

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

**DİYARBAKIR KARPUZ GENOTİPLERİNİN (*Citrullus lanatus* cv.  
'BEYAZKIŞ', 'KARAKIŞ' ve 'SÜRME') MİKROÇOĞALTILMASI ÜZERİNE  
BİYOTEKNOLOJİK ARAŞTIRMALAR**

**Veysi OKUMUŞ**




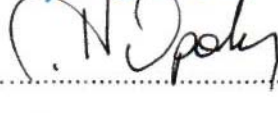
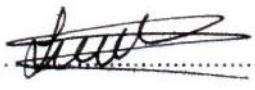
**(DOKTORA TEZİ)**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİYARBAKIR**  
**NİSAN-2010**

T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ  
DİYARBAKIR

Veysi OKUMUŞ tarafından yapılan “Diyarbakır Karpuz Genotiplerinin (*Citrullus lanatus* cv. "Beyazkış", "Karakış" ve "Sürme") Mikroçoğaltılması Üzerine Biyoteknolojik Araştırmalar” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesinin

	<u>Ünvanı</u>	<u>Adı Soyadı</u>	<u>İmzası</u>
Başkan :	Prof. Dr. Davut BAŞARAN (Danışman).....		
Üye :	Prof. Dr. Tahsin KILIÇOĞLU.....		
Üye :	Prof. Dr. Ahmet ONAY.....		
Üye :	Yrd. Doç. Dr. Yeşim OPAK-KARA.....		
Üye :	Yrd. Doç. Dr. Süreyya NAMLI.....		

**Tez Savunma Sınavı Tarihi : 09 / 04 / 2010**

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

/ / 2010

Prof. Dr. Hamdi TEMEL

Enstitü Müdürü

## İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>I</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>III</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>V</b>
<b>KISALTMA VE SİMGELER</b> .....	<b>VII</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR</b> .....	<b>5</b>
2.1. Karpuz Hakkında Genel Bilgiler .....	5
2.1.1. Anavatanı ve Tarihçesi .....	5
2.1.2. Sistematığı .....	5
2.1.3. Besin Değeri .....	6
2.2. Diyarbakır Karpuzunun Önemi ve Geleneksel Yetiştirme Teknikleri .....	7
2.2.1. Diyarbakır Karpuzunun Önemi .....	7
2.2.2. Diyarbakır Karpuzunun Geleneksel Yetiştirme Teknikleri .....	9
2.2.2.1. Kuyuların Hazırlanması .....	10
2.2.2.2. Karpuz Fidelerinin Hazırlanması .....	10
2.2.2.3. Kuyularda Fide Yatağının Hazırlanması ve Fidelerin Dikimi .....	10
2.2.2.4. Gübreleme .....	11
2.2.2.5. Bakım İşleri .....	11
2.2.2.6. Hasat İşlemi .....	11
2.2.2.7. Yetiştirilen Karpuz Çeşitleri ve Özellikleri .....	12
2.3. Bitki, Hücre ve Doku Kültürü Teknikleri .....	13
2.4. Karpuzla İlgili Yapılmış Çalışmalar .....	16
2.4.1. İn Vitro Rejenerasyon Çalışmaları .....	16
2.4.2. Tetraploid Karpuz Üzerine Yapılmış Çalışmalar .....	22
<b>3. MATERYAL VE METOD</b> .....	<b>28</b>
3.1. Materyal .....	28
3.1.1. Proliferasyonda Kullanılan Eksplant Tipleri .....	28
3.1.2. Sitolojik Gözlemler İçin Kullanılan Eksplant Tipleri .....	29
3.2. Metod .....	29
3.2.1. Kültür Ortamının ve Büyüme Düzenleyicilerinin Hazırlanması .....	29
3.2.1.1. Besi Ortamlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu .....	29
3.2.1.2. Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Stok Çözeltilerinin Hazırlanması .....	32
3.3. Sterilizasyon Teknikleri .....	33
3.3.1. Sıcaklıkla Sterilizasyon .....	33

3.3.2. Filtrasyon ile Sterilizasyon .....	33
3.3.3. Kullanılan Aseptik Yöntemler.....	33
3.3.4. Sterilizasyonun Korunumu .....	34
3.3.5. Pamuk ve Filtre Kağıtlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu.....	34
3.3.6. Cam Malzemelerin Sterilizasyonu.....	34
3.3.7. Penset ve Bistürilerin Hazırlanması ve Sterilizasyonu .....	34
3.4. Kültür Şartları .....	34
3.4.1. Büyüme Odası Koşulları .....	34
3.5. Genel değerlendirme .....	35
3.6. Sterilizasyon Tekniklerinin Geliştirilmesi Çalışmaları.....	35
3.6.1.Karpuz Tohumları ve Tarlada Yetiştirilmiş Karpuz Bitkisi Apikal Uçlarının Sterilizasyonuna NaOCI'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi.....	36
3.6.2.Karpuz Tohumları ve Tarlada Yetiştirilmiş Karpuz Bitkisi Apikal Uçlarının Sterilizasyonuna NaOCI'de Optimum Bekletme Süresinin Tespiti .....	36
3.7. Kültür Başlatılması Çalışmaları.....	36
3.7.1. Karpuz Tohumlarının Çimlenmesi ve Fidelerin Gelişmesi İçin En Uygun BBD Ortamının Tespit Edilmesi.....	37
3.7.2. Kültür Başlatılmasına Farklı Eksplant Tiplerinin Etkisi.....	37
3.7.3. Kültür Başlatılmasına Sitokinlerin (BA, Kin) Etkisi .....	37
3.7.4. Kültür Başlatılmasına Eksplant Yaşının Etkisi.....	38
3.7.5. Kültür Başlatılmasına MS Besi Ortam Konsantrasyonunun Etkisi .....	38
3.7.6. Kültür Başlatılmasına Karbon Kaynaklarının Etkisi .....	38
3.7.7. Kültür Başlatılmasına Farklı Sakkaroz Konsantrasyonlarının Etkisi.....	38
3.8. Sürgün Proliferasyonu Çalışmaları.....	39
3.8.1. Sürgün Proliferasyonuna BA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi.....	39
3.8.2. Sürgün Proliferasyonuna Kinetinin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi .....	40
3.8.3. Sürgün Proliferasyonunu İyileştirme Çalışmaları.....	40
3.8.3.1. BA+Oksin Karışımının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi .....	40
3.8.3.2. BA ve BA+IBA Ortamlarında, Alt Kültür Sayısının, Sürgün Proliferasyonuna ve Rozet Sürgün Oluşumuna Etkisi.....	40
3.8.3.3. Sürme'de BA+Aminoasit Karışımının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi .....	41
3.8.3.4. Sürme'de BA+Aminoasite, Poliamin İlavesinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi.....	41
3.9. Köklendirme Çalışmaları.....	41
3.9.1. Köklenmeye IBA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi.....	42
3.9.2. Köklenmeye IAA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi .....	42
3.9.3. Köklenmeye NAA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi.....	42
3.10. Aklimatizasyon Çalışmaları .....	42
3.11. Mikroçoğaltılmış ve Tohumdan Elde Edilmiş Bitki ve Karpuzların Karşılaştırılmaları .....	43
3.11.1. Bitki Boyu ve Boğum Sayısı Bakımından Karşılaştırma .....	43

3.11.2. Ürün Verimi Yönünden Karşılaştırma.....	43
3.11.3. Şeker İçeriği Yönünden Karşılaştırma.....	43
3.12. Tetraploid Bitki Elde Edilmesi.....	44
3.12.1. İn vivo Koşullarda Tetraploid Bitkiler Elde Edilmesi Araştırmaları.....	44
3.12.2. İn vitro Koşullarda Tetraploid Bitkiler Elde Edilmesi Araştırmaları.....	44
3.13. Ploidi Seviyesinin Belirlenmesi.....	45
3.14 İstatistiksel Analiz (Verilerin Değerlendirilmesi).....	45
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>46</b>
4.1. Sterilizasyon Tekniklerinin Geliştirilmesi Çalışmaları.....	46
4.1.1.Tohumların Sterilizasyonuna NaOCI'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi.....	46
4.1.2.Tohumların Sterilizasyonuna NaOCI'de Optimum Bekletme Süresinin Tespiti.....	48
4.1.3. Tarlada Yetiştirilmiş Karpuz Bitkisi Apikal Uçlarının Sterilizasyonuna NaOCI'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi.....	49
4.1.4. Tarlada Yetiştirilmiş Karpuz Bitkisi Apikal Uçlarının NaOCI'deki Sterilizasyon Sürelerinin Tespiti.....	50
4.1.5. Sterilizasyon Çalışmaları ile İlgili Genel Değerlendirme.....	51
4.2. Kültür Başlatılması Çalışmaları.....	53
4.2.1. Karpuz Tohumlarının Çimlenmesi ve Fidelerin Gelişmesi İçin En Uygun BBD Ortamının Tespit Edilmesi.....	53
4.2.2. Kültür Başlatılmasına Farklı Eksplant Tiplerinin Etkisi.....	54
4.2.3. Kültür Başlatılmasına Sitokinlerin (BA, Kin) Etkisi.....	56
4.2.4. Kültür Başlatılmasına Eksplant Yaşının Etkisi.....	57
4.2.5 Kültür Başlatılmasına MS Besi Ortam Konsantrasyonunun Etkisi.....	58
4.2.6. Kültür Başlatılmasına Karbon Kaynaklarının Etkisi.....	59
4.2.7. Kültür Başlatılmasına Farklı Sakkaroz Konsantrasyonlarının Etkisi.....	61
4.2.7. Kültür Başlatılması Çalışmaları ile İlgili Genel Değerlendirme.....	62
4.3. Sürgün Proliferasyonu Çalışmaları.....	64
4.3.1. Sürgün Proliferasyonuna BA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi.....	64
4.3.2. Sürgün Proliferasyonuna Kinetin'in Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi.....	66
4.3.3. Sürgün Proliferasyonunu İyileştirme Çalışmaları.....	68
4.3.3.1. BA+Oksin Karışımının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi.....	68
4.3.3.2. BA ve BA+IBA Ortamlarında, Alt Kültür Sayısının, Sürgün Proliferasyonuna ve Rozet Sürgün Oluşumuna Etkisi.....	69
4.3.3.3. Sürme'de BA+ Aminoasitin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi.....	71
4.3.3.4. Sürme'de BA+Aminoasite Poliamin İlavesinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi.....	73
4.3.3.5. Sürgün Proliferasyonu İle İlgili Genel Değerlendirme.....	74
4.4. Köklendirme Çalışmaları.....	77
4.4.1. Köklenmeye IBA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi.....	77

4.4.2. Köklenmeye IAA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi .....	79
4.4.3. Köklenmeye NAA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi .....	81
4.4.3. Köklendirme Çalışmaları İle İlgili Genel Değerlendirme .....	83
4.5. Aklimatizasyon Çalışmaları .....	85
4.5.1. Aklimatizasyon İle İlgili Genel Değerlendirme.....	87
4.6. Mikroçoğaltılmış ve Tohumdan Elde Edilmiş Bitki ve Karpuzların Karşılaştırılmaları .....	89
4.6.1. Bitki Boyu ve Boğum Sayısı Bakımından Karşılaştırma .....	89
4.6.2. Ürün Verimi Yönünden Karşılaştırma.....	90
4.6.3. Şeker İçeriği Yönünden Karşılaştırma.....	91
4.6.4. Mikroçoğaltılmış ve Tohumdan Elde Edilmiş Bitki ve Karpuzların Karşılaştırılmaları İle İlgili Genel Değerlendirme .....	92
4.7. Tetraploid Bitki Elde Edilmesi ve Ploidi Seviyesinin Belirlenmesi .....	92
4.7.1. İn vivo Koşullarda Tetraploid Bitkiler Elde Edilmesi Araştırmaları .....	93
4.7.2. İn vitro Koşullarda Tetraploid Bitkiler Elde Edilmesi Araştırmaları.....	94
4.7.3. Ploidi Seviyesinin Belirlenmesi.....	95
4.7.4. Tetraploid Bitki Elde Edilmesi ve Ploidi Seviyesinin Belirlenmesi İle İlgili Genel Değerlendirme .....	98
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>101</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>104</b>
<b>7. TABLOLAR DİZİNİ .....</b>	<b>116</b>
<b>8. RESİMLER DİZİNİ.....</b>	<b>118</b>
<b>9. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>119</b>

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın hazırlanması sırasında engin bilgi ve tecrübeleriyle beraber sabrını da benden hiçbir zaman esirgemeyen, örnek bilim adamı, danışman hocam ve Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoteknoloji Anabilim Dalı Başkanı, sayın Prof.Dr. Davut BAŞARAN'a verdiği değerli öğütleri ve ihtiyaç duyduğum her konuda gösterdiği ilgi için sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım

Tez çalışmalarım sırasında, ihtiyacım olduğu her an, tecrübelerini ve değerli zamanını benden esirgemeyen Prof.Dr. Ahmet ONAY'a yakın ilgi ve değerli katkılarından dolayı en içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım esnasında çok değerli yardım ve desteklerini gördüğüm sayın hocalarım Yrd. Doç Dr. Süreyya NAMLI ve Yrd. Doç Dr. Çiğdem IŞIKALAN ile literatürlerinden faydalandığım Yrd. Doç Dr. Vedat PİRİNÇ'e teşekkürlerimi sunarım.

Kimyasal analiz laboratuvarındaki deneysel çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen ve HPLC ölçümlerini gerçekleştiren, değerli dostum Arş.Gör. Ersin KILINÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tarla çalışmalarının büyük kısmını gerçekleştiren Diyarbakır Merkeze bağlı Güleçoba köyünden Abdurrahim DEMİREL'e teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarım ve tez yazımı sırasında, manevi desteklerini esirgemeyen eşim Dilek OKUMUŞ'a fedakarlığı için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım için bana laboratuvar imkanı sağlayan D.Ü. Fen Fakültesi Dekanlığına ve Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne teşekkürlerimi sunarım.

Bu alışma, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından DÜBAP 07-02-14 numaralı proje ile desteklenmiştir.



## ÖZET

Bu çalışmada bölgemizi istila eden yabancı hibrit tohumlar yüzünden yok olma tehlikesiyle karşı karşıya bulunan yerel Diyarbakır karpuz genotiplerinin (*Citrullus lanatus* cv. 'Beyazkış', 'Karakış' ve 'Sürme') hızlı bir şekilde in vitro mikroçoğaltımı için uygun bir protokol geliştirmek ve bu karpuz genotiplerinden tetraploid hatlar elde edilmesi amaçlanmıştır.

Mikroçoğaltım için kültüre alınacak olan tohumların yüzey sterilizasyonu, %4'lük NaOCl içinde 'Karakış' ve 'Sürme'de 10, 'Beyazkış'ta 15 dakika boyunca çalkalanarak yapılmış ve tohumlar çimlenme için MS besiyerinde (Murashige and Skoog, 1962) kültüre alınmıştır. Diyarbakır karpuz tiplerinin 5 günlük in vitro fidelerinden, 3 haftalık kültür sonucu sürgün uçları elde edilmiştir. Sürgün proliferasyonu için test edilen sitokininler (BA, kinetin) içerisinde 'Sürme' için 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>; 'Karakış' ve 'Beyazkış' için 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA içeren, 7 gl<sup>-1</sup> agar ve 30 gl<sup>-1</sup> sakkaroz içeren, 1:1 konsantrasyonunda MS besi ortamının en iyi sonucu verdiği saptanmıştır. Ekonomik olarak en fazla öneme sahip olan 'Sürme' tipinde sürgün proliferasyonuna, ayrıca beş farklı aminoasit (lösin, metiyonin, triptofan, valin, alanin) ve üç farklı poliaminin (spermin, spermidin, putresin) etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda 'Sürme' tipinde 100 µM metiyonin ve 50 µM spermini birlikte içeren besi ortamının sürgün veriminde çok etkili olduğu gözlenmiştir.

İn vitro elde edilen sürgünlerin köklendirilme çalışmalarında test edilen oksinler (IBA, IAA ve NAA) içerisinde en iyi köklenmenin, her üç karpuz tipinde de 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA içeren MS besiyerinde olduğu saptanmış ve bu ortamdaki sürgünlerden, 'Beyazkış'ta % 76, 'Karakış'ta % 91 ve 'Sürme'de % 95 oranında köklenme elde edilmiştir. İn vitro köklendirilen sürgünler tarlaya başarılı bir şekilde aktarılmıştır. Mikroçoğaltılmış bitkilerden ve direkt tohumdan elde edilmiş karpuzlar ürün verimi ve şeker içeriği yönünden mukayese edilmiş, ancak önemli bir farklılık gözlenmemiştir.

Tetraploid karpuz bitkisi elde etmek için hem in vivo hem de in vitro yöntemler denenmiştir. Ploidi seviyesi stoma bekçi hücrelerindeki kloroplastların sayılması ve taze yaprakta toplam DNA miktarının spektrofotometrik olarak tespit edilmesiyle belirlenmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre tetraploid bitki elde etmek için her üç karpuz tipinde de *in vitro* yöntemlerin daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Tohumun % 0.03 kolşisinli MS ortamında çimlenmesiyle poliploidi oranı 'Sürme'de %27, 'Karakış'ta % 23.5, 'Beyazkış'ta ise %16.2 olarak gerçekleştirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Karpuz, *in vitro*, mikroçoğaltım ve tetraploid

## SUMMARY

The objective of this study was to develop a micropropagation protocol for three diploid Diyarbakır watermelon types (*Citrullus lanatus* cv. ‘Beyazkış’, ‘Karakış’ and ‘Sürme’), because these types are prone to extinction due to pollinisation with hybrid seeds. It was also aimed to obtain tetraploid lines from the cultured diploid lines.

The seeds, after removing seed coat, were surface disinfected by shaking on a shaker for 10-15 min in 4% of NaOCl followed by three times rinses with sterile water and cultured on MS medium (Murashige and Skoog, 1962) to germinate. Shoot tips were obtained from the diploid Diyarbakır watermelon types by culturing in vitro grown seedlings (5-day-old) on shoot regeneration medium for 3 weeks. Optimum concentration of BA for adventitious shoot regeneration among the cytokinins (BA and Kin) tested was determined as 1.0 mg l<sup>-1</sup> BA for ‘Karakış’ and ‘Beyazkış’, and 0.5 mg l<sup>-1</sup> BA for ‘Sürme’. Axenic regenerants of ‘Sürme’, which is commonly grown in the region, was also tested with five different amino acids (leusine, methionine, triptophan, valine, alanine) and three different polyamines (spermine, spermidine, putrescine) in order to increase shoot proliferation. Shoot proliferation was the best in MS medium containing 100 µM methionine together with 50 µM spermine.

