

**KABUKSUZ ÇEKİRDEK KABAKLARINDA (*Cucurbita pepo* L. var. *styriaca*)  
IŞINLANMIŞ POLENLE TOZLAMA YÖNTEMİ KULLANILARAK HAPLOİD  
ÜRETİMİ**

*Production of haploids in naked seed pumpkins by pollination with irradiated pollen*

Meltem BERBER  
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Kazım ABAK  
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

**ÖZET**

Bu çalışma esas olarak iki amaca yönelik yapılmıştır. Birincisi kabuksuz çekirdek kabaklarında (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*) ışınlanmış polen uyarımıyla haploid bitki elde edilmesi; diğeri de bu amaca yönelik olarak en uygun ışın dozunun araştırılmasıdır. Araştırmada tanık olarak kabuklu tohumlu kabak genotipleri de kullanılmıştır. Toplam on beş genotipin kullanıldığı araştırmada 50, 100 ve 150 Gray ışın dozları denenmiştir. Çalışmada tüm genotiplerde toplam 2073 embriyo elde edilmiştir ve bu embriyoların 979 adedi bitkiye dönüşmüştür. Araştırmada kullanılan tüm genotiplerde haploid embriyo elde edilebilmiş, genotipler arasında önemli fark çıkmamıştır. Denemede test edilen her üç ışın dozu da iyi sonuç vermiştir. Ancak 150 Gray ışın dozundan daha çok haploid bitki elde edilmiştir. Dış koşullara alıştırılan 75 bitkide indirekt yöntemlerle (çiçek tozu varlığı, yaprak ve çiçek özellikleri, stoma yoğunluğu, stomaların bekçi hücrelerinde bulunan kloroplastların sayısı) yapılan gözlemler sonucunda bu bitkilerin %42.6'sının haploid, %57.3'ünün ise diploid olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler;** kabak, *Cucurbita pepo* L., ışınlanmış polen, haploid.

**ABSTRACT**

This study is realised for two basic purposes. First one is to produce haploid plants from naked seed pumpkins (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*) with irradiated pollination technique and the second one is to research the most suitable doses of irradiation for this aim. In the research the shelled seed pumpkin genotypes are also used as control and a total of fifteen genotypes were used as plant material. Three irradiation doses of gamma rays (50, 100 and 150 Gray) were tested. During the study, a total of 2073 embryos are rescued from different genotypes and 979 of these embryos transformed into plants. Haploid embryos are obtained in all of the used material and any important difference has not been observed between genotypes. All three doses of irradiation gave good results in the study. However; more haploid plants are acquired from the 150 Gray. 75 of

---

\* Yüksek Lisans Tezi-MSc. Thesis

plants were acclimatized and cultivated in a plantchimes and ploidy level of there plants were determined using indirect methods (existence of pollens, leaf and flower features, stoma density and chloroplast number in gard cells of stoma). 42.6% of these plants seen to be haploid and 57.3% of them diploid.

**Keywords;** pumpkin, *Cucurbita pepo* L., irradiated pollen, haploid.

## Giriş

Anavatanı Kuzey ve Güney Amerika olan kabaklar (*Cucurbita* spp.) kültüre alınan ilk bitkiler arasında gösterilmektedir (Heiser 1973). *Cucurbita pepo* L. (yazlık kabak); dünya’da 1,5 milyon hektarlık alanda 20 milyon ton, Türkiye’de ise 21 bin hektarlık alanda, 350 bin ton yıllık üretime sahip *Cucurbita* cinsinin ekonomik önemi büyük olan türlerinden biridir (Anonim, 2007). Tüm ılıman ve subtropik bölgelerde yetişen bu türün meyve özellikleri açısından çok farklı çeşitleri bulunduğundan *C. pepo* ssp. *pepo*, *C. pepo* ssp. *fraterna* ve *C. pepo* ssp. *ovifera* olmak üzere 3 alt türü bulunmaktadır (Paris, 2001). *Cucurbita pepo* ssp. *pepo*’nun filogenetik açıdan en genç üyesi olan kabuksuz çekirdek kabakları (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo* var. *styriaca*), ilk olarak 1881 yılında Avusturya’nın güney doğusunda bulunan “Styria” şehrinde kabuklu çekirdek kabaklarında meydana gelen doğal bir mutasyon sonucunda ortaya çıktığı bildirilmektedir (Fruhworth ve Hermetter, 2007).

