demirel E., İnci N., Onus A.N. (2016). Günümüz hıyar (*Cucumis sativus* L.) ıslahının genel hedeflerinde aranan kıstaslar. III. Ulusal Tarım Kongresi, Afyonkarahisar, Türkiye, 5 – 08 Ekim 2016, ss.22

4- Özsan T., Demirel E., Onus A.N. (2014). Farklı yetiştirme sistemlerinin brokolide (*Brassica oleracea* var. *italica*). androgenesis üzerine etkisi. 10. Sebze Tarımı Sempozyumu, Tekirdağ, Türkiye, 2- 04 Eylül 2014, ss.62

5- Tantawy İ., Özsan T., Demirel E., ONUS A. N. (2014). Gümüş Nitrat ($AgNO_3$)'ın Marul (*Lactuca sativa* L.) kotiledon eksplantlarında direkt ve indirekt sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi. 10. Sebze Tarımı Sempozyumu, Tekirdağ, Türkiye, 2 – 04 Eylül 2014, ss.51