For the rooting of in vitro regenerated shoots, 1.0 mg l<sup>-1</sup> IBA gave the best results among the cytokinins (IBA, IAA and NAA) tested for the three watermelon types. 76%, 91% and 95% of rooting were achieved when the medium was supplemented with 1.0 mg l<sup>-1</sup> IBA for the three genotypes, ‘Beyazkış’, ‘Karakış’ and ‘Sürme’, respectively. The acclimatised plantlets were readily transplanted to the field. Yield and main soluble sugar of experimental types were determined, but there was no statistically significance for the seeded and transplanted watermelon.

In order to obtain polyploidy, both in vivo and in vitro methods were studied. Ploidy levels were determined by stomatal chloroplasts number, and the total DNA amount were recorded with spectrophometric determination to screen a large number of plants for ploidy levels. As a result of this study it reported that in vitro methods are more suitable than in vivo methods to obtain tetraploid lines for the watermelon

types studied. In addition to this, it was also reported that the doubling with 0.03% colchicine was 16.2%, 23.5% and 27.0% for 'Beyazkış', 'Karakış' and 'Sürme', respectively.

**Key words:** Watermelon, *in vitro*, micropropagation and tetraploid

## KISALTMA VE SİMGELER

MS	: Murashige ve Skoog
BA	: 6-Benzil adenin
Kin	: Kinetin
NAA	: Naftalen asetik asit
IAA	: İndol asetik asit
IBA	: İndol bütirik asit
2,4-D	: 2,4-Diklorofenoksi asetik asit
TDZ	: Thidiazuron
IPA	: Indol-3-propionik asit
Zea	: Zeatin
GA <sub>3</sub>	: Gibberellik asit
2ip	: İzopentil adenin
mg	: Miligram
g	: Gram
kg	: Kilogram
µgm <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	: Mikrogram/Mililitre
mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	: Miligram / Litre
g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	: Gram / Litre
w/v	: Ağırlık / Hacim
v/v	: Hacim/Hacim
µm	: Mikrometre
mm	: Milimetre
cm	: Santimetre
µM	: Mikromolar
BBD	: Bitki Büyüme Düzenleyicileri
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
NaOCl	: Sodyum hipoklorit
Ca(OCl) <sub>2</sub>	: Kalsiyum hipoklorit
HgCl <sub>2</sub>	: Civa klorür
AgNO <sub>3</sub>	:Gümüş nitrat
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit

## 1. GİRİŞ

Beslenme ve insan sağlığı açısından önemli bir yere sahip olan karpuz, iştah açıcı ve sıcak havalarda ideal bir serinletici olup, lezzeti ve tadından dolayı dünyanın her yerinde büyük bir beğeniyle tüketilir. Karpuz yüksek vitamin (A ve C) ve mineral (Ca, Fe, K) içeriğinden dolayı önemli bir meyvedir. Karpuzda bol miktarda bulunan çözünür lifler kolesterolü düşürerek kalp hastalığı riskini azaltmanın yanında sindirime yardımcı olarak kabızlık ve hemoroid gibi hastalıkları önlemede de etkilidir (**İbrahim ve ark., 2009**). Karpuz karaciğeri temizleme ve diüretik etkisi sebebiyle de böbrekleri alıştırma özelliğine sahip olup etli kısmı potansiyel bir antioksidant olan ve insanda prostat, pankreas, sindirim yolları, akciğer ve mide kanseri riskini azaltan likopen bakımından da zengindir (**Giovannucci, 1999; Katherine ve ark., 2008**). Karpuz çekirdekleri de içinde bulunan Cucurbocitrin adlı maddeyle tansiyonu düşürmeye ve böbrek fonksiyonlarının düzenlenmesine yardımcı olur (**Gargill ve ark 1931**).

Karpuz dünyada en yaygın yetiştirilen meyvelerden biridir ve küresel tüketimi diğer bütün kabakgil meyvelerinden daha fazladır (**Gichimu ve ark., 2009**). Çin dünya karpuz üretiminde en yüksek paya sahip olmasının yanında üretimini her yıl yüksek miktarlarda arttırmaktadır. Türkiye'nin yıllık karpuz üretimi ise yıllardır aynı seviyelerde bulunmaktadır (**Tablo 1**). Çin, dünyadaki toplam üretimin (2008 yılında 99.194.000 ton) yaklaşık % 70'ini tek başına karşılamaktadır. 2008 yılı karpuz üretimi verilerine göre 67.202.000 ton ile Çin ilk sırada, Türkiye 4.002.000 ton ile ikinci sırada yer alırken, bu iki ülkeyi sırasıyla 3.400.000 ton ile İran, 1.793.000 ton ile ABD ve 1.485.000 ton ile Mısır izlemektedir (**Anonymus, 2008**).

Türkiye'nin karpuz ihraç ettiği önemli ülkeler Almanya, Romanya, Polonya, ve Suudi Arabistan'dır. Türkiye'nin 2002 yılındaki toplam karpuz ihracatının %39,5'i Almanya ve Romanya'ya yapılmıştır. Almanya karpuz ihracatında en önemli ülke konumundadır. Türkiye'nin dünya karpuz ihracatı ve ithalatından aldığı pay oldukça düşük seviyededir (**Taşkaya 2004**).

**Tablo 1.** Dünya karpuz üretiminin yıllara ve ülkelere göre dağılımı (ton)

Yıllar	Türkiye	Çin	Mısır	İran	ABD	Meksika	Dünya
2000	3.900.000	51.821.168	1.785.280	1.650.040	1.686.700	1.048.529	76.535.082
2001	4.020.000	57.508.382	1.446.900	1.815.746	1.843.750	969.518	82.944.428
2002	4.575.000	62.041.789	1.720.663	2.170.000	1.795.540	857.806	90.422.926
2003	4.215.000	58.338.270	1.705.038	1.210.630	1.733.670	952.212	87.289.487
2004	3.825.000	57.830.365	1.588.528	2.526.406	1.672.930	1.003.488	87.833.969
2005	3.970.000	60.105.920	1.500.000	3.259.411	1.741.920	864.766	90.176.238
2006	3.805.306	62.691.322	2.025.190	2.866.324	1.908.390	976.773	93.709.170
2007	3.796.680	66.454.773	1.630.000	3.300.000	1.944.490	1.058.848	97.434.562
2008	4.002.285	67.202.275	1.485.939	3.400.000	1.793.990	1.119.711	99.194.223

Kaynak: (Anonymus, 2008).

Ülkemiz karpuzda lokal genotipler bakımından değerli genetik kaynaklara sahip olup karpuz üretimi başta Akdeniz olmak üzere, Ege, İç Anadolu, Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve hemen hemen bütün Anadolu’da yıl boyunca yapılmaktadır (Sarı ve ark., 2007). Türkiye’de 2008 yılı verilerine göre toplam karpuz üretimi 4.002.285 ton olup Diyarbakır’daki toplam karpuz üretimi ise 258.639 ton ile önemli bir konuma sahip olmakla birlikte (Anonim, 2008a) üretim maalesef uzun yıllardır arttırılamamıştır (Tablo 2). Ülkemizde hibrit tohumlardan yetiştirilen karpuz ağırlıkları genellikle 5-10 kg arasında olmasına rağmen, Diyarbakır karpuz çeşitleri daha iri olmakta, özellikle ‘Sürme’ çeşidi 50 kg’a kadar büyümektedir (Anonim, 2008b).

**Tablo 2.** Türkiye ve Diyarbakır’da karpuz üretiminin yıllara göre dağılımı (ton) ve Diyarbakır’ın toplam üretimdeki payı

Yıllar	Türkiye (ton)	Diyarbakır (ton)	Diyarbakır %
2000	3.940.000	242.325	6.15
2001	4.020.000	279.680	6.95
2002	4.575.000	257.370	6.62
2003	4.215.000	218.575	5.18
2004	3.825.000	250.127	6.53
2005	3.970.000	250.910	6.32
2006	3.805.306	265.425	6.97
2007	3.796.680	274.325	7.22
2008	4.002.285	258.639	6.46

Kaynak: (Anonim, 2008a).

Güneydoğu Anadolu Bölgesi *Cucurbitacea* familyası için bir mikro-gen merkezidir. Karpuz bölgenin en önemli ve yaygın meyve türüdür. Diyarbakır’da en fazla üretilen karpuz tipleri ‘Sürme’, ‘Beyazkış’, ‘Karakış’, ‘Ferik’ ve ‘Pembe’dir. Ancak ilk üç tip daha fazla yetiştirilir ve bölgede daha önemli kabul edilir. Yerel

karpuz tipleri taşıdıkları genetik özelliklerini koruduklarından hastalıklara ve böceklere karşı dirençli kalmışlardır. Diyarbakır karpuz tipleri, bölgede verimli bir şekilde üretilmesinin yanında piyasada kabul edilebilirlikleri yüksek ürünlerdir. Büyüklükleri nedeniyle ihracat için ideal olup zararlılar tarafından tahrip edilemezler ve hasattan sonra marketlerde çok uzun bir raf ömrüne sahiptirler. Bu genotipler diğer bütün karpuzlar piyasada tükendikten sonra, sonbaharda hasat edilen ülkenin en geçil tipleridir. ‘Beyazkış’ ve ‘Karakış’ tipleri kışın sonuna kadar adi depo şartlarında muhafaza edilip tüketilebilir. Yerel Diyarbakır karpuz tipleri kalın bir dış kabuğa sahip olup bu kabuk uzun pazarlama sürecinde onları korumaya yardımcı olur. Dünyada karpuz çeşitleriyle ilgili çok sayıda biyoteknolojik çalışma yapılmış olmasına karşılık, bölge çiftçisi için önemli bir gelir kaynağı olan Diyarbakır karpuz tipleriyle ilgili yapılmış in vitro çalışmalar oldukça sınırlı olup, bu konuda yalnızca bir kaç çalışma rapor edilmiştir (**Pirinç ve ark., 2003; Pirinç, 2004; Pirinç ve Onay, 2008**).

Dünya genelinde triploid çekirdeksiz karpuz çeşitleri 50 yıldan fazla bir süredir üretilmekte olup (**Kihara 1951**), günümüzde üretim daha da artmaktadır. Çekirdeksiz karpuz çeşitleri daha tatlı olmaları ve sert çekirdeklerinden yoksun olmaları nedeniyle üreticiler tarafından tercih edilirler. Günümüzde gerek ülkemizde gerekse dünyada çekirdeksiz karpuzla çok yoğun bir ilgi bulunmaktadır (**Maroto ve ark., 2005**). Çekirdeksiz triploid karpuz üretimi için tetraploid çeşitlerin elde edilmesi gereklidir. Tetraploid elde edilmesinde en fazla kullanılan yöntem tohum veya sürgün uçlarının kolşisinle muamele edilmesidir. Elde edilen tetraploidlerin teşhisinde basit ama etkili bazı alternatif yöntemler tespit edilmiştir. Bu yöntemlerde kullanılan başlıca ploidi seviyesi göstergesi yapraklarda bulunan bekçi hücrelerdeki kloroplast sayısı olmakla beraber ovaryum ve anter çapı ile yaprakların uzunluk ve genişlik oranları da kullanılabilir (Compton ve ark., 1996). Ayrıca yapılan çalışmalarda tetraploidlerin kabuk kalınlığının diploidlere göre daha fazla olduğu ve genel olarak  $\beta$  - karoten, likopen, fruktoz ve glikoz içeriklerinin daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (**Jaskani ve ark., 2005**).

Türkiye karpuz üretiminde dünyada ikinci sırada yer almasına rağmen çekirdeksiz karpuz tohumu üretimi ile ilgili herhangi bir çalışma rapor edilmemiştir. Ülkemizde piyasaya sürülen sınırlı miktardaki çekirdeksiz karpuz tohumları



genellikle ABD, Hollanda ve İsrail'den ithal edilmekte ancak bu tohumlar, diploid tohumlara kıyasla düşük çimlenme oranları ve yüksek fiyatından dolayı üreticiler tarafından pek ilgi görmemektedir. Bu bakımdan bölge çiftçisi için önemli bir gelir kaynağı olan Diyarbakır karpuz çeşitleri için in vitro çoğaltım protokollerinin geliştirilmesiyle bu çeşitlerin daha kolay ıslah edilebileceği ve ülkemizde eksikliği hissedilen triploid karpuz üretimi için, ebeveyn olarak kullanılan tetraploid karpuz bitkilerinin elde edilmesinin, hem bölge hem de ülke ekonomisi için faydalı olacağı kanısındayız.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Karpuz Hakkında Genel Bilgiler

#### 2.1.1. Anavatanı ve Tarihçesi

Karpuz *Cucurbitaceae* familyasından *Citrullus* cinsine bağlı tek yıllık bir bitkidir (**Bisognin 2002**). *Cucurbitaceae* familyasının dünyadaki tropik ve subtropik bölgelerde yaygın olarak bulunan 90 cinsi ve 700 kadar türü bulunmaktayken, ülkemizde ise bu familyanın 3 cins ve 8 türü bulunmaktadır (**Seçmen ve ark., 2000; Yaltırık 1989**). Karpuzun çok eski bir besin maddesi olduğu bilinmektedir. Meyvelerinin bol sulu olması sebebiyle, sıcak ve kurak ülke insanları için iyi bir temiz su kaynağıdır. Mısır'da mezar taşları üzerinde yapılan incelemelerden 4000 yıldan beri karpuz yetiştiriciliğinin yapıldığı tespit edilmiştir (**Gichimu ve ark., 2009**). Başlangıçta karpuzun, Yakın doğu ve Hindistan'da çok fazla yetiştirilmekte olduğu dikkate alınarak, Asya kökenli olduğu kanaatine varılmış, fakat David Livingstone'nun 1850 yılında Afrika'da yapmış olduğu incelemelerle, karpuzun anavatanının Afrika olduğu anlaşılmıştır (**Decoteau, 2000; Şalk ve ark., 2008**).

Eski Sanskrit ve Arap literatüründe karpuzdan bahsedildiği halde, Yunan literatüründe bu meyveyle ilgili herhangi bir bilgiye rastlanılmamıştır. Eski köle ticareti ve ticari yollarla, karpuz 10. yüzyıldan itibaren Çin ve Rusya'da görülmeye başlanmış, Anadolu ve İspanya üzerinden Avrupa ülkelerine girmiştir. İngiltere'de karpuz 17. yüzyılın başında görülmüş ve aynı yüzyılın ortasında Kuzey Amerika'da varlığı tespit edilmiştir (**Şalk ve ark., 2008**). Günümüzde tropik ve ılıman iklim kuşağındaki bütün ülkelerde yetiştiriciliği yapılmaktadır (**Robertson, 2004**).

#### 2.1.2. Sistematığı

*Citrullus* cinsinde, dört karpuz türü bulunmaktadır (**Esquines-Alcazar ve Gulick, 1983**) Bunlar,

*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsuma and Nakai (syn. *Citrullus vulgaris* Schrad.)

*Citrullus colocynthis* (L.) Schrad.

*Citrullus ecirrhosus* Cogn.

*Citrullus naudinianus* (Sond.) Hook.

Bu dört türün hepsinin de kromozom sayıları  $2n = 2x = 22$ 'dir, hepsi de tek genomlu basit türlerdir. Bu türler birbirleriyle kolaylıkla mezlenebilirler. Elde

edilen  $F_1$  tohumları normal olarak çimlenirler ve  $F_1$  bitkilerinin büyümelerinde herhangi bir anormallik görülmez ve sağlıklı tohum meydana getirirler (**Robinson ve Decker-Walter, 1997**). Afrika'da yetişmekte olan *C. vulgaris* türü içinde bulunan acı meyveli tiplerin, kültür karpuzlarının atası oldukları kabul edilmektedir (**Jarret ve Newman, 2000**).

Yukarıda sayılan dört türün dışında *Citrullus fistulosus* olarak adlandırılmış bir tür daha vardır ki, yapılan araştırmalarda, daha çok *Cucumis* türlerine benzediği yukarıdaki dört *Citrullus* türlerinin hiçbirisiyle melezlenemediği ve farklı kromozom sayısına ( $2n = 24$ ) sahip olduğu saptanmıştır. Bu sebeple bu türün yeniden isimlendirmeye tabi tutulması gerekmektedir.

### 2.1.3. Besin Değeri

Bir porsiyon karpuzdan (152 g) günlük A vitamini ihtiyacının % 20'si, C vitaminin % 25'i, kalsiyumun % 2'si, demirin % 4'ü ve potasyumun % 8'i karşılanır (**Tablo 3**). Karpuz önemli bir antioksidant olan karotenoid yapıdaki likopen ( $C_{40}H_{56}$ ) bakımından da oldukça zengindir. 100 gram yaş karpuz meyvesinde 4868  $\mu\text{g}$  likopen bulunurken, 100 gram taze domateste 3025  $\mu\text{g}$  likopen bulunmaktadır (**Edwards ve ark., 2003**). Araştırmalar serbest radikalleri söndürmede likopenin,  $\beta$ -karotenden iki kat ve  $\alpha$ -tokoferolden on kat daha etkili olduğunu göstermiştir (**Goula ve Adamopoulos, 2005**). Karpuz yüksek oranda şeker içerir. Şekerin büyük çoğunluğu fruktoz formunda olup daha az miktarda sakkaroz ve glikoz içermektedir (**Quek ve ark., 2007**).

**Tablo 3.** Karpuzun bir porsiyonunun içerdiği besin, mineral ve vitamin değerleri

Besin	Ünite	1 Porsiyon (152g)
Su	g	139.00
Enerji	kcal	46
Protein	g	0.93
Yağ	g	0.23
Lif	g	0.6
Toplam şeker	g	9.42
Sakkaroz	g	1.84
Glikoz	g	2.40
Fruktoz	g	5.11
<b>Mineraller</b>		
Ca	mg	11
Fe	mg	0.36
Mg	mg	15
P	mg	17
K	mg	170
<b>Vitaminler</b>		
C	mg	12.3
B-1	mg	0.050
B-2	mg	0.032
B-3	mg	0.271
B-5	mg	0.336
B-6	mg	0.068
A Vitamini	IU	865
E Vitamini	mg	0.08

Kaynak: (Anonymus, 2005)

## 2.2.Diyarbakır Karpuzunun Önemi ve Geleneksel Yetiştirme Teknikleri

### 2.2.1. Diyarbakır Karpuzunun Önemi

Diyarbakır karpuzu dünyaca ünlü ender tarım ürünlerimizden biridir. Dicle nehri kenarında çakıllı, kumlu ve milli arazilerde yöreye özgü yöntemlerle yetiştirilen bu karpuz çeşidinin Diyarbakır'ın ekonomik, sosyal ve folklorik yaşantısında önemli bir yeri bulunmaktadır.