Kabak türlerinin tarımı esas olarak meyveleri için yapılmaktadır. Bazı ülkelerde ve Türkiye’de tohumları için de yetiştirilmektedir. Kabak tohumları A ve E vitaminleri açısından zengindir. Doymamış yağ oranı da yüksek olduğundan, birçok ülkede yağ üretimi için yetiştirilmekte, ayrıca çerez olarak da tüketilmektedir (Follet 2002). Kabuksuz çekirdek kabakları, yağ üretiminde özellikle tercih edilmekte ve bu nedenle yağlık styrian kabakları (styrian oil-pumpkin) olarak ta isimlendirilmektedir. Yetiştiriciliğinin hayli geniş alanlarda yapılmasına rağmen Türkiye’de çekirdek kabaklarında ve özellikle de kabuksuz çekirdekli kabaklarda mevcut herhangi bir çeşit bulunmamaktadır. Üretimde az veya çok karışıklıklar içeren populasyonlar kullanılmaktadır. Kabak yabancı tozlanan bir bitki olduğu için seleksiyon çalışmaları da uzun sürmektedir. Bu konuda Türkiye’de ilk olarak Abak ve ark. (1990) tarafından seleksiyon çalışmaları başlatılmış ve uzun bir süreçte çeşit adayı hatlar üretilenmiştir.

Embriyo kesesi veya polen çekirdeğindeki gamet hücrelerinden meydana gelen gametofitik kromozom sayısına sahip (n), kısır haploidlerin (Khush ve Virmani, 1996) doğada spontan olarak ortaya çıkma sıklığı çok nadir olup türlere ve hatta genotiplere göre değişmektedir. Bir çok türde de spontan haploidi oluşumuna hiç rastlanmamaktadır. Haploidler klasik ıslah çalışmalarında 8–10 generasyon kendileme ile mümkün olan saflaştırma işlemini 5–6 yıldan 1 yıla indirerek ıslah çalışmalarının daha kısa sürede tamamlanması olanağını sunmaktadır. Bu nedenlerle yeni kuşaklara aktarılamayan haploidlerin üretimini gerçekleştirebilmek amacıyla pek çok yöntem denenmiştir. Temel olarak haploid embriyolar, yumurta hücresi veya embriyo kesesinde bulunan hücrelerden birinin bölünmesiyle (apogami) dişi gametten ya da erkek gametlerden meydana gelmektedir. Otuz yılı aşkın süredir bitki biyoteknolojisinde yaygın olarak uygulanan bu yöntemler erkek

ve dişi gametlerin *in vitro* kültürlerinden haploid bitki elde edilmesi temeline dayanmaktadır (Juhasz ve Jakse 2005). Bitkiye dönüşen haploidlerin ürün vermeleri ve yeni dölleri oluşturabilmeleri için kromozom sayılarının kolhisin gibi bazı kimyasallarla katlanıp iki katına çıkarılması gerekmektedir. Dihaploidizasyon denilen bu yöntemle %100 homozigot saf hatlar elde edilmektedir (Çağlar ve Abak 1999).

Kabakgil bitkilerinde ilk haploidi çalışması Dumas de Vault (1979) tarafından yapılmış ve bu çalışmada *Cucumis melo* L.(2n=24)'nın *Cucumis ficifolius* (2n=48) ile tozlanması yoluyla kavunda ilk haploid bitkiler elde edilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda uzun süre doku kültürü yöntemleri üzerinde durulmuş; hem anterler, hem de ovul ve ovaryumlar *in vitro* kültüre alınarak denenmiştir. Ancak bu çalışmalar sonucunda anter veya ovül kültürü yöntemiyle elde edilen haploidler genetik ve ıslah çalışmalarında kullanılacak düzeyde olmamıştır. Bu nedenle ışınlanmış polenle uyartımla haploid embriyoların elde edilmesi ve bunların bitkiye dönüştürülmesine yönelik başlayan araştırmalar, *Cucurbitaceae* familyası türlerinde de denenmiştir. Bu yöntemle, *Cucurbitaceae* familyasının ilk haploid embriyoları Sauton ve Dumas de Vault (1987) tarafından kavunda elde edilmiştir. Daha sonra aynı teknik hıyarda (Sauton 1989), karpuzda (Gürsöz ve ark.1991), acurda (Yanmaz ve ark 1997) ve kabakta (Kurtar ve ark 2002) denenmiş ve tüm bu bitkilerde başarılı sonuçlar alınmıştır.

Kabak türlerinde şimdiye kadar spontan haploidi oluşumuna ilişkin bilgiye rastlanmamıştır. Kabaklarda haploid bitki elde edilmesi ile ilgili çalışmalar da oldukça azdır. Ayrıca bu türde haploid bitki elde etmek amacıyla anter ve ovül kültürü kullanılarak yapılan birçok çalışmada yeterli düzeyde başarı da sağlanamamıştır (Chambonet ve Dumas de Vault, 1985; Shail ve Robinson, 1987; Kwack ve Fujieda 1988). Daha sonraki çalışmalarda ise haploid bitkiler elde edilebilmiştir (Gémésné ve Venczel, 1996; Metwally ve ark., 1998a; Shalaby 2007). Türkiye'de bu konuda yapılan bir çalışmada da (Kurtar ve ark. 2002) kabakta ışınlanmış polenle tozlama yöntemi kullanarak diğer *Cucurbitaceae* familyası türlerinde olduğu gibi kabakta da olumlu sonuçlar alınmıştır.

Bu çalışmada, ekonomik değeri her geçen gün artan bir ürün olan kabuksuz çekirdek kabaklarında ışınlanmış polenlerle uyartımla haploid embriyo elde edilmesi ve *in vitro* koşullarda bitkiye dönüştürülmesi amaçlanmıştır. Daha önce normal kabuklu tohumlu kabaklarda uygulanan bu yöntemin kabuksuzlarda da çalışıp çalışmayacağı araştırılmış; ayrıca uygulanan farklı ışın dozlarının, haploid embriyo uyartımı üzerine etkileri de incelenmiştir.

## Materyal ve Yöntemler

### Materyal

Çalışmada bitki materyali olarak toplam 15 farklı kabak genotipi kullanılmıştır. Bunlardan on tanesi kabuksuz çekirdekli kabak genotipi olup sekizi Çukurova Üniversitesi'nde yapılmış seleksiyonlarla elde edilmiş, ikisi ise yurtdışından sağlanmıştır. Biri Yabancı Yeşil diğeri Geisdorfer Ölkürbis adlı olan

yabancı çeşitlerin tohumları koyu yeşil renkli, yerli genotipler ise açık yeşil renklidir. Kabuksuz genotiplerin yanında, dördü populasyon biri de çeşit olan (Sakız 5801) beş de kabuklu tohumlara sahip genotip kullanılmıştır.

## **Yöntem**

### **Bitkilerin Yetiştirilmesi**

Bitkilerin yetiştirilmesi amacıyla 21.02.2008 tarihinde ekilen tohumlar, 12.03.2008 tarihinde her genotipten 10 bitki olacak şekilde sıra arası 150 cm, sıra üzeri 80 cm arayla tek sıralı olarak dikilmiştir.

### **Çiçeklerin İzolasyonu, Polenlerin Işınlanması ve Tozlama**

Dişi çiçeğin taç yaprağının uç kısmında başlayan renk değişimi ile ertesi gün açacağını belirlediğimiz dişi çiçekler pens ile kapatılarak izole edilmiştir. Anthesisten bir gün önceki aşamada olan, henüz açılmamış fakat iyi gelişmiş erkek çiçek tomurcukları da seçilerek toplanmış, taç ve çanak yapraklar ayrıldıktan sonra 9 cm çaplı cam petri kaplarına konulmuş ve Co<sup>60</sup> kaynağından gelen 50,100 ve 150 Gray γ ışını uygulamasına alınmıştır. Işınlanmış polenler ertesi sabaha kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir. Işınlama işlemi Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalında yapılmıştır. Işınlamadan sonraki gün sabahın erken saatlerinde, bir gün önce kapatılan dişi çiçekler açılmış ve her bir dişi çiçeğin stigmatına 1–2 erkek çiçek tomurcuğu sürülerek tozlamalar gerçekleştirilmiştir. Tozlamalarda bütün genotiplere ait erkek çiçekler karıştırılarak kullanılmıştır. Tozlamadan sonra yabancı polen girişini engellemek amacıyla tozlanmış dişi çiçekler penslerle yeniden kapatılmıştır. İlerleyen günlerde çiçeklerdeki yumurtalığın gelişme durumu kontrol edilerek, dişi çiçeğin şişkinleşmeye başladığı ve stigmanın kuruduğu dönemde pensler çıkarılmıştır.