Ülkemizde hemen hemen her şehrimizin sembolü olmuş kendine özgü bir tarım ürünü vardır. Örneğin şeftali dendiğinde Bursa, incir dendiğinde Aydın, pamuk dendiğinde Adana, fındık dendiğinde Giresun, çay dendiğinde Rize illerimiz akla geldiği gibi karpuz dendiğinde de herkesin aklına Diyarbakır ilimiz gelir. Yapılan araştırmalar göstermektedir ki saydığımız bu ürünler yıllardan beri bu illerin sosyal ve ekonomik yapılarında önemli roller oynamaktadırlar ve bundan dolayı da haklı

olarak bu illerin sembolü olmuşlardır. Her ürünümüzde olduğu gibi Diyarbakır karpuzunun da kendine has özellikleri vardır. İlk göze çarpan özelliği iriliği, ikinci özelliği ise lezzetli oluşudur. Ancak günümüzde bu lezzetini giderek yitirmektedir.

Diyarbakır karpuzu “ karpuz kuyusu” adı verilen yerlerde yetiştirilmektedir. Bu kuyular nisan–mayıs aylarında Dicle nehrinin çekilmesinden sonra kalan nehir yatağında açılmaktadır. Büyük karpuz yetiştirmek için açılan her kuyu, boyu 2m, genişliği 60 cm olacak şekilde hazırlanmaktadır. Kuyuların derinliği ise taban suyuna ulaşılacak derinliğe bağlı olarak değişmektedir ve genellikle taban suyuna 40 – 60 cm’de ulaşılmaktadır. Diyarbakır karpuzunun iriliğini, bu kuyuların hazırlanmasında kullanılan ahır gübresi (bu gübrenin özellikle çift tırnaklı hayvanlardan koyun ya da keçi gübresi olması tercih edilmektedir) lezzetini ise güvercin gübresi vermektedir. Bu amaç için kullanılan yarasa gübresinin de iyi sonuç verdiği bilinmektedir. Buradan da anlaşılmaktadır ki organik gübrelemenin Diyarbakır karpuzu yetiştiriciliğinde önemi büyüktür. Bunun da sebebi; Dicle nehrinin kış aylarında taşıdığı su miktarı artınca karpuz yetiştiriciliği yapılan yerlere kadar nehir genişlemekte, çekilirken de alıp götürmektedir. Yapılan bu gübreleme sonucunda ağırlığı 60–70 kg olan karpuzlar yetiştirilebilmektedir.

Diyarbakırlılar, karpuz yetiştiriciliğinde kullandıkları güvercin gübresi ihtiyaçlarını karşılamak için güvercin yetiştirmektedirler. Yörede güvercine ‘bora’, güvercin yetiştirilen yerlere ise ‘borahane’ adı verilmektedir. Borahaneler bir kuş beslemek için oldukça büyük ve bazen da çok katlı binalardır. Kerpiçten olmalarına rağmen sağlam yapılan borahanelerin iç bölümlerine ‘lüle’ denmektedir. Bu yapılar da güvercinlerin girip çıkması için yuvarlak delikler açılmıştır. Her lülenin içinde güvercinlerin tünemesi için basamaklar vardır. Ancak günümüzde bu borahanelerin bakımları yeterince yapılmadığından birçoğu yıkılmaya yüz tutmuştur.

Diyarbakır karpuzu daha sonra bölgeye giren hibrit karpuz çeşitleriyle rekabet edememiştir. Bunda ticari kaygılar da önemli rol oynamıştır. Yeterince ilgilenilmediği için Diyarbakır karpuzunun nesli dejenere olmuş, eski lezzet ve iriliğini yitirmiştir. Arandığında bırakın 30–35 kg ağırlığındaki Diyarbakır karpuzunu, 25 kg olanlar bile bulunamaz olmuş ve bunun Diyarbakır ekonomisine büyük zararı dokunmuştur. İlk kez 1968 yılında düzenlenen karpuz festivali ile bu konuya el atılmış, üretici teşvik edilmek istenmiş ancak bu iş 1982 yılına kadar

düzenli olarak yapılamamıştır. 1982 yılında konuya tekrar el atılmış, 1985 yılına kadar bu festivaller düzenli olarak tekrarlanmış ve en iri Diyarbakır karpuzu yetiştiren üreticiler ödüllendirilmiştir. Bu sayede bu gün 40–50 kg ağırlığında Diyarbakır karpuzu bulmak artık mümkün olabilmektedir (**Resim 1**). Bunlar üreticiyi teşvik etmek amacıyla yapılan işlerdir. Ancak halen konuya bilimsel yaklaşılarak bu konuda birkaç çalışma dışında, yeterli araştırma yapılmamıştır (**Anonim, 2008b**).



**Resim 1.** Diyarbakır karpuz festivalinden görünüm

### 2.2.2. Diyarbakır Karpuzunun Geleneksel Yetiştirme Teknikleri

Karpuzlarda irilik, başta çeşit karakteri olmak üzere kısmen de yetiştirme ve bakım şartlarına bağlıdır. Diyarbakır karpuzunun yetiştirme tekniği alışlagelmiş karpuz yetiştiriciliğinden farklıdır. İri Diyarbakır karpuzları daha önce de belirtildiği gibi, Dicle nehrinin çekilmesinden sonra kalan kumlu – milli nehir yatağında açılan ve adına “kuyu” denilen yerlerde yetiştirilmektedir. Ancak şunu da vurgulamak gerekir ki Diyarbakır’da karpuz ziraatı yalnızca bu şekilde yapılmamaktadır. Diyarbakır’da karpuz ziraatı üç şekilde yapılmaktadır (**Beşirli, 1991**).

- **Köylerde Pınar Karpuz ve Kavunculuğu:** Dere ve pınar sularından faydalanılarak yapılan karpuz ve kavun ziraatine denir.

- **Kuru Ziraatte Karpuz ve Kavun Ekimi:** Bu tarz ekimle elde edilen karpuz ve kavuna “Beji” denir. Köylülerin sadece kendi ihtiyaçları için ektikleri bu karpuz ve kavunların verimleri ve ekonomik önemi azdır.
- **Çay Karpuz ve Kavunculuğu:** Dicle kenarında yapılan karpuz ve kavun ekimine denir. Diyarbakır’ın ünlü iri karpuzları bu yetiştirme şekliyle elde edilir (Anonim, 2008b).

### 2.2.2.1 Kuyuların Hazırlanması

Kuyuların (arık) açılması için bahar aylarının sonuna kadar Dicle nehrinin çekilmesi beklenir. Nehir yeterince çekildikten sonra, genellikle 15–30 Nisan tarihleri arasında Dicle kenarında kuyular açılır. Günümüzde birim alandan kazanmak amacıyla kuyuların boyutları küçültülmüştür. Kuyular, uzunluğu 150 cm, kuyu genişliği ve derinliği 40 cm olacak şekilde hazırlanmaktadır. İki kuyu arası da 50 cm, iki kuyu sırası arasında ise 2 m mesafe bırakılmaktadır. Kuyuların derinliği her ne kadar 40–60 cm arasında değişse de derinlikte ki amaç su seviyesine ulaşmaktır.

### 2.2.2.2 Karpuz Fidelerinin Hazırlanması

Fideler iki şekilde hazırlanmaktadır:

**Tüplü Fide Yetiştiriciliği:** Tüplere konacak harç milli kum ve elenmiş koyun gübresinden hazırlanmaktadır. 10x13 cm boyutlarındaki her bir tüpe 3–4 karpuz tohumu konmaktadır. Karpuz fideleri ikişer yapraklı olunca, kuyularda hazırlanmış olan yerlerine topraklı olarak aktarılırlar.

**Harmanda Fide Yetiştiriciliği:** Dicle kenarında suya çok yakın olan milli kumlu bir yerde karpuz fidesi yetiştirmek için yer hazırlanır ki buraya harman denir. Burada yetiştirilen fideler ikişer yapraklı iken buradan alınıp, kök bölgesindeki milli kum yıkandıktan sonra kuyuda hazırlanmış bulunan yere dikilirler.

### 2.2.2.3 Kuyularda Fide Yatağının Hazırlanması ve Fidelerin Dikimi

Açılan kuyuların her iki başında fide dikimi için küçük yastıklar hazırlanmaktadır. Tüplerden çıkarılan ya da harmandan getirilen fideler bu yastıklara

dikilir. Dikim, direkt olarak kuma, fidelerin kökleri su ile temas edecek şekilde, yapılmaktadır. Fideler herbir kuyuda dörder fide bulunacak şekilde kuyuların sağ ve sol başlarına ikişer tane dikilmektedir.

#### **2.2.2.4 Gübreleme**

Karpuzlara verilecek koyun gübresi ve güvercin gübresi kum ile karıştırılıp harç haline getirilerek verilmektedir. Yörede genel uygulama olarak bu karışım şöyle hazırlanmaktadır: Kuyu başına; 6–8 kg güvercin gübresi, 20-25’şer kg koyun gübresi ve kum. Üreticilerin tecrübelerine göre güvercin gübresi ne kadar çok verilirse karpuzlar o oranda lezzetli olmaktadır. Ancak bu maliyeti artıran en büyük unsur olduğundan, günümüzde üreticiler bu miktarı arttıramadıkları gibi, bir çoğu kuyu başına 6 kg’ın da altında güvercin gübresi vermektedir (**Anonim, 2008b**).

#### **2.2.2.5. Bakım İşleri**

Gübreleme işi tamamlandıktan sonra önemli bir bakım işlemi uygulanmaktadır. Bir bitkiden çok sayıda meyve almak, birim alandan elde edilen ürün miktarını arttıracığı düşünülerek, eskiden uygulanan seyreltme işlemi günümüzde pek uygulanmamaktadır. Diyarbakır karpuzunun eski iriliğini kaybetmesinde bunun olumsuz etkisi olmuştur. Gübrelemeden sonra uygulanan en önemli bakım hastalık ve zararlılarla mücadele olmaktadır. Yörede üreticiyi en çok üzen hastalık etmenleri fusarium, mycoplazma; zararlı ise afid (yörede “gezo” adı verilir) adlı kırmızı örümcektir. Hastalık etmenlerine karşı önlem amacıyla tohum ilaçlaması yapılmamaktadır. Oysa ekimden önce tohumların ilaçlanması veya 50–55 °C’lik suda birkaç dakika bekletilmesiyle, üzerlerindeki zararlı organizmalar etkisiz hale getirilebilir.

#### **2.2.2.6. Hasat İşlemi**

Diyarbakır karpuzu eylül ayının ilk haftasından sonra hasat edilerek satışa çıkarılmaktadır.



### 2.2.2.7. Yetiştirilen Karpuz Çeşitleri ve Özellikleri

İrilikleri itibariyle dünyaca meşhur olan Diyarbakır karpuzları yuvarlak–beyzi (oval) alacalı karpuzlar sınıfına girmektedir. Bunlar arasında özellikle ‘Sürme’, ‘Karakış’ ve ‘Beyazkış’ adları ile tanınan çeşitler yaygın olarak yetiştirilmektedir.

**Sürme Çeşidi:** Diyarbakır karpuzları arasında en iri olan çeşittir. Kabuk renkleri, koyu yeşil üzerinde uzunlamasına geniş dilimler halinde çizgilidir. Kırmızı renkte olan eti oldukça tatlı olup fazla olgunluk halinde tamamen lifli bir hal almaktadır. Kabuğu kalın ve dayanıklı olduğundan hem nakliyat hemde uzun süreli muhafazaya oldukça elverişlidir. Tipik yetiştirme usulü ile yetiştirildiğinde 50–60 kg hatta 75 kg kadar iri meyveler elde edilebilmektedir. Bütün meyve olarak tüketilmesi hemen hemen imkansız olduğundan, çoğunlukla dilimler halinde satılmaktadır. Çekirdekleri yörede yetiştirilen diğer yerli çeşitlere nazaran daha siyahtır. ‘Sürme’ çeşidi ‘Sürme hırsızı’ adıyla da anılmaktadır.

**Karakış (Siyah) Çeşidi:** Ağırlığı 5–20 kg arasındadır. Kabuk rengi koyu yeşil olup, yörede ‘siyah kışlık karpuz’ adıyla anılmaktadır. Hasattan sonra kış aylarında bahara kadar adi depo şartlarında muhafaza edilmektedir.

**Beyazkış (Beyaz) Çeşidi:** Ağırlığı 5–20 kg arasındadır. Kabuk rengi beyazımsı açık yeşil olup, Karakış karpuzu gibi bu çeşit de kış ayları sonuna kadar saklanabilmektedir. Kabuk ve tohum rengi hariç tüm özellikleri Karakış karpuzu gibidir.

**Pembe Çeşidi:** Kabuğu parlak yeşil üzerine koyu yeşil renkli çizgilerle uzunlamasına çizgilidir. Kabuğu 1.5 cm kadar kalındır. Eti pembeye yakın açık kırmızı renktedir. Bundan dolayı Pembe karpuz adını almıştır. Eti hafifçe lifli olmasına rağmen oldukça tatlıdır. Çekirdekleri küçük ve siyah renktedir. Meyvelerde ağırlık 10–30 kg arasındadır.

**Ferik Çeşidi:** Şekil ve kabuk özellikleri itibari ile Sürme çeşidine benzer fakat meyveleri daha küçüktür. Ortalama meyve iriliği 8–15 kg arasındadır. Eti kırmızı renklidir. Çekirdekleri siyah bazen de sarı olabilir.

### **Diyarbakır Karpuzunun Yoğun Olarak Yetiştirildiği Köyler:**

Diyarbakır karpuzu, merkeze bağlı olan ve Dicle nehri kıyısında bulunan şu köylerde yoğun olarak yetiştirilmektedir.

- 1 – Sivritepe (Şeyhelan) Köyü
- 2 – Erimli (Sımaki) Köyü
- 3 – Tekkaynak (Yuvacık) Köyü
- 4 – Feri Köyü
- 5 – Tepe Köyü (Anonim, 2008b).

### **2.3. Bitki Hücre, Doku ve Organ Kültürü Teknikleri**

Bitki hücre ve doku kültürü konusu, aseptik şartlarda; yapay bir besin ortamı (bir karbon ve enerji kaynağı olan şeker, inorganik tuzlar, mikro ve makro elementler ile çeşitli vitaminleri içeren ve sıvı veya agar ile katılaştırılmış steril bir büyüme ortamı) içinde ya da üzerinde, bitki hücre (meristematik hücreler, süspansiyon veya kallus hücreleri), doku (epidermis, meristem doku), ya da organlarından (yaprak, kök vb.) alınan eksplantların kültürünü içeren oldukça geniş bir alanı kapsamaktadır.

Bitki hücre ve doku kültürleri aşağıdaki gibi sınıflandırılırlar;

#### 1- Organ Kültürleri

- Kök kültürleri
- Sürgün (apikal) kültürleri
- Anter ve polen kültürleri

#### 2- Doku Kültürleri (Kallus)

#### 3- Hücre Kültürleri (Protoplast ve hücre süspansiyonları)

#### 4- Somatik Embriyogenezis

#### 5- Mikroaşılama

Klonal çoğaltım için genellikle meristem yada sürgün ucu kökenli kültürlerin genetik olarak çok daha stabil olduklarına inanılır. Bitki hücrelerinin totipotent özelliği, hücre döngüsü ile hücre büyüme ve gelişmesi üzerine araştırmalarda, istenilen uygun eksplantın ve büyümede aktif maddeleri içeren uygun bir besi ortamının seçilmesine, fiziksel çevre koşullarının kontrol edilebilirliğine imkan vermesi nedeniyle bitki hücre ve doku kültürleri tercih edilmektedir.

Genel anlamda mikroçoğaltma; sürgün ucu ve bunlara ait eksplantlardan bitkilerin *in vitro* klonal çoğaltılması veya genellikle tomurcuklardan gelişen sürgünlerin alt

kültürler boyunca çoğaltılması şeklinde tanımlanabilir. Ayrıca meristem dokulardan meydana gelen doğrudan somatik embriyo oluşumuna da mikroçoğaltım denilebilir. Ancak mikroçoğaltımı, sentetik besi ortamlarında, bir bitkiden alınan ve tam bir bitkiyi oluşturma potansiyeline sahip bitki kısımlarından (embriyo, tohum, gövde, sürgün, kök, kallus, tek hücre yada polen tanesi vb.) aseptik şartlar altında yeni bitkilerin elde edilmesi şeklinde tanımlayabiliriz (**Compton ve ark., 2004; Babaoğlu ve ark., 2002**).

Mikroçoğaltımın genel olarak bitki yetiştiriciliği ve genetiği yönünden önemi ve avantajları aşağıdaki gibi sıralanabilir; (**Tilkat, 2006; Compton ve ark., 2004**).

- Her türlü hastalık ve zararlılardan arındırılmış bitkisel materyal ve stokların elde edilmesi
- Elde edilen bitkilerde fenotipik ve genotipik homojenitenin sağlanması
- Geleneksel yöntemlerden daha kısa kültür süresine sahip olması
- Üretilmesi güç olan bitki türlerinin daha kolay üretimine imkan vermesi
- Seçkin veya üstün genotiplerin hızlı çoğaltımına olanak sağlanması
- Klasik yöntemlere göre üretimde daha az anaç kullanılması
- Somaklonal varyasyonlardan dolayı yeni çeşitlerin veya genotiplerin elde edilebilmesi
- Bazı bitki materyallerinin hızlı bir şekilde elde edilmesini, klonlamada kullanılacak materyalin erken elde edilmesini sonuçlandırması
- Verimsiz hibritlerin çoğaltımı için önemlidir. Örneğin meyve bahçelerindeki türlerin yada değişken heterozigot türlerin klonal çoğaltımı yoluyla tek tip bitki topluluğu elde edilmesi
- Yıl boyunca ortaya çıkabilecek mevsimsel zorlukları ortadan kaldırması
- İstenilen genotipte bitkilerin çoğaltılmasını mümkün kılması
- Tohumdan yetiştirme metodlarından daha hızlı bir şekilde çoğaltım sağlanması
- Küçük bir yerde çok miktarda fide/fidan üretimine olanak sağlanması

- Alt kültürler arasında özel bir dikkat gerektirmemesi (örn. sulama, zararlı ot mücadelesi vb.)
- İhtiyaca göre bazı türler için otomatik çoğaltım yöntemlerinin geliştirilmesini mümkün kılması
- Rekombinant DNA teknolojisi uygulamaları için ara devre oluşturması
- Transgenik bitkilerin klonlanması için bir araç olması
- Sentetik tohum üretimine olanak sağlamasıdır.

Yukarıda sayılan yararlarına karşın mikroçoğaltım eğitilmiş personel, özel laboratuvar koşulları ve sürekli araştırmaya gereksinim duymaktadır. Bu nedenle, yapılan uygulamaların başarısı ekonomik faktörlerle büyük ölçüde sınırlanmaktadır. Doku kültürü ile bitkilerin çoğaltılması pahalı olmasına karşın, iş gücünü azaltan otomasyon ve robotizasyon teknikleri kullanıldığında, kısa sürede fazla sayıda bitki ekonomik olarak elde edilebilmektedir (**Alper ve ark., 1994a, b**).