### **Embriyoların Çıkarılması ve Kültürü**

Tozlamalardan 25–35 gün sonra hasat edilen meyveler laboratuara getirilmiştir. Laboratuvara gelen meyveler önce çeşme suyuyla yıkanıp kurulanmış; daha sonra steril kabin içerisinde, % 96'lık etil alkol kullanılarak kuru yakma yöntemi ile dezenfekte edilmiştir. Steril kabin içinde kuru yakma sonrası meyveler steril bir bıçak yardımıyla ve içerisindeki tohumlara zarar verilmemesine özen gösterilerek kesilmiştir. Her meyvenin içinden çıkan tohumlar sayılarak steril bir pens ve bisturi yardımıyla tek tek açılmış ve incelenmiştir. Boş (embriyo içermeyen) veya içi tam dolu (çok iri ve diploid olduğu kesin embriyo içeren) olan tohumlar atılmış, olgunlaşmamış embriyolar kurtarılarak E20A (Sauton, 1987) ortamına aktarılmıştır. Bu embriyolar embriyogenesis aşamalarına göre ( globüler, çubuk, kalp, torpedo) gruplandırılmıştır. Embriyoların bitkiye dönüşmesi, köklenip mikroçoğaltım aşamasına gelmesinden sonra besin ortamı olarak daha zengin içerikli olan MS (Murashige ve Skoog, 1962) besin ortamı kullanılmıştır. Tüm kültürler sıcaklığı 25±1°C olan ve fotoperiyodu 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak şekilde hazırlanmış iklim odasında inkübe edilmiştir.

### **İn Vitro Bitki Gelişmeleri ve Dış Koşullara Alıştırma**

MS besin ortamı içeren büyük kavanozlara aktarılan kabak bitkiciklerinden gelişmiş olanlar dış koşullara alıştırılmıştır. Bu amaçla ilk olarak büyük kavanozlarda gelişmesi iyi olan bitkilerin üzerindeki streç filmlere delikler açılmıştır. Bu delikler her gün biraz daha büyütülmüştür. 4–6 gün sonunda streç filmler tamamen açılarak bitkiler küçük saksılarda toprağa aktarılmıştır. Şaşırtma işlemi için ortamdan çıkarılan bitkiciğin köklerine yapışmış olan besin ortamı, köke zarar verilmeden çeşme suyunda yıkanmıştır. Mantar enfeksiyonlarından korumak amacıyla kökleri %0,2 'lik Captan'a daldırıp çıkarılan bitkicikler steril toprağa dikilmişlerdir. Toprak sulanıp, Captan ile ilaçlandıktan sonra saksıların ve bitkilerin üzeri su kaybını engellemek amacıyla plastik örtüyle kapatılmıştır. İlk 24 saat kapalı tutulan bitkiciklerin daha sonra kısmi olarak havalanmaları sağlanmıştır. Gün içinde de kontrol edilerek sulanmıştır. 4.-7. günler sonunda bitkilerin durumuna göre plastik örtü yavaş yavaş kaldırılarak dış koşullara alıştırılan bitkiler bu sürenin sonunda tamamen açık bırakılmıştır. Bu günler içinde de bitkiler, düzenli olarak kontrol edilerek sulanmıştır. Dış koşullara tam olarak alışmış olan bitkiler iklim koşulları sebebiyle (dışarıda sıcaklık çok yüksek olduğu için) araziye aktarılamamış ve büyük saksılara alınarak bina içinde büyütülmüştür.

### **Ploidi Seviyesinin Belirlenmesi ve Morfolojik Gözlemler**

Büyük saksılarda yaklaşık bir ay kadar tutulan bitkilerin bir kısmı (toplam 75 adet) daha sonra plastik seraya dikilmiştir. Seraya dikilen bitkilerin ploidi seviyelerini belirlemek üzere polen tozu varlığı baz alınarak stomaların bekçi hücrelerinde bulunan kloroplastların sayımı yapılmış ve ayrıca birim alandaki ( $\text{mm}^2$ ) stoma sayıları belirlenmiştir.

Haploid ve diploid bitkileri kıyaslamak amacıyla araziye dikilmiş olan bitkilerde ayrıca yaprak genişliği, yaprak uzunluğu, yaprak indeksi, yaprak sap çapı, yaprak sap uzunluğu, erkek çiçek çapı, erkek çiçek uzunluğu özelliklerine bakılarak kıyaslanmıştır.

Araştırmada başarıyı ölçebilmek, genotipler ve ışın dozları arasındaki farklılıkları görebilmek amacıyla meyve tutma oranı, meyve başına ortalama tohum sayıları, toplam embriyo sayısı, meyve başına kurtarılan ortalama embriyo sayıları ve embriyoların bitkiye dönüşüm oranları sayılmış, farklı gelişme safhalarındaki embriyo sayıları (globüler, çubuk, yürek, torpedo) da gözlemlenmiştir.

### **Bulgular ve Tartışma**

Denememizde kullanılan genotiplerin tümünde, her üç ışın dozundan da meyve, tohum ve embriyo elde edilebilmiştir. On beş genotipte tozlanan 175 çiçekten 119 meyve oluşmuştur ve ortalama meyve tutma oranı % 68 olarak bulunmuştur. Polenlere uygulanan 50, 100 ve 150 Gy ışın dozlarında meyve tutma oranlarının birbirine yakın bulunmuştur. Kabuklu tohumlu çekirdek kabağı genotiplerinde meyve tutma oranı, kabuksuz tohumlu çekirdek kabağı genotiplerinden daha fazla bulunmuştur.

Üç farklı ışın dozu kullanılarak ışınlanmış polenlerle yapılan tozlamalar sonucunda elde edilen meyvelerden çıkan tohumların kabuklarının, kabuksuz genotiplerde çok ince bir zar şeklinde kaldığı ve kabuklu genotiplerden çok daha yumuşak olduğu gözlenmiştir. Çoğunlukla kabukların içi boş ya da farklı aşamalarda olgunlaşmış embriyo olanlarla beraber içi dolu tohumlar da aynı meyvede bulunabilmiştir. Bir meyveye düşen ortalama tohum sayısı 247.1 adet/meyve olarak bulunmuştur. Işınlanmış polenlerle tozlanan ve aynı genotipe ait olan meyvelerin ortalama tohum sayıları arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olup olmadığını belirlemek amacıyla standart sapmaları belirlemiştir. Sonuçlar bu farkın önemli olmadığını gösterir nitelikte bulunmuştur. Kabuklu tohumlu çekirdek kabağı genotiplerinde aynı genotipe ait meyveler arasında boyut ve bazılarında renk farkı gözlemlenmekle birlikte meyveden meyveye değişen tohum sayıları arasındaki farklar kabuksuz tohumlu çekirdek kabağı genotiplerinden daha az bulunmuştur. 50 Gy ışın dozuyla tozlanan meyvelerin ortalama tohum sayıları 299.9 adet/ meyve iken, 100 Gy'de 247.9 adet/ meyve, 150 Gy de ise 198.1 adet/meyve'dir. Işın dozu arttıkça ortalama tohum sayısının düştüğü açık şekilde görülmektedir. Işın dozu yükseldikçe polenlerin canlılığında da azalma olabilmekte, bu da doğal olarak tohum oluşumuna yansımaktadır.

Her üç ışın dozuyla tozlanarak elde edilen 119 meyveden 2073 embriyo kurtarılmış olup bir meyveden elde edilen ortalama embriyo sayısı 17.4 olarak bulunmuştur. Meyve başına kurtarılan embriyo 50 Gy ışın dozunda % 17.5, 100 Gy ışın dozunda %22.9, 150 Gy ışın dozunda ise %11.9 olarak hesaplanmıştır. Çağlar ve Abak (1996) hıyarda yaptıkları çalışmada ışın dozunun artmasıyla birlikte embriyo sayısının düştüğünü bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda 50 Gy ışın dozu uygulamasından elde edilen embriyo oranı 100 Gy ışın dozu uygulamasından elde edilen embriyo oranından daha düşük olmuştur. Bunun nedeni 50 Gy ışın dozu uygulamasında meydana gelen fazla sayıdaki diploid olduğu düşünülen olgunlaşmış embriyoların atılması olarak düşünülmektedir.