Mutasyonlar, organ ve somatik embriyoların rejenerasyon yeteneklerini kaybetmesi, köklenme problemleri, toksik bileşiklerin besin ortamında birikmesi, kontaminasyon ve bitkilerin kültür ortamından toprağa aktarılmasında karşılaşılan zorluklar, ticari olarak yapılan mikroçoğaltımda ortaya çıkan başlıca sorunlardır. Tüm bunların ortadan kaldırılması ya da en aza indirilmesi için, mikroçoğaltıma geçilmeden önce bu temel sorunların titizlikle değerlendirilmesi gerekir. Yukarıda sayılan nedenlerden dolayı her bitki cinsinin farklı tür, hatta her türün farklı çeşidinde kullanılan mikroçoğaltım protokolü de farklı olmaktadır. Bu sebeple çalışılacak her çeşit için farklı bir çoğaltım protokolü geliştirmek gerekmektedir. Karpuz bitkisi mantar, bakteri ve virüs kaynaklı hastalıklara karşı oldukça hassastır. Bu nedenle hastalıklara dirençli yerel genotiplerin tespit edilip, doku kültürü ve DNA rekombinant teknolojileri kullanılarak üretiminin yaygınlaştırılması son derece önemlidir (**Kim ve ark., 1998**). Patojenlere ve abiyotik stres faktörlerine dirençli karpuz varyetelerinin kullanılması ile ürün veriminin ve kalitesinin artırılması mümkündür (**Cho ve ark., 2009**).

## 2.4. Karpuzla İlgili Yapılmış Çalışmalar

### 2.4.1. İn Vitro Rejenerasyon Çalışmaları

**Dong ve Jia (1991)**, sekiz diploid karpuz çeşidinde yaptıkları mikroçoğaltım çalışmasında beş günlük in vitro fide kotiledonlarını kullanmışlardır. Sürgün poliferasyonu için BA, zeatin , 2İP ve kinetini test etmişlerdir. Bütün çeşitler için en iyi sitokinin tipinin BA olduğunu ve sürgün frekansının bu ortamda %60-92 olduğunu rapor etmişlerdir. Yaptıkları köklendirme çalışmasında 0,5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IAA ortamında 'Peace' çeşidinde % 96.7 ve 'New Crown' çeşidinde 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IAA ortamında % 93.8 köklenme elde etmişlerdir.

**Gray ve Elmstrom (1991)**, tetraploid hatların mikroçoğaltımı için tarladaki bitkilerin sürgün uçlarını keserek sterilize ettikten sonra, eksplantları 30 gl<sup>-1</sup> sakkaroz, 7 gl<sup>-1</sup> agar ve 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA içeren MS besi yerinde (pH: 5.7) kültüre almışlardır. Aynı araştırmacılar rejenere ettikleri sürgünleri uzaması ve köklenmesi için, 2.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> Kin + 8.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IAA ortamında kültüre almışlardır. Çalışmada köklendirdikleri sürgünleri tarlaya aktarıp normal meyveler elde ettiklerini rapor etmişlerdir.

**Compton ve Gray (1992)**, tetraploid ve triploid hatlarda yaklaşık 1 cm uzunluğundaki sürgün uçlarının klonal çoğaltım için eksplant olarak kullanılmasının potansiyel bir uygulama olduğunu belirtmişlerdir. Bununla beraber düşük sürgün proliferasyonu, zayıf köklenme ve aklimatizasyondan dolayı çalışmaların çoğu başarısızlığa uğramıştır. Aynı araştırmacılar triploid genotiplerin 1 cm'lik sürgün uçlarından, 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA içeren MS besiyerinde 21 günde 2-4 sürgün oluştuğunu gözlemlemişler, çoğaltılan sürgünlerin 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA içeren ortamda yaklaşık olarak % 70-90 arasında köklendiğini, köklenen sürgünlerinde % 60-85 arasında seraya başarıyla aktarıldığını rapor etmişler ve bu protokolle 100 sürgün ucu eksplantıyla başlatılacak mikroçoğaltımla 6 ayda 1.2 milyon bitki elde edilmesinin mümkün olduğunu belirtmişlerdir .

**Desamero ve ark. (1993)**, karpuzun mikroçoğaltımı için agar içeren katı MS besiyeri ile agar içermeyen sıvı MS besiyerini mukayese etmişler, sürgün rejenerasyonu için  $2.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA, sürgün uzaması için  $0.25 \text{ mg l}^{-1}$  BA +  $1.5 \text{ mg l}^{-1}$  GA<sub>3</sub> içeren MS besiyerini kullanmışlardır. Araştırma sonucunda sıvı ortamda polypropylene membran üzerine yerleştirilen eksplantların daha iyi rejenere olduğunu belirtmişlerdir.

**Compton ve Gray (1993)**, beş farklı karpuz genotipinde somatik embriyolar elde etmek için, olgunlaşmamış embriyoların kotiledonlarını kullanmışlardır. Aynı araştırmacılar kotiledonları 2,4 D'nin BA veya TDZ ile kombinasyonunu içeren MS besiyerinde, karanlık ortamda, üç hafta boyunca, kültüre almışlar daha sonra hormon içermeyen MS besiyerine aktarılan ve 16 saat ışık, 8 saat karanlık ortamda 3-4 hafta tutulan eksplantların bazılarında somatik embriyolar oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Çalışma sonucunda somatik embriyo elde etmek için en iyi hormon kombinasyonunun  $2.5 \text{ mg l}^{-1}$  2,4 D +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  TDZ olduğunu ve bu ortamda %30 oranında embriyo elde edildiğini belirtmişlerdir.

**Compton ve ark. (1993b)**, diploid ve tetraploid karpuz çeşitlerinde mikroçoğaltım için, aseptik ortamda çimlendirilmiş in vitro karpuz fidelerinden elde edilen sürgün ucu eksplantlarını BA, Kin ve TDZ'nin test konsantrasyonlarını içeren MS besiyerine 8 haftalığına aktarmışlar ve BA'nın en iyi konsantrasyonunun dan ,TDZ ve Kin'in en iyi konsantrasyonuna göre yaklaşık 1.5–2.8 kat daha fazla aksiller sürgün elde ettiklerini belirtmişlerdir. Farklı genotiplerde yapılan çalışmalarda eksplant başına aksiller sürgün eldesinin “ Bush Jubilee” ve ‘Jubile II’ de ‘ Minilee’, ‘Dixilee’ ve tetraploid genotiplerden daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Test edilen genotiplerin büyük çoğunluğunda eksplant başına düşen sürgün sayısının, kültürün ilk ayında az olduğunu (2.7 – 4), en yüksek sayının 2. ve 3. aylarda gözlemlendiğini (5.3–12.5) ancak altıncı aydan sonra düşüş gösterdiğini saptamışlardır. Köklenme için 5-30 mm uzunluğundaki sürgünleri tercih etmişler, köklenme ortamı olarak  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  IBA kullanmışlar ve aklimatizasyonda substrat olarak otoklavda steril edilmiş vermikulit kullanmışlardır. Köklenen sürgün yüzdesinin farklı çeşitlerde % 60-100 arasında , aklimatize edilmiş sürgün yüzdesinin

ise %21-96 arasında gerçekleştiğini, bu protokolün kullanımıyla 250 fideden 3 ayda 13.200 bitki elde edilebileceğini rapor etmişlerdir.

**Compton ve Gray (1993a)**, diploid, triploid ve tetraploid karpuz hatlarında in vitro kotiledonlardan sürgün rejenerasyonuna Kin, TDZ ve BA'nın etkisini araştırmışlar, 1.0-5.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA içeren MS besi yerinin rejenerasyon için kullanılabilirliğini ve bu ortama IAA eklenmesiyle kallus oluşumunun arttığını rapor etmişlerdir. En yüksek sürgün oranının beş günlük fidelerden elde edildiğini ('Minilee' %90, 'S86NE' %64 ve 'Jubilee II' %50) açıklamışlar ayrıca sürgün oluşturan eksplant ve eksplant başına sürgün sayısının diploidde (%57 ve 2.2), triploid (%22 ve 0.6) veya tetraploide (%20 ve 0.8) göre daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.

**Tabei ve ark. (1993)**, diploid karpuzda yaptıkları sürgün rejenerasyonu çalışmasında eksplant kaynağı olarak üç günlük fide kotiledonlarını kullanmışlardır. Aynı araştırmacılar 10 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA+10 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IAA içeren MS besiyerindeki sürgün oluşumu frekansının % 50 olduğunu rapor etmişler, ayrıca kotiledonların bazal kısmından, apikal kısmının iki kat fazla oranda sürgün elde edildiğini açıklamışlardır.

**Compton ve Gray (1994)**, dört tetraploid karpuz hattında ('F9248', 'SP90-1', 'SP90-2', 'SP90-4') in vitro fide kotiledonu yaşının sürgün organogenezisine etkisini araştırmış ve bunun için 2, 4, 6, 8 ve 10 günlük in vitro fide kotiledonlarını kullanmışlardır. Aynı araştırmacılar en yüksek sürgün rejenerasyonunun iki günlük kotiledonlardan elde edildiğini ('F9248' için %66 ve 'SP90-2' için %60 ) ve dört günlük kotiledonlarda en yüksek sürgün frekansının 'SP90-4'te %40 olduğunu rapor etmişler ve rejenere ettikleri sürgünleri 2.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA ortamında köklendirmişlerdir.

**Ahad ve ark. (1994)**, karpuzda bitki rejenerasyonu için eksplant kaynağı olarak olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyoları kullanmışlar, rejenerasyon için olgunlaşmamış embriyoların daha uygun olduğunu ve sürgün proliferasyonu için en

uygun ortamın  $0.5-1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA+ $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IAA olduğunu rapor etmişlerdir. Aynı araştırmacılar rejenere ettikleri sürgünleri  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  IBA ortamında köklendirmişlerdir.

**Compton (1999)**, dört karpuz çeşidinin tohumlarını ışıқта ve karanlıkta çimlendirerek elde ettiği kotiledonları sürgün rejenerasyonu için kullanmış ve dört karpuz çeşidinde de karanlıkta çimlenmiş tohum kotiledonlarından, ışıқта çimlenenlerden daha fazla sürgün rejenerasyonu oluştuğunu açıklamıştır. Yapılan çalışmada kabukları soyulmuş tohumlar yüzey sterilizasyonu için % 2.5 NaOCl + %0.1 Tween çözeltisinde 30 dakika bekletilmiş, ardından üç kez steril saf suda yıkanmıştır.

**Chaturvedi ve Bhatnagar (2001)**, diploid ‘Sugar Baby’ karpuz çeşidinde yaptıkları direkt ve indirekt sürgün rejenerasyonu çalışmasında yedi günlük fide kotiledonlarını eksplant kaynağı olarak kullanmışlar ve kallus oluşumunun  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA + $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  IAA ortamında %100,  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA+ $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  NAA ortamında % 83.2 olarak rapor etmişlerdir. Çalışmada eksplant başına en düşük sürgün sayısının ( $2.0 \pm 1.0$  adet)  $1.2 \text{ mg l}^{-1}$  BA+ $0.25 \text{ mg l}^{-1}$  NAA içeren MS ortamında, en yüksek sürgün sayısının ( $35.5 \pm 1.6$ ) ise  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA+ $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  2ip içeren MS ortamında elde edildiğini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar rejenere ettikleri sürgünleri  $0.2 \text{ mg l}^{-1}$  NAA ortamında köklendirerek %55 başarıyla tarlaya aktarmışlardır.

**Pirinç ve ark. (2003)**, diploid ‘Sürme’ çeşidinde beş günlük in vitro kotiledonlardan sürgün rejenerasyonunu gerçekleştirmişler ve BA’nın en iyi konsantrasyonunun ( $0.5 \text{ mg l}^{-1}$ ), kinetin en iyi konsantrasyonundan ( $1.0 \text{ mg l}^{-1}$ ) %50 daha fazla sürgün verdiğini tespit etmişlerdir. Köklendirme ortamı olarak kullandıkları  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  NAA’da %70 oranında köklenme elde etmiş ve köklenen sürgünleri %90 oranında aklimitize ettiklerini rapor etmişlerdir.

**Sultana ve Bari (2003)**, diploid karpuzda sürgün rejenerasyonuna farklı BBD’lerin etkisini araştırdıkları çalışmada 5 günlük in vitro fidelerden elde ettikleri sürgün uçlarını kullanmışlar ve bu eksplantlardan pH’sı 5.7 olarak ayarlanmış  $30 \text{ g l}^{-1}$  sakkaroz,  $7 \text{ g l}^{-1}$  agar ve  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA + $0.2 \text{ mg l}^{-1}$  NAA içeren MS besi yerinde, en



yüksek sürgün sayısının 6.1 adet ve en yüksek sürgün uzunluğunun 4.5 cm olduğunu rapor etmişlerdir. En iyi köklendirme ortamı olarak tespit ettikleri  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  NAA ortamında % 100 köklenme elde etmişler ve bu ortamdaki ortalama kök sayısı 4.5 adet, ortalama kök uzunluğunu 2.85 cm olduğunu bildirmişlerdir.

**Zhang ve Zhang (2004)**, diploid iki karpuz çeşidinde ('Yixuan', 'Jinxinmuben') in vitro ortamda dört günlük fidelerden elde edilmiş kotiledonların farklı kısımlarını eksplant kaynağı olarak kullanmışlar ve sürgün rejenerasyonu için en uygun kotiledon kısmını tespit etmeye çalışmışlardır. Aynı araştırmacılar 'Yixuan' çeşidinde en iyi sonucun kotiledonların bazal kısmı kullanıldığında elde edildiğini ve  $5.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IAA içeren MS besiyerinde eksplant başına ortalama sürgün sayısının 10.3 olduğunu belirtmişler, 'Jinxinmuben' çeşidinde ise en iyi sonucun kotiledonların proksimal kısmı kullanıldığında ve  $2.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA +  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  IAA içeren MS besiyerinde eksplant başına ortalama sürgün sayısının 6.9 olduğunu rapor etmişlerdir.

**Sultana ve ark. (2004)**, karpuzda yaptıkları indirekt sürgün rejenerasyonu çalışmasında beş günlük fide yapraklarını kullanmışlar ve bu yapraklardan  $2.5 \text{ mg l}^{-1}$  2,4-D ortamında %100 oranında kallus oluştuğunu ve oluşan kallusların en iyi sürgün rejenerasyon ortamının  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA +  $0.2 \text{ mg l}^{-1}$  NAA içeren MS besiyeri olduğunu rapor etmişlerdir. Bu ortamdaki ortalama sürgün sayısının 5.85 adet, ortalama sürgün uzunluğunun ise 3.54 cm olduğunu bildirmişlerdir.

**Krug ve ark. (2005)**, karpuzda in vitro kotiledon yaşının sürgün rejenerasyonuna etkisini araştırdıkları çalışmada bir, üç, beş günlük kotiledonları kullanmışlar ve kotiledonları,  $25 \text{ g l}^{-1}$  sakkaroz ve  $8 \text{ g l}^{-1}$  agar içeren MS besi yerinde (pH: 5.8) kültüre almışlardır. Çalışmada sürgün rejenerasyonu için en uygun eksplant yaşının üç günlük kotiledonlar olduğunu ve  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren % 10'luk Hindistan cevizi sütü içeren MS besiyerinde 3.25 adet sürgün oluştuğunu rapor etmişler ve bu sürgünleri  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  IBA ortamında köklendirmişlerdir.

**Pirinç ve Onay (2008)**, ‘Sürme’ karpuzunun in vitro rejenerasyonunda kullanılacak en uygun eksplantın belirlenmesi için in vitro kotiledonları ve bahçeden alınmış apikal uçları mukayese etmişler ve rejenerasyon için en uygun eksplant kaynağının 5 günlük in vitro kotiledonlar olduğunu rapor etmişlerdir.

**Shalaby ve ark. (2008)**, iki triploit karpuz çeşidinde (‘SA100’, ‘SA101’) in vitro fidelerden elde ettikleri sürgün uçlarını kullanarak geliştirdikleri mikroçoğaltım protokolünde, 30  $g l^{-1}$  sakkaroz, 8  $g l^{-1}$  agar içeren MS besi ortamını (pH: 5.7) kullanmışlardır. Sürgün rejenerasyonu için BA’nın 0.5 - 10.0  $mg l^{-1}$  aralığındaki konsantrasyonlarını test etmişlerdir. Çalışmada en yüksek sürgün sayısını (5.6 adet) 2.5  $mg l^{-1}$  BA içeren MS besi yerinde ‘SA100’ çeşidinde sürgün ucunu eksplant kaynağı olarak kullanarak elde etmişlerdir. Aynı araştırmacılar rejenere ettikleri sürgünleri 0.1  $mg l^{-1}$  NAA ortamında köklendirerek %80 başarıyla toprağa aktarmışlardır.

**Ntui ve ark. (2009)**, diploid *Colocynthis citrullus* L.’nin lokal üç farklı çeşidinde (‘Ejagham’, ‘Sewere’, ‘Barablackedge’) mikroçoğaltım için dört ve sekiz günlük in vitro fide kotiledonlarını farklı büyüklükte keserek eksplant kaynağı olarak kullanmışlar ve en iyi eksplant kaynağının dört günlük kotiledonlar olduğunu, rejenerasyon için en uygun ortamın 5.0  $mg l^{-1}$  BA içeren MS besiyeri, sürgün uzaması için en uygun ortamın 0.1  $mg l^{-1}$  BA içeren besiyeri olduğunu rapor etmişlerdir.

**İbrahim ve ark. (2009)**, diploid ‘Giza I’ karpuz çeşidinde sürgün rejenerasyonu ve transformasyon çalışması yapmışlardır. Aynı araştırmacılar sürgün rejenerasyonunda eksplant kaynağı olarak 5-6 günlük fideleri ve yaprakları, 30  $g l^{-1}$  sakkaroz ve 7  $g l^{-1}$  agar içeren MS besi yerinde (pH: 5.7) kültüre almışlardır. Araştırmacılar kotiledondan en yüksek kallus oluşumunun 0.5  $mg l^{-1}$  BA içeren MS besiyerinde (%75), yapraktan en yüksek kallus oluşumunun ise 1.0  $mg l^{-1}$  BA ve 1.0  $mg l^{-1}$  BA + 0.2  $mg l^{-1}$  NAA içeren MS besiyerinde (%70) olduğunu belirtmişlerdir. İndirekt sürgün rejenerasyonu ile en yüksek sürgün sayısı kotiledon kaynaklı kallustan, 0.5  $mg l^{-1}$  BA ortamında 6.4 adet olarak elde edildiğini belirtmişlerdir.