Kurtarılan 2073 embriyonun %10.96'sı yürek safhasında, %24.29'u globüler safhada, % 27.18'i çubuk safhasında ve % 37.67'si torpedo safhasında bulunmuştur. Ancak bu farklı grup embriyolardan hangilerinde bitkiye dönüşüm oranlarının daha çok, hangilerinde daha az olduğu sayısal bakımdan tam olarak tespit edilememiştir. Bununla birlikte embriyogenesinin daha ileri safhaları olan torpedo ve yürek safhalarında daha yüksek olduğu bir gözlem olarak tespit edilmiştir. Tüm embriyoların bitkiye dönüşüm oranı % 47.2 olarak bulunmuştur. Araştırmamız boyunca elde ettiğimiz embriyoların bitkiye dönüşüm oranları 50 Gy ışın dozu uygulamasında %51.8, 100 Gy ışın dozu uygulamasında %41.5, 150 Gy ışın dozu uygulamasında % 50.7 olarak bulunmuştur. Tüm ışın dozlarında embriyoların bitkiye dönüşüm oranları birbirine yakın bulunmuştur. Araştırmamızda kullanılan tüm genotiplerde embriyo elde edilip bitkiye dönüşüm gerçekleşmekle beraber kabuksuz tohumlu genotiplerin meyve başına kurtarılan embriyo sayıları daha yüksekken, kabuklu tohumlu genotiplerin bitkiye dönüşüm oranlarının daha fazla olduğu görülmektedir. ÇÜZF No.9 genotipi meyve başına embriyo sayısı en

fazla, bitkiye dönüşüm oranı ise en az olan genotip olmuştur. Bunun nedeni ÇÜZF No.9 genotipinden elde edilen embriyoların büyük bir kısmının enfeksiyon nedeniyle ölmesidir. En az kurtarılan embriyo sayısına Edirne genotipi, en fazla bitki dönüşümüne ise Nevşehir genotipi sahip olmuştur. Nevşehir genotipi Edirne'den sonra en az meyve başına kurtarılan embriyo sayısına sahip olan genotiptir. Sonuçlara göre genotipin haploid embriyo uyarımında ve dolayısıyla bitkiye dönüşümünde etkili olduğu görülmektedir. Önceki çalışmalarda da kavun (Sarı ve ark. ,1992), karpuz (Sarı 1994) ve kabakta (Kurtar ve ark., 2002) embriyo uyarımının genotipe göre değiştiği bildirilmiştir.

Elde edilen bitkilerde ploidi düzeyleri direkt yöntemle yapılamamış; haploid ve diploid bitki ayrımları çiçek tozu varlığı, yaprak özellikleri, çiçek özellikleri ve stoma özellikleri incelenerek belirlenmiştir. Bu özellikler oldukça anlamlı sonuçlar vermiş ve elde edilen bulgular daha önce hıyar, kavun, karpuz ve kabakta yapılan çalışmalarda elde edilenlerle büyük paralellik göstermiştir (Sarı ve ark.1992; Çağlar ve Abak 1999; Metwally ve ark., 1998b; Faris ve ark., 1999; Kurtar ve ark. 2002 ) Bu sonuçlara göre dış ortama alınıp yetiştirilen bitkilerden % 42.6'sı haploid, % 57.3'ü diploid olduğu sonucuna varılmıştır. Haploid oranı 50 Gray dozundaki elde edilenlerde % 20.5, 100 Gray dozundan elde edilenlerde % 52.6 ve 150 Gray dozundan elde edilenlerde % 82.4 bulunmuştur.

#### **Sonuç ve Öneriler**

Bu araştırmadan elde edilen bulgular, haploid bitki üretimi için diğer kabakgıl sebzelerinde başarılı şekilde kullanılan ve yazlık kabaklarda da iyi sonuç veren ışınlanmış polenle tozlama yönteminin "kabuksuz çekirdekli kabak (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*)" genotiplerinde de başarılı şekilde uygulanabilmesini göstermiştir.

Kullandığımız on beş genotipte, her üç ışın dozunda da meyve tutumu ve tohum oluşumu gerçekleşmiş ve tüm genotip X ışın dozu kombinasyonlarının embriyo elde edilmiştir.

Kabuklu tohumlu çekirdek kabağı genotipleri ile kabuksuz tohumlu çekirdek kabağı genotipleri arasında meyve tutumu, tohum sayısı embriyo sayıları açısından az da olsa farklılıklar gözlemlenmiştir.

Denenen ışın dozları olan 50, 100 ve 150 Gray arasında meyve başına ortalama tohum sayısı ve meyve başına düşen ortalama embriyo sayıları bakımından önemli farklılıklar çıkmamıştır. Ancak doz azaldıkça oluşan embriyolarda diploid embriyo oranı artmaktadır. 50 Gray ışın dozundan elde edilen bitkilerin çoğu diploid olarak belirlenirken, 150 Gy ışın dozundan elde edilen bitkilerin hemen hemen hepsi haploid olarak belirlenmiştir. Bu nedenle bizim önerimiz bundan sonraki çalışmalarda da en uygun doz olarak 150 Gray ışın dozunun tercih edilmesidir.