**Suratman ve ark. (2009)**, beş günlük in vitro fide kotiledonlarını kullanarak 30 gl<sup>-1</sup> sakkaroz, 8 gl<sup>-1</sup> agar içeren MS besi yerinde (pH: 5.8) iki diploid ve bir triploid karpuz çeşidinde ('Hwang Fong Yellow Quen', 'Round Dragon' ve 'Chin San seedless') sürgün rejenerasyon çalışması yapmışlar ve sürgün rejenerasyonu için BAP'ın 0 – 5.0 mg l<sup>-1</sup> aralığını test etmişlerdir. Çalışmada en yüksek sürgün sayısını 'Hwang fong yellow Quen' (HFYQ) çeşidinde (9,83 ± 0,54 adet) 5.0 mg l<sup>-1</sup> BAP içeren MS besi yerinde, 'Chin San' çeşidinde (8,87 ± 0,81 adet) 1.2 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı ortamda ve 'Round Dragon' çeşidinde (6,00± 0,32 adet) 2.5 mg l<sup>-1</sup> BAP içeren besi yerinde elde etmişlerdir. Aynı araştırmacılar en yüksek sürgün proliferasyonu sağladıkları HFYQ çeşidini 0,1 mg l<sup>-1</sup> IAA ortamında %80 oranında köklendirmişler ve köklendirilen bitkicikleri %50 başarıyla toprağa aklimitize etmişlerdir.

#### 2.4.2. Tetraploid Karpuz Üzerine Yapılmış Çalışmalar

**Lower ve Johnson (1969)**, diploid 'Charleston Gray' ve 'Princeton' karpuz çeşitlerinin tohum ve fidelerine kolşisin uygulayarak tetraploid hatlar elde etmeye çalışmışlar ve bu amaçla ekimden önce tohumları 6-24 saat (6 saat arayla) %0.1 ile %0.2'lik kolşisin çözeltisine daldırmışlardır. Kotiledon yapraklı aşamadayken fidelerin büyüme uçlarına %0.3'lük kolşisin çözeltisini 24 saat içinde 2 damla, 52 ve 80 saat içinde 8 damla olacak şekilde bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada 'Princeton' çeşidinin fidelerine 52 ve 80 saatte 8 damla kolşisin uygulamasıyla %6, 'Charleston Gray' çeşidinin ise %4 düzeyinde tetraploidi oluşturduğunu gözlemişler, 'Princeton' çeşidinde 24 saat ve 2 damla uygulamasında %3 tetraploidi oluşurken, 'Charleston Gray'de tetraploid fide oluşmamıştır. Her iki çeşitte de tohumların 24 saat %0.1 veya 18 saat %0.2 kolşisin çözeltisine daldırılması ile %0-20 oranlarında tetraploidi oluşmuştur. Aynı araştırmacılar tohumları ekimden önce kolşisin çözeltisine daldırmanın, fidelerin büyüme ucuna kolşisin damlatmaya göre çok daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

**Karchi ve ark. (1981)**, diploid 'Sugar Baby' karpuz çeşidinden , kotiledon yapraklı aşamadayken fidelerin büyüme ucuna kolşisin uygulayarak tetraploid Alena çeşidini geliştirmişlerdir. Aynı araştırmacılar 'Alena' çeşidinin 'Sugar Baby'e göre yaklaşık on gün daha geç olgunlaştığını, 'Alena'da meyve başına ortalama 70 tohum

bulunurken, ‘Sugar Baby’de bu sayının birkaç yüz adet olduğunu belirtmişler ve her iki çeşidin meyve veriminin birbirine yakın olduğunu (5 ton/da), ancak ‘Alena’ çeşidinde şeker miktarının daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.

**Karchi ve ark. (1983)**, diploid ‘Sugar Baby’ karpuz çeşidi ile bu çeşitten elde ettikleri tetraploid ‘Alena’ çeşidinin morfolojik gelişim ve ürün verimini kıyaslayacak bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada ‘Alena’nın 20 gün daha geç çiçeklendiğini, bitki boyu ile dal sayısının daha az olduğunu ve toplam boğum sayısının ‘Sugar Baby’nin %65’i kadar olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar ‘Alena’da ürün verimini arttırmak için üst gübreleme yapmışlardır. Tetraploid ‘Alena’da ürün veriminin  $6.41 \text{ kg m}^{-2}$  diploid ‘Sugar Baby’de  $3.86 \text{ kg m}^{-2}$  olduğunu rapor etmişlerdir.

**Mc Cuiston ve Elmstrom (1993)**, karpuz ve kavunda ploidi seviyesini belirlemek için stoma bekçi hücrelerinde kloroplast sayımı yapmışlar ve bu yöntemin kullanılmasının ploidi tespitinde önemli kolaylıklar sağladığını, kısa zamanda sonuç alınabildiğini belirtmişlerdir. Araştırma sonucunda diploid karpuzda ortalama kloroplast sayısı 11.4 adet, tetraploid karpuzda ise 19.7 adet olarak sayılmıştır. Diploid kavunda ortalama kloroplast sayısı 8.5 adet iken tetraploid kavunda 18.6 adet olarak rapor edilmiştir.

**Compton ve ark. (1994)**, diploid karpuz kotiledonları kullanarak in vitro ortamda tetraploid karpuz rejenere etmek için bir çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar bitkilerin ploidi seviyesini tespit etmek için stomalarda kloroplast sayımı yapmışlardır. Araştırma sonucunda tetraploid rejenerantlardaki ortalama kloroplast sayısı 18.6 adet iken diploid rejenerantlarda ortalama 11.2 adet olarak tespit edilmiştir.

**Compton ve ark. (1996)**, beş diploid karpuz çeşidinden in vitro ortamda tetraploid hatlar elde etmişler ve elde ettikleri rejenerantların ploidi seviyesini belirlemek için bekçi hücrelerdeki kloroplastları saymışlar ve diploidlerde ortalama 11.2, tetraploidlerde 19.1 adet kloroplast saydıklarını belirtmişlerdir. Araştırmacılar

tetraploidlerde erkek çiçek çapı ve yaprak genişliğinin daha büyük olduğunu rapor etmiştir.

**Sarı ve ark. (1999)**, karpuzda ploidi seviyesinin tespit edilebilmesi için farklı yöntemleri karşılaştırmalı olarak çalışmıştır. Araştırma sonuçlarına göre karpuzda bekçi hücrelerde bulunan kloroplast sayısının ploidi seviyesini belirlemek için kullanılmasının güvenilir bir yöntem olduğunu rapor etmişlerdir.

**Compton ve ark. (1999)**, in vitro karpuz rejenerantlarının ploidi seviyesini belirlemek için alternatif bir yöntem olarak FDA (fluorescein diacetate) ile yaprağın alt epidermisini boyayarak UV ışığı altında mikroskopta incelemişlerdir. Diploid ve tetraploid olduğu bilinen yapraklarda bekçi hücrelerdeki kloroplast sayısı, diploidlerde ortalama 9.7 adet ve tetraploidlerde 17.8 adet olarak rapor edilmiştir. Diploid Minilee çeşidinden in vitro elde edilen 188 rejenerantın yaklaşık % 11'inin tetraploide dönüştüğünü açıklamışlardır. Aynı araştırmacılar tetraploid sürgünlerin %55 ve diploid sürgünlerin %65'ini köklendirerek aklimitize ettiklerini belirtmişlerdir.

**Lizhi ve ark. (2002)**, Çin'de diploid sarı meyve kabuklu 2608 kodlu karpuzdan tetraploid hatlar elde etmek için fideleri kolşisinle muamele etmişler ve en yüksek tetraploidi uyartımının (%12.4) kolşisinin %0.2'lik çözeltilisinin uygulanmasıyla elde edildiğini rapor etmişlerdir.

**Koh (2002)**, diploid bir karpuz çeşidi olan 'Moodeungsan' da tetraploid hatlar elde etmek için antimitotik ajanlardan kolşisin (%0.05, 0.1, 0.2, 0.5) ve oryzalinin (1.0, 3.0, 6.0, 12.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>) farklı konsantrasyonlarını fidelerin büyüme uçlarına uygulamıştır. Aynı araştırmacı genç fideleri 48 saat boyunca % 0.2 kolşisin veya 60 µM oryzalin ile muamele ettiğinde bitkilerin %50'den fazlasında sürgün gelişiminin zayıfladığını belirtmiş ve en yüksek tetraploidi uyartımının da 12-24 saat süreyle % 0.2' lik kolşisin ile 24 saat 1.0-6.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> oryzalin ile muamelesi sonucu elde edildiğini açıklamıştır. Diploid ve tetraploid rejenerantlar kıyaslandığında, bekçi hücrelerdeki kloroplast sayısı ve büyüklüğü, anter büyüklüğü ve polen miktarı ile yaprak şekli gibi karakterlerin tamamen farklı olduğunu belirtmiş ve tetraploid

meyvelerdeki tohum sayısının, diploidlerin yaklaşık 1/10'u kadar olduğunu rapor etmiştir.

**Raza ve ark. (2003)**, karpuz da farklı eksplant kaynaklarından in vitro ortamda tetraploid eldesinin %0.01'lik kolşisin içeren 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA içeren MS besiyerinde 4 günlük kültürlerden elde edildiğini saptamışlar ve in vitro elde ettikleri tetraploidlerde taze yapraktaki DNA miktarını spektrofotometrik yolla tespit ederek diploidlerle kıyaslamışlardır. Araştırma sonucuna göre tetraploid hattaki DNA miktarının diploidin yaklaşık 2 katı kadar olduğunu rapor etmişlerdir.

**Jaskani ve ark. (2004a)**, diploid karpuzlardan tetraploid hatlar elde etmek için fidelerin büyüme uçlarına üç gün boyunca farklı dozlarda kolşisin çözeltisi uygulamışlardır. Çalışmada farklı hatların, kolşisin dozlarına farklı tepkiler verdiğini ve tüm hatlardaki en yüksek ölüm oranının %0.6'lık konsantrasyonda olduğunu belirtmişlerdir. En yüksek tetraploidi eldesinin %0.2 konsantrasyonda oluştuğunu ve bu oranın %3.3-% 5.5 olduğunu bildirmişler ve fidelerin ploidi seviyesini belirlemek için de bekçi hücrelerdeki kloroplast sayısını, DNA miktarını ve bitkilerin morfolojisini incelemişlerdir.

**Koh (2004)**, 'Moodeungsan' karpuz çeşidinin diploid, triploid ve tetraploid hatlarının bazı karakteristik özelliklerini karşılaştırmasını yapmış ve her üç ploidi seviyesinde yaprak genişliği ve yaprak alanı ile klorofil miktarının farklılık gösterdiğini belirtmiştir. Çalışmada triploid hattaki DNA miktarının diploidin yaklaşık 1.5 katı, tetraploidin ise diploidin yaklaşık 2 katı kadar olduğunu rapor etmiştir.

**Jaskani ve ark. (2004)**, karpuzun in vitro rejenerasyonuna kolşisinin etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla 0.25 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA içeren ve kolşisinin farklı konsantrasyonlarını (%0.01, 0.05 ve 0.1) içeren MS besi yerine eksplant olarak tohum ve kotiledonları kültüre almışlar, en yüksek sürgün proliferasyonu ve kök eldesini %0.01 kolşisin içeren MS besi yerinde tespit etmişler ve in vitro tetraploid oluşumu için düşük dozlarda kolşisin kullanımının daha uygun olduğunu belirtmişlerdir.

**Jaskani ve ark. (2005a)**, dokuz diploid karpuz çeşidinin fidelerine kolşisin uygulamışlar ve bunlardan oluşan hatların ploidi seviyesini belirlemek flow sitometri, bekçi hücrelerde kloroplast sayımı, yaprak alanı, çiçek çapı, polen kolpisi ve tohumların bazı karakteristik özelliklerini (uzunluk, genişlik, kalınlık) kullanmışlardır. Çalışma sonucunda DNA indeksi ile kloroplast sayısı arasında güçlü bir korelasyon olduğunu, flow sitometri ve kloroplast sayımının basit ve hızlı bir yöntem olarak kullanılabileceğini, kromozom sayımının ise sıkıcı ve zaman alan bir yöntem olduğunu rapor etmişlerdir. Aynı araştırmacılar tek bir bekçi hücresindeki kloroplast sayısının diploidlerde ortalama 5-7 adet, tetraploidlerde ortalama 10-12 adet olduğunu, diploidlerde çiçek çapının ortalama  $36.7 \pm 3.7$  mm, yaprak alanının  $140.02 \pm 28.9$  cm<sup>2</sup>, tetraploidlerde çiçek çapının ortalama  $41.2 \pm 1.95$  mm ve yaprak alanının  $182.9 \pm 35.1$  cm<sup>2</sup> olarak rapor etmişlerdir.

**Jaskani ve ark. (2005)**, yedi diploid karpuz çeşidi ve bunlardan oluşturulmuş tetraploid hatların bazı özellikleri yönünden karşılaştırılmasını yapmışlardır. Aynı araştırmacılar tetraploid genotiplerde yaprak alanı, klorofil içeriği, çiçek ve çiçek organlarının büyüklüğünün daha yüksek olduğunu rapor etmişler, keza internod uzunluğu, meyve ağırlığı ve toplam şeker içeriği yönünden iki ploidi seviyesinde herhangi bir fark bulunmadığını açıklamışlardır.

**Jaskani ve ark. (2006)**, tetraploid karpuz hatlarında tohum çimlenmesi ve fide büyümesinin zayıf olduğunu belirtmişler ve düşük çimlenme potansiyeli gösteren SS-8 ve SS-11 tetraploid hatlardaki bu durumu ortadan kaldırmak için bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada tohumları GA<sub>3</sub>, BA, KNO<sub>3</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin farklı konsantrasyonlarıyla muamele etmişler ve en yüksek çimlenmenin % 1-2 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ortamında ve 0.1 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> ortamında (%78.3) elde edildiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar BA'nın tohum çimlenmesine olumlu katkısı olmadığını ve kontrol ile benzerlik (%40-50) gösterdiğini rapor etmişlerdir.

**Dao ve ark. (2007)**, üç diploid karpuz çeşidinde fidelerin büyüme uçlarına farklı konsantrasyonlarda kolşisin uygulayarak tetraploid hatlar elde etmeye çalışmışlar ve bu amaçla bir veya iki gerçek yapraklı aşamadayken fidelerin büyüme

uçlarına %0.2 ve %0.4'lük kolşisin çözeltisi uygulamasıyla en iyi tetraploid uyartımının oluştuğunu rapor etmişlerdir.

**Omran ve ark. (2008)**, beş diploid karpuz çeşidinde ('Giza I', 'Sugar Baby', 'Crimson Sweet', 'Tirg, Luo') tetraploidi elde etmek için kolşisin (300-500 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>) ve dinitroanilin (12-15 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>) kullanarak bu antimitotik ajan çözeltilerini mukayese etmişlerdir. Bütün karpuz çeşitlerinde en yüksek tetraploid eldesi tohumların 12.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> dinitroanilin çözeltisine 12 saat daldırılmasıyla oluştuğunu rapor etmişlerdir. Karpuzların ploidi seviyesini tespit etmek için bekçi hücrelerdeki kloroplastları saymışlar ve diploidlerde 9.3-13, tetraploidlerde 22.6-26.4 adet kloroplast saydıklarını belirtmişlerdir.

**Ying ve ark. (2009)**, Çin'de diploid karpuzdan tetraploid hatlar elde etmek için bitki köklerine ve fidelerin büyüme uçlarına kolşisin uygulamışlardır. Çalışmada kolşisin dozu ve uygulama süresi arttıkça tetraploidi uyartımının da arttığını belirtmişler ve en iyi tetraploidi uyartımının (%20) fidelere kolşisin uygulanmasıyla elde edildiğini rapor etmişlerdir.



### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Materyal

Bu araştırmada kullanılan bitkisel materyaller Diyarbakır Karpuzu olarak bilinen ‘Beyazkış’, ‘Karakış’ ve ‘Sürme’ çeşitlerinin tohumları, Diyarbakır İl Tarım Müdürlüğü ve karpuz üretiminin yoğun olarak yapıldığı Diyarbakır Merkez ilçesine bağlı Erimli köyünden temin edilmiştir.



Resim 2. a. Sürme; b. Beyazkış; c. Karakış meyveleri.

#### 3.1.1 Proliferasyonda Kullanılan Eksplant Tipleri

**Tohum:** İn vitro fide ve kotiledon elde etmek için tohumlar hormonsuz MS besiyerinde çimlendirilip, sürgün proliferasyon çalışmalarında ana eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır.

**İN vitro fide:** İn vitro ortamda çimlenen tohumların beş günlük kotiledonlu aşamadaki fideleridir. Tüm in vitro sürgün proliferasyonu çalışmalarında oluşan sürgünler bu kotiledonlu fidelerden elde edilmiştir.

**Tarlardan alınmış apikal uçlar:** Tarlada tohumdan gelişen karpuz bitkilerinin 2-3 cm’lik uç kısımları kesilip, sterilize edildikten sonra kullanılmıştır.

**Kotiledon:** İn vitro ortamda çimlenen tohumların beş günlük kotiledonlarıdır.

### 3.1.2 Sitolojik Gözlemler İçin Kullanılan Eksplant Tipleri

**İn vitro Yapraklar:** Suni ortamdaki sürgün proliferasyon çalışmalarından elde edilmiş yapraklardır.

**İn vivo Yapraklar:** Büyüme odası, saksı ve tarlada doğal şartlarda tohumdan gelişen yapraklardır.

Hem in vitro hemde in vivo yapraklar, ploidi seviyesinin tespit edilmesi için kullanılmıştır. Stomalarda bulunan bekçi hücrelerindeki kloroplast sayısı sayılmış ve yaprakta bulunan toplam DNA miktarı tespit edilmiştir.

## 3.2. Metod

### 3.2.1. Kültür Ortamının ve Büyüme Düzenleyicilerinin Hazırlanması

#### 3.2.1.1. Besi Ortamlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Çalışmalarımızda besi ortamı olarak Murashige ve Skoog (1962) tarafından önerilen temel besi ortamının modifiye edilmiş şekli kullanılmıştır. Tüm çalışmalarda besi ortamı 7 gl<sup>-1</sup> agar (Sigma Ltd.) ile desteklenmiştir. Standart MS besi ortamında kullanılan stok çözeltilerin hazırlanması, aşağıda belirtilmiştir:

#### MS makro elementler ana solüsyonu

NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	16.5 g
KNO <sub>3</sub>	19.0 g
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	4.4 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	3.7 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.7 g
Distile Su	1000 cc'ye tamamlanır.

#### MS mikro 1 elementler ana solüsyonu

H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	620 mg
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	2230 mg
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	860 mg
KI	83.0 mg
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	25.0 mg
Distile su	1000 cc'ye tamamlanır.