Araştırmamızdan çıkan bir önemli sonuç da daha önce Kurtar ve ark. (2002)'nin yapmış olduğu çalışmada en uygun ışın dozu olarak 25 ve 50 Gy'in belirlenmiş olmasına karşılık, bizim çalışmamızda daha yüksek dozlarda daha başarılı sonuçlar elde edilmesidir. Kurtar ve ark. (2002)'nin çalışmasında 75 ve 100

Gy ışın dozlarında çok az tohuma rastlandığı ve bu tohumların da tamamının boş olduğu belirtilmiştir. İki çalışma arasında ortaya çıkan bu farklılığı açıklamak oldukça zor görünmektedir. Bu konuda akla gelen en güçlü olasılık, ışınlamanın yapıldığı yerlerin farklı olması ve ışın dozunu hesaplayan teknisyenlerin hesaplamada bir hata yapmış olabileceğidir.

Denememizde ploidi seviyesini belirlemede kullandığımız indirekt yöntemlere alternatif olan direkt yöntemler (Kromozom sayımı, flow sitometri yöntemi) uygulanamamıştır. Bizim önerimiz daha sonraki çalışmalarda, ploidi seviyesinin belirlenmesi amacıyla günümüzde yaygın ve güvenilirliği yüksek bir yöntem olan flow sitometri tekniğinin tercih edilmesidir.

#### Kaynaklar

- ABAK, K., SAKİN, M., KARAKULLUKÇU, Ş., 1990. Improvement of Pumpkin for Naked Seeds. Abstracts of Contributed Papers. 2: Poster. XXIII. International Horticultural Congress, 31 Aug.- 3 Sept. 1990, Frenze- Italy.
- ANONYMOUS, 2007. FAO Statistical Database, <http://www.fao.org>.
- CHAMBONNET, D., DUMAS DE VAULX, R., 1985. Obtention of embriyos and plant from in vitro culture o un fertilized ovules of *Cucurbita pepo*. Cucurbits Genetic Cooperative Rep., 8: 66.
- ÇAĞLAR, G., ABAK, K., 1999. Hıyarda (*Cucumis sativus* L.) ışınlanmış polenlerle tozlama yoluyla in situ haploid embriyo uyartımı. Tr. J. of Agriculture and Forestry, 23: 63- 72.
- FRUHWIRTH G.O., HERMETTER A., 2007. Seeds and oil of the Styrian oil pumpkin: Components and biological activities. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 109 (2007) 1128–1140.
- DUMAS DE VAULX, R., 1979. Obtention de plantes haploides chez le melon (*Cucumis melo* L.) apres pollinisation par *Cucumis ficifoilus* A. Rich. Comptes Rendus de 1' Academie des Sciences Paris, Serie D, 289, 875–878.
- DUMAS DE VAULX, R., 1979. Obtention de plantes haploides chez le melon (*Cucumis melo* L.) apres pollinisation par *Cucumis ficifoilus* A. Rich. Comptes Rendus de 1' Academie des Sciences Paris, Serie D, 289, 875–878.
- FARİS, N.M., NİKOLOVA, V., NIEMIROWICZ-SZCYTT, K., 1999. The effect of gamma irradiation dose on cucumber (*Cucumis sativus* L.) haploid embryo production. Acta Physiologiae Plantarum Vol.21. No. 4 1999:391–396.
- FOLLET, J., 2002. New Zeland Institute for crop and food research ltd a crown research institute (Broad Sheet) number:70 [www.crop.cri.nz](http://www.crop.cri.nz)
- FRUHWIRTH G.O., HERMETTER A., 2007. Seeds and oil of the Styrian oil pumpkin: Components and biological activities. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 109 (2007) 1128–1140.
- GEMESNE, J.A., VENCZEL, G., 1996. In vitro gynogenesis induction in zucchini (*Cucurbita pepo* L. convar. *giromontiina* Duch) Lines. Proceedeings of the VI. Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding, 200-201.

- GURSOZ, N., ABAK, K., PITRAT, M., RODE, J.C., DUMAS DE VAULX, R., 1991. Obtention of haploid plants induced by irradiated pollen in watermelon (*Citrullus lanatus*). Cucurbit Genetic Cooperative, 11, 109-110.
- HEISER, C.B., 1973. Seed to civilization: The story of man's food. W. H. Freeman and Company, San Francisco 243 p.
- JUHASZ, A.G., JAKSE, M., 2005. Haploids in the Improvement of Miscellaneous Crop Species (Cucurbitaceae, Liliaceae, Asparagaceae, Chenopodiaceae, Araceae and Umbelliferae). Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol.56 Haploids in Crop Improvement (ed. by C.E. Palmer, W.A. Keller, and K.J. Kasha).
- KHUSH, G.S., VIRMANI, S.S., 1996. In vitro haploid production in higher plants. Vol.1, 11-33 (ed. by S.M. Jain, S.K. Sopary ve R.E. Veilleux). Somatic Embryogenesis in Cultured Unfertilized Ovules of *Cucurbita moschata*. J. Japan. Soc. Hort. Sci., 57(1): 34-42.
- KURTAR, E.S., SARI, N., ABAK, K., 2002. Obtention of haploid embryos and plants through irradiated pollen technique in squash (*Cucurbita pepo* L.). Kluwer Academic Publishers. Euphytica 127: 335-344.
- KWACK, N.S., FUJIEDA, K., 1988. Somatic Embryogenesis in Cultured Unfertilized Ovules of *Cucurbita moschata*. J. Japan. Soc. Hort. Sci., 57(1): 34-42.
- METWALLY, E.I., MOUSTAFA S.A, EL-SAWY, B.I., HAROUN, S.A., SHALABY, T.A., 1998. Production of haploid plants from in vitro culture of unpollinated ovules of *Cucurbita pepo*. Plant cell, Tissue and Organ Culture 52: 117-121.
- METWALLY, E.I., MOUSTAFA S.A, EL-SAWY, B.I., SHALABY, T.A., 1998. Haploid plantlets derived by anther culture of *Cucurbita pepo*. Plant cell, Tissue and Organ Culture 52: 171-176.
- MURASHIGE and SKOOG, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Phys., 15, 473-497.
- PARIS, H.S., 2001. Characterization of the *Cucurbita pepo* collection at the Newe Ya'ar Research Center, Israel. PGR Newsletter, FAO -Bioversity. Issue No.126, 41- 45.
- SARI, N., ABAK, K., PITRAT, M., DUMAS DE VAULX, R., 1992a. Kavunlarda (*Cucumis melo* L. var. *inodorus* Naud ve *C. Melo* L. var. *reticulatus* Naud) partenogenetik haploid embriyo uyartımı ve bitki eldesi. Doğa-Tr. J. of Agriculture and Forestry 16, 302-314.
- SARI, N., 1994. Karpuzlarda ışınlanmış polen uyartımıyla haploid bitki eldesi üzerine genotipin ve mevsimin etkisi ile ışınlama yerine geçebilecek uygulamalar üzerine araştırmalar. Doktora tezi, Ç.Ü. Fen Bil. Ens., Adana, 244 s.
- SAUTON, A., 1987. Recherche d'Haploides chez le Melon (*Cucumis melo* L.): Etude et Application à la Sélection de la Parthénogenèse Induite par du Polen

- Irradié. Thèse (Docteur Nouveau Régime), Spécialité: et Techniques du Languedoc, Montpellier, 123 p.
- SAUTON, A., DUMAS DE VAULX, R., 1987. Obtention de plantes haploides chez le melon (*Cucumis melo* L.) par gynogénèse induite par du pollen irradié. *Agronomie*, 7 : 141–148.
- SAUTON, A.,1989. Haploid gynogenesis in *Cucumis sativus* induced by irradiated pollen. *Cucurbit Genetics Cooperative*, 12: 22–23.
- SHAIL, J.W., ROBINSON, R.W.,1987. Anther and ovule culture of *Cucurbita*. *Cucurbit Genetic Coop.*,10,92.
- SHALABY, T.A.,2007. Factors affecting haploid induction through in vitro gynogenesis in summer squash (*Cucurbita pepo* L.).*Scientia Horticulturae*, 115, 1-6.
- YANMAZ,R.,ELLIALTIOGLU,S.,TANER,K.Y.,1997. The effects of gama irradiation on pollen viability and haploid plant formation in snake cucumber (*Cucumis melo*L.var.*flexuosus* Naud.). Proceedings of the first international symposium on cucurbits. (Editors K. Abak& S. Büyükalaca) *Acta Horticulturae* 492, 307-310.