**MS mikro 2 elementler ana solüsyonu**

CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	25 mg
CoCl <sub>2</sub> .6 H <sub>2</sub> O	25 mg
Distile su	100 cc'ye tamamlanır.

**Kompleks kelatör ana solüsyonu**

FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	2.78 g
Na <sub>2</sub> EDTA	2.00 g
Distile su	1000 cc'ye tamamlanır.

**Vitamin karışımı ana solüsyonu**

Nikotinik asit	50.0 mg
Glisin	2.0 mg
Pridoksin HCl	50.0 mg
Distile su	100 cc'ye tamamlanır.

**B<sub>1</sub> vitamini ana solüsyonu (10<sup>-3</sup>)**

Tiamin HCl	100 mg
Distile su	100 cc'ye tamamlanır.

**BA (6-Benzylaminopurin) ana solüsyonu (10<sup>-3</sup>)**

BA	100 mg
1N HCl	2-3 cc
Distile su	100 cc'ye tamamlanır.

**NAA (α Naftalenasetik asit) ana solüsyonu (10<sup>-3</sup>)**

NAA	100 mg
%95 lik etil alkol	3-5 cc
Distile su	100 cc'ye tamamlanır.

**IAA (İndolasetikasit) ana solusyonu ( $10^{-3}$ )**

IAA	100 mg
%95 lik etil alkol	5-10 cc
Distile su	100 cc'ye tamamlanır.

**IBA (3-İndolbutirik asit) ana solüsyonu ( $10^{-3}$ )**

IBA	100 mg
%95 lik etil alkol	3-5 cc
Distile su	100 cc'ye tamamlanır.

**Kinetin ana solüsyonu ( $10^{-3}$ )**

Kinetin	100 mg
Distile su	100 cc'ye tamamlanır.

**Tablo 4.** Standart Murashige ve Skoog Besi Ortam İçeriği ( $g l^{-1}$ )

Agar	7 g
Sakkaroz	30 g
MS ana solüsyonu (Makro elementler)	100 cc
MS mikroelementler-1	10 cc
MS mikroelementler-2	1 cc
Kompleks kelatör	10 cc
Vitamin karışımı	1 cc
B <sub>1</sub> vitamini ana solüsyonu	1 cc
Distile su	1000 cc'ye tamamlanır.

Türlerin başarılı bir şekilde kültüre alınması için, besin elementlerinin ve bitki büyüme düzenleyicilerinin doğru bir şekilde seçimi, son derece önemli bir faktördür. Çalışmalarda kullanılan tüm maddeler  $\text{mg l}^{-1}$  ve/veya (w/v) yüzde ile ifade edildi. Bir litre standart MS besi ortamı hazırlamak için 1 litrelik bir erlenmayer içerisine 250 ml saf su bırakılmış ve belirtilen konsantrasyonda sakkaroz eklenmiştir. Bu işlemi sırasıyla; Tablo 8’de verilen MS ana solüsyonu (100 cc.), MS mikroelementler-1 (10 cc), MS mikroelementler-2 (1 cc), Kompleks kelatör (10 cc), vitamin karışımı (1 cc) ve B<sub>1</sub> vitamini ana solüsyonu (1 cc) elemanlarının belirtilen konsantrasyonlarda erlenmayer içine aktarılması işlemi izlemiştir (**Tablo 4**).

Maddelerin sırasıyla eklenmesinden hemen sonra çökelmeyi önlemek amacıyla hazırlanan solüsyon birkaç dakika çalkalanmıştır. Ortam için gerekli olan bu elemanların eklenmelerinden sonra, tüm bu karışım distile su ile 1 litreye tamamlanmış ve besi yerleri 500 ya da 1000 ml’lik erlenlere aktarılmıştır. Bitki büyüme maddeleri (oksinler ve sitokininler) eklendikten sonra pH, 0,1 M NaOH ve 0,1 M HCl ile, 5,7-5,8’e ayarlanmış, ortamın katılaştırılması için agar eklenmiş ve bu karışım yine ortamın miktarına bağlı olarak 20-30 dakika, 121 °C’de 15 PSI (Pounds Per Square Inch) veya 1,03 bar basınç altında otoklavda eritilmiştir. Eritildikten sonra agarlı besi ortamı Magenta GA-7 kaplarına aktarılmış ve besi ortamı soğuduktan sonra eksplantlar kültüre alınmıştır. Kapakları 2 kat parafilmle sarılan kültür kapları, büyüme odasına aktarılmıştır.

### 3.2.1.2. Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin (BBD) stok çözeltilerinin hazırlanması için, büyüme maddelerinin gerekli olan miktarları bir parça alüminyum folyo içinde tartılmıştır. Stok çözeltilerin tümü genellikle mg/ml konsantrasyonlarında hazırlanmıştır. Büyüme maddeleri tartımdan sonra 50 veya 100 ml temiz balon jojeler içerisine, küçük bir magnetik karıştırıcı ile birlikte aktarılmış ve her madde uygun çözücüde eritildikten sonra, BBD’ler steril saf suyla, 50 veya 100 ml’ye tamamlanmıştır.

Büyüme maddelerinin hazırlanan stok çözeltileri +4°C’de buzdolabında saklandı ve her üç haftada bir yeniden taze solüsyonlar hazırlanmıştır.

### 3.3. Sterilizasyon Teknikleri

Tüm bitkiler gibi karpuz tohumlarının mantar ve bakteri kökenli enfeksiyonları engellemek için önceki bölümlerde de anlatıldığı gibi, mikropropagasyon işlemlerinde kullanılacak besi ortamı, kullanılan aletler ve kültür kaplarının da tamamen aseptik (steril) şartlar altında kullanılması son derece önemlidir. Bu sebeple sterilize edilecek eksplantlar için, en iyi yüzey sterilizasyon tekniğinin geliştirilmesi gereklidir. Bununla birlikte, bu teknik tüm mikroorganizmaları uzaklaştıracak, bitki sistemine zarar vermeyecek ve yukarıdaki yöntemlere uygun bir teknik olmalıdır.

Çalışmamızda gerçekleştirilen bütün *in vitro* çalışmalar esnasında izlenen sterilizasyon yöntemleri aşağıda tanımlanmıştır.

#### 3.3.1. Sıcaklıkla Sterilizasyon

Magenta GA-7 doku kültür kapları, yapılacak çalışmaya bağlı olarak yanmaz fırın poşetlerine 5-20 adet konularak, besi ortamı içeren erlenmayerler de doğrudan otoklavda 121°C'de 30 dakika 15 PSI sıcaklık basıncı altında sterilize edilmiştir.

#### 3.3.2. Filtrasyon ile Sterilizasyon

IAA, IBA, ABA ve GA<sub>3</sub> gibi sıcakta bozulan bileşiklerin sterilizasyonu için mikro filtrasyon yöntemi kullanılır. Belirtilen maddelerden çalışmamız süresince yalnızca IAA, IBA ve GA<sub>3</sub> kullanılmıştır. IAA, GA<sub>3</sub> ve IBA'nın sterilizasyonu için de çalışma boyunca Steril Acrodisc (0,2 µm) mikro filtre kullanılmıştır.

#### 3.3.3. Kullanılan Aseptik Yöntemler

Çalışmamızda gerçekleştirilen tüm işlemler standart sterilizasyon yöntemleri izlenerek steril bir oda içindeki steril bir kabin içinde gerçekleştirilmiş ve çalışmaya başlamadan önce tek kullanımlık steril cerrahi eldiven giyilmiştir. Manipülasyon sırasında düzenli olarak, ayrıca istemeden steril olmayan maddelere dokunulduktan sonra, her defasında eller % 96'lık alkolle steril edilmiştir.

Uzun süreli çalışmaların tümünde yüz maskesi kullanılmış, röpikaj odası ve laminar kabin her kullanımdan önce teknik alkolle silinmiş ve 20 dk süreyle UV ışık altında bırakılmıştır. Bistüri uçları ve pensetler kullanılmadan önce %96'lık alkolle silinerek ateşe tabi tutulup ve steril saf suda soğutulmuştur.

### 3.3.4. Sterilizasyonun Korunumu

Sterilitenin sürdürülmesi için mümkün olan tüm önlemler alınmış ve işlem bittiğinde, otoklavda sterilize edilen maddeler, steril odaya hızlı bir şekilde aktarılmıştır. Bu maddeler yerleştirilmeden önce tezgah yüzeyi ve erlenler %70'lik etil alkolle silinmiştir.

### 3.3.5. Pamuk ve Filtre Kağıtlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Pamuklar 2 kat ambalaj kağıdına sarılıp, etüvde 180°C'de iki saat süreyle sterilizasyona tabi tutulmuştur. Kültür işlemlerinde, üzerinde bitki parçalarının kesilmesi amacıyla iki ayrı ebatta kullanılan filtre kağıtları, iki kat aydinger kağıtlarına sarılarak, etüvde 180°C'de iki saat süre ile sterilize edilmiştir.

### 3.3.6. Cam Malzemelerin Sterilizasyonu

Cam malzemeler (tüp, petri kutusu, erlen, mezür, balon joje, pipet, beher) sadece sıcak su kullanılarak fırça yardımı ile iyice temizlendikten sonra üç defa saf sudan geçirilerek 180°C'de etüvde iki saat bekletilmek suretiyle kurutulmuştur. Tamamen kurumuş olan tüplerin ağzı steril pamuklar ile kapatıldıktan sonra ambalaj kağıtları ile iki kat sarılıp etüvde 180°C'de iki saat süre ile sterilize edilmiştir.

### 3.3.7. Penset ve Bistürilerin Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Penset ve bistüriler, önce %96'lık etil alkol ile silinip 10'arlı gruplar halinde alüminyum folyolara sarılarak, 300°C'lik bir kuru sterilizatörde 30 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

## 3.4. Kültür Şartları

Tüm organojenez çalışmalarında eksplantlar için 50 ml katı besi ortamı içeren Magenta GA-7 kültür kapları kullanılmıştır.

### 3.4.1. Büyüme Odası Koşulları

Büyüme odasında  $40 \mu\text{m m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ışık şiddetine sahip cıvalı flüoresans lambalar (400 w, MBFR/U, Thorn) ve ortam sıcaklığını  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  de sabit tutan bir sıcaklık kontrol sistemi bulunmaktadır. Ayrıca fotoperiyot, bir zaman ayarlayıcısı ile 16 saat

aydınlık ve 8 saat karanlık olacak biçimde düzenlenmiş bir ortamda, kültürlerin gelişmesi için gerekli koşullar sağlanmıştır.

### 3.5 Genel Değerlendirme

Bu bölümde genel olarak yöntemler tanımlanmış ve tekrarı önlemek amacıyla çalışmalar ana başlıklar halinde verilerek çalışmayla ilgili metodlar kısaca verilmiştir. Tez çalışması kapsamında yapılan tüm araştırmalar 6 ana başlık altında yürütülmüş olup, bunları şöyle sıralamak mümkündür;

- a) Sterilizasyon tekniklerinin geliştirilmesi çalışmaları
- b) Kültür başlatma çalışmaları
- c) Sürgün proliferasyon çalışmaları
- d) Köklendirme çalışmaları
- e) Aklimatizasyon ve tarla şartlarına aktarım çalışmaları
- f) Tetraploid bitki oluşturulması ve ploidi seviyesinin belirlenmesi

### 3.6. Sterilizasyon Tekniklerinin Geliştirilmesi Çalışmaları

Araştırma kapsamındaki sterilizasyon çalışmalarında, %53 NaOCl içeren (Axion) ticari sterilant kullanılmıştır. Tüm sterilizasyon işlemleri röpikaj odasında yapılmış olup, çalışmalarda Magenta GA-7 kültür kapları kullanılmıştır. Standart MS besi ortamına 30 gl<sup>-1</sup> sakkaroz ve 7 gl<sup>-1</sup> agar ilave edilerek BBD'siz olarak hazırlanmıştır. Çalışmalarda her seri için en az 20 eksplant kullanılmış ve her deney en az iki defa tekrarlanmıştır. Tohumlar steril kabin içinde kültüre alınmıştır. Ekim yapılan kültür kapları büyüme odasında gelişmeye terkedilmiştir.

Tüm sterilizasyon çalışmalarında yapılan gözlemler ve alınan ölçümler aşağıda belirtilmiştir;

**Enfekte Olan Kültür (%):** Kültürlerin gelişmeleri dikkate alınarak, 14 günlük kültür sonunda, enfekte olan kültür sayısının tüm kültürlere oranı hesaplanarak yüzde olarak ifade edilmiştir.

**Enfeksiyonsuz Gelişen Kültür (%):** Kültürün 14. gününe kadar enfekte olmadan gelişen kültür sayısının, tüm kültürlere oranı hesaplanarak, yüzde olarak ifade edilmiştir.

Sterilizasyon çalışmaları kapsamında aşağıdaki deneyler yapılmıştır.



### **3.6.1. Karpuz Tohumları ve Tarlada Yetiştirilmiş Karpuz Bitkisi Apikal Uçlarının Sterilizasyonuna NaOCI'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi**

Bu deneyde tohum ve tarladan alınmış apikal uçların enfekte olmadan gelişmesi ve dekontaminasyonuna etkisini tespit etmek için tohumlar, NaOCI'nin %2, %4, %8 ve %10'luk konsantrasyonlarında , apikal uçlar NaOCI'nin %1, %2, %4, %8'lik konsantrasyonlarında bir kontrol grubu ile birlikte test edilmiştir. Sert kabukları çıkarılan çekirdekler ve 2-3 cm uzunluğundaki apikal uçlar %70'lik alkolde 40 saniye çalkalanarak ön sterilizasyon yapılmıştır. Alkolden çıkarılan eksplantlar NaOCI'nin farklı çözeltileri içine konarak 10 dakika, çalkalayıcıda 150 rpm'de çalkalanmıştır. Yüzey sterilizasyonunda her seri, steril distile su ile üç kez beşer dakika çalkalanmıştır. Tohum ve apikal uçlar steril kabin içinde kurutma kağıtları üzerinde 10 dakika kurutularak MS besi ortamında kültüre alınmıştır.

### **3.6.2. Karpuz Tohumları ve Tarlada Yetiştirilmiş Karpuz Bitkisi Apikal Uçlarının Sterilizasyonuna NaOCI'de Optimum Bekletme Süresinin Tespiti**

Önceki deney sonuçlarından yola çıkılarak karpuz tohumları için %4'lük NaOCI ve tarladan alınmış apikal uçların yüzey sterilizasyonu için %2'lik NaOCI seçilmiştir. Bu deney NaOCI'de optimum bekletme süresini tespit etmek için yapılmıştır. Sert kabukları çıkarılan çekirdekler ve 2-3 cm uzunluğundaki apikal uçlar %70'lik alkolde 40 saniye çalkalanarak ön sterilizasyon yapılmıştır. Alkolden çıkarılan eksplantlar NaOCI çözeltisinde 5, 10, 15 ve 20 dakika süre ile çalkalayıcıda 150 rpm'de çalkalanmıştır. Yüzey sterilizasyonunda her seri steril distile su ile üç kez beşer dakika çalkalanmıştır. Tohum ve apikal uçlar steril kabin içinde kurutma kağıtları üzerinde 10 dakika kurutularak MS besi ortamında kültüre alınmıştır.

### **3.7. Kültür Başlatılması Çalışmaları**

Proliferasyonda kullanacağımız sürgünlerin elde edilebilmesi amacıyla gerçekleştirilen kültür başlatma çalışmalarında, beş günlük in vitro fideler, beş günlük in vitro kotiledon yaprakları ve tarlada tohumdan gelişen karpuz bitkilerinin apikal uçları eksplant olarak kullanılmıştır. İn vitro fideler, hipokotilden itibaren 0.5-1.0 cm kesilerek, kotiledon yaprakları bütün olarak ve apikal uçlar da 2-3 cm uzunluğunda kesilip sterilize edildikten sonra 40-50 ml MS besiyeri içeren Magenta

GA-7 kültür kaplarına aktarılmıştır. Her kültür kabına ayrı ayrı 3 adet in vitro fide, 5 adet kotiledon yaprağı ve bir adet apikal uç ekimi yapılarak kaplar büyüme odasında gelişmeye terkedilmiştir.

Kültür başlatma çalışmaları süresince yapılan deneylerdeki her uygulama için en az 20 eksplant kullanılmıştır. 21 günlük kültür dönemi sonucunda aşağıdaki ölçümler yapılmıştır.

**Ortalama Sürgün Uzunluğu (cm);** 21 günlük kültürden elde edilen ve altkültüre alınabilecek özellikteki sürgünlerin uzunluklarının ortalamasını ifade etmektedir.

**Ortalama Sürgün Sayısı (adet);** 21 günlük kültürden elde edilen ve altkültüre alınabilecek özellikteki sürgünlerin sayılarının ortalamasını ifade etmektedir.

Kültür başlatma çalışmaları kapsamında aşağıdaki deneyler yapılmıştır.

### **3.7.1. Karpuz Tohumlarının Çimlenmesi ve Fidelerin Gelişmesi İçin En Uygun BBD Ortamının Tespit Edilmesi**

Bu deneyde tohumların çimlenmesi ve gelişmesi için en uygun BBD ortamının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Tohumlar kontrol grubuyla beraber  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  GA<sub>3</sub>, BA, Kin, NAA, IAA, IBA destekli MS besiyerlerinde her kaba 5'er adet olacak şekilde ekilmiştir. Kültürün 14. gününde çimlenme oranı (%), hipokotil uzunluğu (cm), kök uzunluğu (cm) ve toplam fide uzunluğu (cm) bakımından karşılaştırılmışlardır.

### **3.7.2. Kültür Başlatılmasına Farklı Eksplant Tiplerinin Etkisi**

Bu deneyde tarlada tohumdan gelişen karpuz bitkilerinin apikal uçları kesilerek, çimlenmiş tohumlardan elde edilen, beş günlük in vitro fideler ve kotiledon yapraklarıyla mukayese edilmek üzere  $30 \text{ g l}^{-1}$  sakkaroz,  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA ve  $7 \text{ g l}^{-1}$  agar içeren MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Kültüre alındıktan 3 hafta sonra sürgün uzunluğu ve sürgün sayısı rapor edilmiştir.

### **3.7.3. Kültür Başlatılmasına Sitokininlerin (BA, Kin) Etkisi**

Karpuzda yapılmış kültür başlatma çalışmalarında genellikle  $0.5-1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA veya kinetin kullanıldığı rapor edilmiştir (Pirinç, 2004; Gray ve Elmstrom, 1991). Bu deney tohum kökenli beş günlük in vitro fidelerden, kültür başlatılmasına sitokininlerin (BA ve Kin; herbiri  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$ ) etkisini saptamak amacıyla yapılmıştır.

Aksenik fideler, hipokotilden itibaren 0.5-1.0 cm kesilerek, bir kontrol grubuyla beraber, BA ve kinetin içeren MS besiyerlerinde kültüre alınmış, kaplar büyüme odasında gelişmeye terkedilmiştir. Kültürün 21.gününde sürgün uzunluğu ve sürgün sayısı karşılaştırılmıştır.

#### **3.7.4. Kültür Başlatılmasına Eksplant Yaşının Etkisi**

Proliferasyon çalışmalarımızda kullanacağımız sürgünlerin elde edilmesine, eksplant yaşının etkisini tespit amacıyla gerçekleştirilen bu deneyde , tohum kökenli üç, beş ve yedi günlük in vitro fideler eksplant olarak kullanılmıştır. İn vitro fideler, hipokotilden itibaren 0.5-1.0 cm kesilerek, 40-50 ml  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA destekli MS besiyeri içeren Magenta GA-7 kültür kaplarına aktarılmıştır. Her kültür kabına 3'er adet in vitro fide ekimi yapılarak kaplar büyüme odasında gelişmeye terkedilmiştir. Kültürün 21.gününde sürgün uzunluğu ve sürgün sayısı karşılaştırılmıştır

#### **3.7.5. Kültür Başlatılmasına MS Besi Ortam Konsantrasyonunun Etkisi**

Bu deney beş günlük in vitro fidelerden kültür başlatılmasına MS besi ortam konsantrasyonunun etkisini tespit etmek için yapılmıştır. Eksplantlar  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren MS besi ortamının dört farklı konsantrasyonunda (1:4, 1:2, 1:1, 2:1) kültüre alınmıştır. Kültürün 21. gününde sürgün uzunluğu ve sürgün sayısı karşılaştırılmıştır.

#### **3.7.6. Kültür Başlatılmasına Karbon Kaynaklarının Etkisi**

Bu deney beş günlük in vitro fidelerden kültür başlatılmasına karbon kaynağı olarak kullanılan farklı şeker tiplerinin (sakkaroz, glikoz, maltoz ve fruktoz) etkisini tespit etmek için yapılmıştır. Eksplantlar  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA ve %3 oranında şeker içeren MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Kültürün 21.gününde sürgün uzunluğu ve sürgün sayısı karşılaştırılmıştır.

#### **3.7.7. Kültür Başlatılmasına Farklı Sakkaroz Konsantrasyonlarının Etkisi**

Bu deney beş günlük in vitro fidelerden kültür başlatılmasına farklı şeker tipleri içinde en iyi sonucu veren sakkarozun dört farklı konsantrasyonunun (%2, 3, 4 ve 5) etkisini tespit etmek için yapılmıştır. Eksplantlar  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren MS besi

ortamında kültüre alınmıştır. Kültürün 21. gününde sürgün uzunluğu ve sürgün sayısı karşılaştırılmıştır.

### **3.8. Sürgün Proliferasyonu Çalışmaları**

Sürgün proliferasyon çalışmalarında gerçekleştirilen deneylerde, materyal olarak, beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Proliferasyon çalışmalarında kullanılacak materyallerin buldukları kültür kapları steril laminar flow kabin içine alınmadan önce %96'lık etanol ile silinerek olası kontaminasyonların önüne geçilmiştir. 1.5-2.0 cm boyundaki apikal ve nodal sürgünler, ekime uygun şekilde temizlenip hazırlanarak 40-50 ml besi ortamı içeren Magenta GA-7 kültür kaplarına konulmuştur. Ekim işlemleri her kültür kabı 6-8 adet sürgün içerecek şekilde gerçekleştirilmiştir. Ekim yapılan kültür kapları büyüme odasında gelişmeye bırakılmıştır.

Deneylerdeki her uygulama için en az 20 eksplant kullanılmıştır. 21 günlük kültür sonunda aşağıdaki ölçümler yapılmıştır.

**Ortalama sürgün sayısı (adet);** bir eksplant üzerinde gelişen sürgünlerin steril kabin içerisinde sayılarak ortalamasının alınması sonucu ortaya çıkan rakamı ifade etmektedir.

**Ortalama sürgün uzunluğu (cm);** proliferasyon sonucu gelişen sürgünlerin steril kabin içerisinde digital kompas yardımıyla ölçülerek ortalamasının alınması sonucu ortaya çıkan rakamı ifade etmektedir.

Sürgün proliferasyon çalışmaları kapsamında aşağıdaki deneyler yapılmıştır.

#### **3.8.1.Sürgün Proliferasyonuna BA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi**

Sürgün proliferasyon çalışmalarında gerçekleştirilen deneylerde, materyal olarak beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Bu deneyde BA'nın 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 ve 8.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> konsantrasyonlarının sürgün proliferasyonuna etkileri, hormon içermeyen bir kontrol grubu ile birlikte test edilmiştir. Belirtilen konsantrasyonlarda BA ilave edilmiş standart MS besi ortamında 3 haftalık kültür sonucu, ortalama sürgün sayısı ve ortalama sürgün uzunluğu değerleri rapor edilmiştir.

### **3.8.2.Sürgün Proliferasyonuna Kinetinin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi**

Sürgün proliferasyon çalışmalarında gerçekleştirilen deneylerde, materyal olarak beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Bu çalışmada kinetinin 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 ve 8.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> konsantrasyonlarının sürgün proliferasyonuna etkileri, hormon içermeyen bir kontrol grubu ile birlikte test edilmiştir. Belirtilen konsantrasyonlarda kinetin ilave edilmiş standart MS besi ortamında 3 haftalık kültür sonucu, ortalama sürgün sayısı ve ortalama sürgün uzunluğu değerleri rapor edilmiştir.

### **3.8.3.Sürgün Proliferasyonunu İyileştirme Çalışmaları**

Bu bölümdeki araştırmaların amacı, sürgün proliferasyonunda en iyi sitokinin tipi olan BA içeren MS besiyerine çeşitli oksin, aminoasit ve poliaminlerin ilave edilmesiyle, maksimum sürgün proliferasyonunu sağlamaktır.

#### **3.8.3.1. BA+Oksin Karışımının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi**

Bu deneyde materyal olarak, beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Çalışmada sürgün proliferasyonunu arttırmak için en iyi sitokinin tipi olan BA'ya (Beyazkış ve Karakış için 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>, Sürme için 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>) oksinlerin (IBA, IAA ve NAA) 0.1 ve 0.2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> konsantrasyonlarının birlikte kombinasyonunun etkisi araştırılmıştır. Kontrol grubu olarak Beyazkış ve Karakış için 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>, Sürme için 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA içeren MS besi ortamı kullanılmıştır.

#### **3.8.3.2. BA ve BA+IBA Ortamlarında, Alt Kültür Sayısının, Sürgün**

##### **Proliferasyonuna ve Rozet Sürgün Oluşumuna Etkisi**

Bu deneyde materyal olarak, beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Çalışmanın amacı yapılan alt kültür sayısının sürgün proliferasyonuna etkisini saptamak ve alt kültürler sonucu her üç karpuz çeşidinde de görülen ve mikroçoğaltım için önemli bir problem olan rozet sürgün oluşumunu önlemektir. Deneyde en iyi sitokinin tipi olan BA'ya (Beyazkış ve Karakış için 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>, Sürme için 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>) sürgün uzunluğunda en iyi sonucu veren oksinin (0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA) birlikte kombinasyonunun etkisi araştırılmıştır. 3 kez yapılan alt kültürler sonucu, rozet bitki oranı ve ortalama sürgün sayısı değerleri rapor

edilmiştir. Kontrol grubu olarak Beyazkış ve Karakış için  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$ , Sürme için  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren MS besi ortamı kullanılmıştır.

### 3.8.3.3. Sürme’de BA+Aminoasit Karışımının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, Diyarbakır karpuz çeşitleri içinde en fazla ekonomik öneme sahip olan Sürme karpuzunda, tohum kökenli beş günlük in vitro fidelerden sürgün proliferasyonunu arttırmak için en iyi sitokin tipi olan BA’ya ( $0.5 \text{ mg l}^{-1}$ ) beş farklı aminoasitin (lösin, metiyonin, triptofan, valin, alanin) 50, 100, ve 200  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarda ilavesiyle birlikte etkisi araştırılmıştır. Kontrol grubu olarak  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren MS besi ortamı kullanılmıştır.

### 3.8.3.4. Sürme’de BA+Aminoasite, Poliamin İlavesinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, Sürme karpuzunda tohum kökenli beş günlük in vitro fidelerden, sürgün proliferasyonunu arttırmak için, önceki deneyde elde edilen en iyi kombinasyona ( $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA+100  $\mu\text{M}$  metiyonin) üç farklı poliaminin (spermin, spermidin, putresin) 50, 100 ve 200  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarında ilavesinin birlikte etkisi araştırılmıştır. Kontrol grubu olarak  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA+100  $\mu\text{M}$  metiyonin içeren MS besi ortamı kullanılmıştır.

## 3.9. Köklendirme Çalışmaları

Bu deneylerde in vitro fidelerden itibaren rejenere edilmiş sürgünlerin köklendirilmesi amaçlanmıştır. 1.5-2 cm uzunluğundaki sürgünlerin, alt kısmındaki 0.5 cm’lik bölümü yapraklarından temizlendikten sonra, köklenme ortamına aktarılmıştır. Ekim yapılan kültür kapları büyüme odasında gelişmeye terkedilmiştir. Köklendirme deneyleri kapsamındaki uygulamaların her biri için ortalama 20 sürgün kullanılmış ve 21 günlük kültür periyodu sonunda, aşağıdaki ölçümler yapılmıştır.

**Ortalama Kök Sayısı;** köklenen her bir sürgündeki kök sayısının ortalamasını ifade etmektedir.

**Ortalama Kök Uzunluğu (cm);** köklenen sürgünlerdeki kök uzunluğunun digital kompasla ölçülerek ortalamasının alınması sonucu ortaya çıkan rakamı ifade etmektedir.

**Köklenme Oranı (%);** köklenen sürgün sayısının toplam sürgün sayısına oranını (%) olarak ifade etmektedir.

Sürgünlerin köklendirilmesi çalışmaları kapsamında aşağıdaki deneyler yapılmıştır.

### **3.9.1. Köklenmeye IBA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi**

Bu deneyde materyal olarak, beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Çalışmada bir kontrol grubu ile birlikte 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA içeren MS besiyerine aktarılmış in vitro rejenere edilmiş sürgünlerin en iyi hangi konsantrasyonda kökleneceği araştırılmıştır. Kültürün 21. gününde farklı konsantrasyonlardaki kök sayısı, kök uzunluğu ve köklenme oranı karşılaştırılmıştır.

### **3.9.2. Köklenmeye IAA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi**

Bu deneyde materyal olarak, beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Çalışmada bir kontrol grubu ile birlikte 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IAA içeren MS besiyerine aktarılmış in vitro rejenere edilmiş sürgünlerin en iyi hangi konsantrasyonda kökleneceği araştırılmıştır. Kültürün 21. gününde farklı konsantrasyonlardaki kök sayısı, kök uzunluğu ve köklenme oranı karşılaştırılmıştır.

### **3.9.3. Köklenmeye NAA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi**

Bu deneyde materyal olarak, beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Çalışmada bir kontrol grubu ile birlikte 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA içeren MS besiyerine aktarılmış in vitro rejenere edilmiş sürgünlerin en iyi hangi konsantrasyonda kökleneceği araştırılmıştır. Kültürün 21. gününde farklı konsantrasyonlardaki kök sayısı, kök uzunluğu ve köklenme oranı karşılaştırılmıştır.

## **3.10. Aklimatizasyon Çalışmaları**

*In vitro* şartlarda köklenmiş karpuz bitkiciklerinin arazi şartlarına alıştırılmasında ilk aşama olan aklimatizasyon (şaşırtma) için otoklavda sterilize edilmiş torf kullanılmıştır. Bitkiler köklenme ortamından çıkarılıp musluk suyu altında yıkanarak, su içerisinde bir süre bekletildikten sonra sterilize edilmiş torf içeren plastik bardaklara dikilmişlerdir. Dikim işleminden sonra can suyu verilen

bitkilerin üzerleri cam beher ve bardaklarla kapatılarak belirtilen büyüme odasında gelişmeye bırakılmıştır. Sulama işlemi düzenli olarak yapılan bitkilerin üzeri 2. günden itibaren aşamalı olarak (2. günde 10 dakika, 3. günde 20 dakika, 4. günde 1 saat, 5. günde 4 saat, 6. günde 8 saat ve 7. günde 12 saat) açılmak suretiyle ortamın nemi kontrol altında tutulmuştur. Bu şekilde gelişmeye bırakılan bitkilerin üzerleri bir haftalık bir süre sonunda tamamen açılmıştır. Üzerleri tamamen açılan bitkiler 1 hafta daha büyüme odasında bekletildikten sonra torf ve toprak karışımı içeren saksılara aktarılarak arazi koşullarına aktarılmaya hazırlanmış ve 2 hafta bakım işlemleri düzenli bir şekilde yapılarak gelişmeleri sağlanmıştır.

### **3.11. Mikroçoğaltılmış ve Tohumdan Elde Edilmiş Bitki ve Karpuzların Karşılaştırılmaları**

#### **3.11.1. Bitki Boyu ve Boğum Sayısı Bakımından Karşılaştırma**

Bu deneyde mikroçoğaltılmış bitkilerden ve tohumdan elde edilmiş bitkilerin hasat dönemindeki ana gövde boyları (cm) ve ana gövde üzerindeki boğum sayıları (adet) yönünden karşılaştırılmaları incelenmiştir. Denemelerde, mikroçoğaltılmış sürgünler nisan ayı başında toprağa aktarılmış, tohumlar ise nisan ayı sonunda ekilmiştir.

#### **3.11.2. Ürün Verimi Yönünden Karşılaştırma**

Bu deneyde tarlaya aktarılan, mikroçoğaltılmış bitkilerden ve tohumdan elde edilmiş karpuzların, bitki başına alınan meyve sayısı, ürün verimi (kg/m<sup>2</sup>) ve ortalama meyve ağırlığı (kg/meyve) yönünden karşılaştırılmaları incelenmiştir. Hasat işlemi eylül ayı boyunca gerçekleştirilmiştir.

#### **3.11.3. Şeker İçeriği Yönünden Karşılaştırma**

Bu deneyde tarlaya aktarılan, mikroçoğaltılmış bitkilerden ve tohumdan elde edilmiş karpuzların sakkaroz, glikoz, fruktoz ve toplam şeker içeriği yönünden karşılaştırılmaları incelenmiştir. Numuneler cihaza verilmeden önce 0.45 µm çapında filtreden (Sartorius) geçirilmiştir. Şekerlerin (sakkaroz, glikoz ve fruktoz) kantitatif



olarak ölçümü high performance liquid chromatography (HPLC) cihazında, **Lee ve arkadaşlarının (1996)** yöntemi modifiye edilerek yapılmıştır. Tessek Polymer Sugar H<sup>+</sup> (250 x 4.6 mm) kolon ve yazılım olarak Picochrom kullanılmıştır.

### **3.12. Tetraploid Bitki Elde Edilmesi ve Ploidi Seviyesinin Belirlenmesi**

Poliploid karpuz bitkisi elde etmek için iki in vivo, iki de in vitro yöntem denenmiştir. İn vivo yöntemde tohum ve tohumlardan gelişen kotiledonlu fideler kullanılmış, in vitro yöntemde ise tohum ve tohum kökenli in vitro rejenere edilmiş sürgünler kullanılmıştır.

#### **3.12.1. İn vivo Koşullarda Tetraploid Bitkiler Elde Edilmesi Araştırmaları**

Bu deneyde diploid olduğu bilinen tohumlardan in vivo koşullarda tetraploid bitkiler elde etmek için iki yöntem denenmiştir. Her iki yöntemde de kullanılmak üzere, üç farklı dozda (%0.1, 0.2, 0.4) kolşisin çözeltisi hazırlanmıştır. İlk yöntemde, hazırlanan kolşisin çözeltileri içinde 12 ve 24 saat bekletilen tohumlar daha sonra tarlaya aktarılmıştır. İkinci in vivo yöntemde tarlaya ekilen tohumlardan gelişen kotiledonlu fidelerin ilk gerçek yaprak oluşumu aşamasında (yaklaşık 15-20 günlük fideler) büyüme ucuna, 24 saat içinde 8 saat arayla günde 3 kez bir damla ve 48 saat içinde 6 damla kolşisin çözeltileri damlatılmış ve katlama işlemi gerçekleştirilmiştir.

#### **3.12.2. İn vitro Koşullarda Tetraploid Bitkiler Elde Edilmesi Araştırmaları**

İN vitro yöntemde üç farklı dozda (% 0.01, 0.02, 0.03) kolşisin içeren hormonsuz MS besi ortamı hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerine yüzey sterilizasyonu yapılmış tohumlar ve in vitro rejenere edilmiş sürgünler üç ve beş günlüğüne aktarılmış ve bu süre sonunda, tohumlardan oluşan in vitro fideler ile in vitro rejenere edilmiş sürgünler 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Bu ortamda elde edilen sürgünlerin alt kültürü yapıldıktan sonra köklendirme ortamında köklendirilerek toprağa alıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir.

### 3.12.3. Ploidi Seviyesinin Belirlenmesi

Ploidi seviyesi, stoma bekçi hücrelerindeki kloroplastların sayılması ve taze yapraktaki toplam DNA miktarının spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle belirlenmiştir. DNA miktarı 1 gram taze yaprakta  $\mu\text{gml}^{-1}$  cinsinden hesaplanmıştır. DNA miktar analizi **Ainsworth ve Beynon'a (1994)** göre yapılmıştır. Bulguları morfolojik olarak desteklemek için ayrıca yaprak genişliği ve erkek çiçek çapı gibi ölçümler yapılmıştır.

### 3.13 İstatistiksel Analiz (Verilerin Değerlendirilmesi)

Bütün çalışmalar tesadüf blokları deneme desenine göre yapılmıştır. Verilerdeki değişkenliği hızlı bir şekilde görmek için bütün çalışma sonuçlarının tanımlayıcı analizleri **SPSS 12.0** paket programı kullanılarak yapılmıştır. Test edilen işlemler arasındaki farklılıkların belirlenebilmesi için veriler ANOVA'ya tabi tutulmuştur. İstatistiki önem görülen işlemler belirlendiğinde ortalama veriler arasındaki farklılıklar  $P < 0.05$  seviyesinde *Duncan* çoklu karşılaştırma testine tabi tutulmuştur. Oransal veriler durumunda ise Ki kare ( $\chi^2$ ) testi uygulanmıştır.

Analizlerde aşağıdaki önemlilik seviyeleri kullanılmıştır:

$P > 0.05$	= önemli değil
$P < 0.05$	= önemli
$P < 0.01$	= çok önemli
$P < 0.001$	= oldukça çok önemli

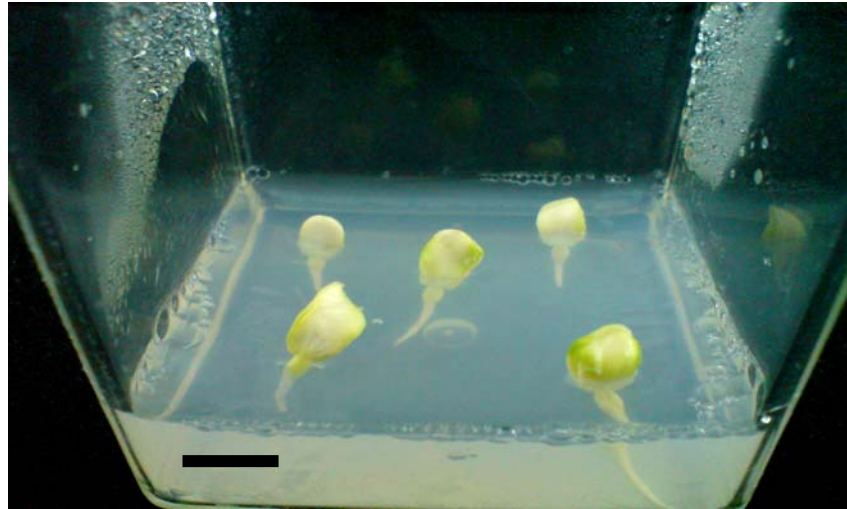
## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Sterilizasyon Tekniklerinin Geliştirilmesi Çalışmaları

Bu bölümde karpuz tohumları ve apikal uçlarından, aksenik doku kültürü materyali elde etme süreciyle ilgili sterilant olarak kullanılan NaOCI'in etkisini araştırmak için, aşağıdaki deneyler yapılmıştır

#### 4.1.1.Tohumların Yüzey Sterilizasyonuna NaOCI'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde karpuz tohumlarının yüzey sterilizasyonuna NaOCI'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi, bir kontrol grubu ile birlikte, 10 dakika süre ile test edilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 5'te verilmiştir.



**Resim 3.** Hormonsuz ortamda kültüre alınmış Beyazkış tohumları. (Bar: 1.0 cm)

Sert kabukları çıkarılan tohumlarla yapılan deneyde kontrol gruplarının tamamı enfekte olduğundan karpuz tohumlarından itibaren kültür başlatmak için yüzey sterilizasyonunun gerekli olduğu görülmektedir.

**Tablo 5.** Karpuz tohumlarının sterilizasyonuna farklı NaOCI konsantrasyonlarının etkisi

	NaOCI (%)	Enfekte kültür (%)	Enfeksiyonsuz çimlenen kültür (%)
<b>Beyazkış</b>	Kontrol	100	-
	2	29	65
	4	6	85
	8	-	80
	10	-	78
$\chi^2$ (s.d:4)		P < 0.05	P < 0.05
<b>Karakış</b>	Kontrol	100	-
	2	16	81
	4	-	91
	8	-	84
	10	-	70
$\chi^2$ (s.d:4)		P < 0.05	P < 0.05
<b>Sürme</b>	Kontrol	100	-
	2	6	88
	4	-	94
	8	-	91
	10	-	81
$\chi^2$ (s.d:4)		P < 0.05	P < 0.05

*Rakamlar kültürün 14. gününde en az 30 tohumun ortalamasıdır*

Enfekte olan ve enfeksiyonsuz çimlenen (**Resim 3**) kültürlerin yüzdeleri, NaOCI'nin farklı konsantrasyonlarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar göstermiştir (P<0.05). Yapılan deneyde 'Karakış' ve 'Sürme'de 10 dakika %4'lük NaOCI'de tohumlarda enfeksiyon görülmezken, 'Beyazkış'ta 10 dakika %4'lük NaOCI'de tohumların çok düşük oranda enfekte olduğu görülmüştür (Tablo 5). Ancak NaOCI konsantrasyonu yükseldikçe, sterilantın aşırı etkisi görülmüş ve tohumların çimlenme oranlarında düşüş gözlenmiştir. Bu nedenle tohumların dekontaminasyonu üzerine NaOCI'de optimum bekletme süresinin tespiti için bundan sonraki çalışmalarda %4'lük NaOCI kullanılması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

#### 4.1.2. Tohumların Yüzey Sterilizasyonuna NaOCl'de Optimum Bekletme Süresinin Tespiti

Önceki deneyde belirtildiği gibi karpuz tohumlarının yüzey sterilizasyonu için %4'lük NaOCl seçilmiştir. Bu deney %4'lük NaOCl'de optimum çalkalama süresini tespit etmek için yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 6'da verilmiştir.

**Tablo 6.** Karpuz tohumlarının sterilizasyonuna % 4'lük NaOCl'de çalkalama sürelerinin etkisi

	Bekletme süresi (Dakika)	Enfekte kültür (%)	Enfeksiyonsuz çimlenen kültür (%)
<b>Beyazkış</b>	Kontrol	100	-
	5	22	75
	10	6	85
	15	-	85
	20	-	79
	$\chi^2$ (s.d:4)		P < 0.05
<b>Karakış</b>	Kontrol	100	-
	5	16	78
	10	-	88
	15	-	73
	20	-	74
	$\chi^2$ (s.d:4)		P < 0.05
<b>Sürme</b>	Kontrol	100	-
	5	10	87
	10	-	94
	15	-	94
	20	-	84
	$\chi^2$ (s.d:4)		P < 0.05

*Rakamlar kültürün 14. gününde en az 30 tohumun ortalamasıdır*

Tablo 6'daki verilerden anlaşılacağı gibi, tohumların sterilizasyonunda NaOCl'de bekletme süresinin etkili olduğu açık bir şekilde görülmektedir. Enfekte olan ve çimlenen kültürlerin yüzdeleri, NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar göstermiştir (P<0.05). İmmersiyon süresinin 5 dakikadan 20 dakikaya çıkarılması eksplantların yüzey sterilizasyonuna olumlu etki yapmış ancak gelişmeyen kültür sayısında önemli oranda artış olmuştur. 'Karakış' ve 'Sürme' çeşitlerinde %4'lük NaOCl'de en uygun çalkalama süresi 10 dakika, 'Beyazkış'ta ise 15 dakika olarak tespit edilmiştir.

#### 4.1.3. Tarlada Yetiştirilmiş Karpuz Bitkisi Apikal Uçlarının Sterilizasyonuna NaOCI'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde tarladan alınmış apikal uçların enfekte olmadan gelişmesi ve dekontaminasyonuna etkisini tespit etmek için, NaOCI'nin farklı konsantrasyonları bir kontrol grubu ile birlikte, 10 dakika süre ile test edilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 7'de verilmiştir. 2-3 cm uzunluğunda kesilen apikal uçlarla yapılan deneyde kontrol gruplarının tamamı enfekte olmuştur. Bu nedenle apikal uçlardan itibaren kültür başlatmak için yüzey sterilizasyonunun kesinlikle gerekli olduğu görülmektedir.

**Tablo 7.** Apikal uçların sterilizasyonuna NaOCI'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi

	NaOCI (%)	Enfekte olan kültür (%)	Enfeksiyonsuz gelişen kültür (%)
Beyazkış	Kontrol	100	-
	1	80	20
	2	35	45
	4	30	50
	8	20	30
$\chi^2$ (s.d:4)		P < 0.05	P < 0.05
Karakış	Kontrol	100	-
	1	70	30
	2	45	55
	4	30	45
	8	20	40
$\chi^2$ (s.d:4)		P < 0.05	P < 0.05
Sürme	Kontrol	100	-
	1	65	30
	2	30	55
	4	20	35
	8	15	25
$\chi^2$ (s.d:4)		P < 0.05	P < 0.05

*Rakamlar kültürün 14. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır*

Enfekte olan ve enfeksiyonsuz gelişen kültürlerin yüzdeleri, NaOCI'nin farklı konsantrasyonlarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar göstermiştir (P<0.05). Bütün karpuz tiplerinde apikal uçlardaki en yüksek enfeksiyon oranı, %100 olarak kontrol grubunda gerçekleşmiştir. Yapılan deneyde 'Karakış' ve 'Sürme'de en iyi

sonuç 10 dakika %2'lik NaOCl'de elde edilirken, 'Beyazkış'ta ise 10 dakika %4'lük NaOCl'de elde edilmiştir (Tablo 7). Ancak NaOCl konsantrasyonu yükseldikçe apikal uçlarda enfeksiyonsuz gelişmeyen kültür sayısında önemli artışlar kaydedilmiştir. Bu nedenle apikal uçların dekontaminasyonu üzerine NaOCl'de optimum bekletme süresinin tespiti için bundan sonraki deneyde %2'lik NaOCl kullanılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

#### 4.1.4. Tarlada Yetiştirilmiş Karpuz Bitkisi Apikal Uçlarının NaOCl'deki Sterilizasyon Sürelerinin Tespiti

Önceki deneyde belirtildiği gibi apikal uçların yüzey sterilizasyonu için %2'lik NaOCl seçilmiştir. Bu deney %2'lik NaOCl'de optimum çalkalama süresini tespit etmek için yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 8'de verilmiştir.

**Tablo 8.** Apikal uçların sterilizasyonuna % 2'lik NaOCl'de çalkalama sürelerinin etkisi

	Bekletme süresi (Dakika)	Enfekte olan kültür (%)	Enfeksiyonsuz gelişen kültür (%)
Beyazkış	Kontrol	100	-
	10	30	55
	15	20	60
	20	10	50
	$\chi^2$ (s.d:3)	P < 0.05	P < 0.05
Karakış	Kontrol	100	-
	10	45	50
	15	25	60
	20	20	50
	$\chi^2$ (s.d:3)	P < 0.05	P < 0.05
Sürme	Kontrol	100	-
	10	30	60
	15	20	50
	20	15	45
	$\chi^2$ (s.d:3)	P < 0.05	P < 0.05

*Rakamlar kültürün 14. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır*

Tablo 8'deki verilerden de anlaşılacağı gibi, apikal uçların sterilizasyonunda NaOCl'de bekletme süresinin etkili olduğu açık bir şekilde görülmektedir. Enfekte

olan ve enfeksiyonsuz gelişen kültürlerin yüzdeleri, NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar göstermiştir ( $P < 0.05$ ). Gruplar arasında en yüksek enfeksiyon oranı tüm çeşitlerde %100 ile kontrol grubunda görülmüştür. Yapılan deneylerde 'Karakış' ve 'Beyazkış'ta en iyi sonuç 15 dakika %2'lik NaOCl'de elde edilirken Sürme'de 10 dakika %2'lik NaOCl'de elde edilmiştir.

#### 4.1.5. Sterilizasyon Çalışmaları ile İlgili Genel Değerlendirme

İn vitro doku kültüründe en önemli nokta sterilizasyon işlemleridir. Doku kültürü çalışmalarında yüzey sterilizasyonu için en fazla kullanılan maddeler etil alkol, NaOCl,  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ,  $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{AgNO}_3$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'dir.

Doku kültüründe en uygun eksplant kaynağını, daha önceden sterilize edilmiş tohumlardan elde edilen aseptik fideler oluşturur. Diyarbakır karpuz çeşitlerinde, proliferasyon çalışmalarında eksplant kaynağı olarak kullanılan tohum ve tarladan alınan sürgün uçlarında, yapılan çalışmalar sonucu yüzey sterilizasyonunun kesinlikle gerekli olduğu görülmüştür. Karpuzda sürgün rejenerasyonu için en çok kullanılan başlangıç materyali olan tohum ve sürgün uçlarında, bir çok araştırmacı farklı sterilizasyon teknikleri geliştirmiştir. Araştırmacıların büyük çoğunluğu sterilant olarak NaOCl kullanırken (**İbrahim ve ark., 2009; Suratman ve ark., 2009; Shalaby ve ark., 2008; Pirinç ve Onay, 2008; Krug ve ark., 2005; Raza ve ark., 2003; Compton, 1999; Compton ve Gray, 1994; Compton ve Gray, 1993; Tabei ve ark., 1993**) bazı araştırmacılar da  $\text{HgCl}_2$  kullanmayı (**Sultana ve ark., 2004; Sultana ve Bari, 2003; Chaturvedi ve Bhatnagar, 2001**) tercih etmişlerdir. **İbrahim ve ark. (2009)**, diploid 'Giza I' çeşidinde tohumları ön sterilizasyon için %30'luk etanolde 5 dakika yıkamışlar, ardından %10'luk NaOCl'de 10 dakika çalkalama işlemi uygulamışlar ve steril saf suyla üç defa 5'er dakika süreyle durulamışlardır. **Shalaby ve ark. (2008)**, karpuz tohumlarının sterilizasyonunu %20'lik kloroksta (% 2.5 NaOCl) 20 dakika çalkalayarak ardından beş kez steril saf suda durulayarak yapmışlardır. **Krug ve ark. (2005)**, diploid 'Crimson Sweet' çeşidinde tohum sterilizasyonunu 30 dakika %2.5'lik NaOCl'de bekleterek ardından üç kez steril saf suyla durulayarak gerçekleştirmiştir. **Raza ve ark. (2003)**, diploid 'Sugar Baby' çeşidinde tohumların sterilizasyonunu %2.5'lik NaOCl'de 30 dakika



bekleterek ve üç kez steril saf suda durulayarak yapmışlardır. Yapılan çalışmalardan da anlaşılacağı gibi her karpuz çeşidi için farklı bir sterilizasyon yöntemi uygulanması gereklidir.

Yaptığımız çalışmada tohumların yüzey sterilizasyonunda ‘Karakış’ ve ‘Sürme’ çeşitlerinde en uygun konsantrasyon ve zamanın %4 NaOCI + 10 dakika, ‘Beyazkış’ta ise %4 NaOCI + 15 dakika olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar yapılan diğer çalışmalardaki konsantrasyonlara yakın olmakla beraber, rapor edilmiş bir çok çalışmadan daha kısa sürede sterilizasyon gerçekleştirilmiştir. ‘Beyazkış’ta sterilizasyon süresinin diğer çeşitlerden daha uzun olması bu çeşidin tohumlarının daha büyük olması ile açıklanabilir. **Compton ve Gray (1993)**, büyük tohumlu çeşitlerin, küçük tohumlulara göre daha yüksek NaOCI konsantrasyonda ve daha uzun sürede sterilize edildiğini rapor etmiştir. Sonuçlarımız yapılan çalışmalarda kullanılan NaOCI konsantrasyonu bakımından yakın değerler olsa da sterilizasyon süresi bir çok araştırmadan daha kısa sürede tamamlanmıştır.

**Gray ve Elmstrom (1991)**, seradaki bitkilerin sürgün uçlarını keserek bu eksplantların sterilizasyonunu, %2.5’lik NaOCI’de 3 dakika bekleterek ardından beş kez steril saf suda durulayarak yapmışlardır. **Pirinç ve Onay (2008)**, tarladan alınan sürgün uçlarını ön sterilizasyon için 3-5 dakika musluk suyunda yıkamışlar ve %70’lik etanolde 30 saniye çalkalamışlardır. Daha sonra eksplantları %4’lük NaOCI’de 20 dakika çalkalayarak ardından beş kez steril saf suda durulayarak yapmışlardır. Seradan alınan eksplantların NaOCI’de sterilizasyon süresi, bahçeden alınan eksplantlara göre daha kısa sürede tamamlanmıştır. **Compton ve Gray (1993)**, seradaki bitkilerin sürgün uçlarını keserek bu eksplantların sterilizasyonunu, %1.25’lik NaOCI’de 5 dakika çalkalayarak ardından beş kez steril saf suda durulayarak yapmışlardır. Çalışmamızda tarladan alınan sürgün uçlarının yüzey sterilizasyonunda ‘Karakış’ ve ‘Beyazkış’ta en uygun konsantrasyon ve zamanının %2 NaOCI + 15 dakika, ‘Sürme’de %2 NaOCI + 10 dakika olduğu tespit edilmiştir. Bulgularımız araştırmacıların bulgularını desteklemekte olup, sonuçlar aynı türün değişik çeşitlerinde bile farklı sterilizasyon protokollerinin kullanılması gerektiğini göstermektedir.

## 4.2. Kültür Başlatılması Çalışmaları

### 4.2.1. Karpuz Tohumlarının Çimlenmesi ve Fidelerin Gelişmesi İçin En Uygun BBD Ortamının Tespit Edilmesi

Bu deneyde farklı karpuz çeşitlerinde, tohumların çimlenmesi ve fidelerin gelişmesi için en uygun ortamının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

**Tablo 9.** Karpuz tohumlarının çimlenmesi ve fidelerin gelişmesine BBD'lerin etkisi.

	BBD 0.5 mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	Çimlenme Oranı (%)	Hipokotil uzunluğu (cm) ± SH	Kök uzunluğu (cm) ± SH	Toplam fide uzunluğu (cm) ± SH
Beyazkış	Kontrol	86	5.1 ± 0.13 c	2.9 ± 0.09 b	8.2 ± 0.13 bc
	GA <sub>3</sub>	95	8.1 ± 0.17 a	4.0 ± 0.08 a	12.1 ± 0.22 a
	BA	82	1.7 ± 0.04 e	1.5 ± 0.04 c	3.3 ± 0.08 d
	KİN	90	6.2 ± 0.13 b	3.6 ± 0.09 ab	9.8 ± 0.26 b
	NAA	83	2.9 ± 0.05 de	1.0 ± 0.02 d	4.0 ± 0.07 d
	IAA	90	6.5 ± 0.14 b	3.4 ± 0.09 ab	9.9 ± 0.14 b
	IBA	92	6.4 ± 0.12 b	1.6 ± 0.04 c	7.5 ± 0.14 c
	$\chi^2$ (s.d:6)		P < 0.05		
Karakış	Kontrol	91	5.8 ± 0.10 c	2.7 ± 0.08 c	8.7 ± 0.10 c
	GA <sub>3</sub>	96	9.2 ± 0.13 a	4.0 ± 0.12 a	13.2 ± 0.21 a
	BA	84	1.9 ± 0.04 e	1.7 ± 0.04 d	3.62 ± 0.09 d
	KİN	88	6.8 ± 0.11 b	3.6 ± 0.09 b	10.4 ± 0.15 bc
	NAA	85	2.7 ± 0.06 d	1.1 ± 0.05 e	3.8 ± 0.06 d
	IAA	90	6.8 ± 0.12 b	3.6 ± 0.09 b	10.4 ± 0.14 bc
	IBA	89	6.2 ± 0.12 bc	1.9 ± 0.03 d	8.6 ± 0.12 c
	$\chi^2$ (s.d:6)		P > 0.05		
Sürme	Kontrol	94	6.4 ± 0.16 c	3.3 ± 0.11 b	9.7 ± 0.19 bc
	GA <sub>3</sub>	98	9.5 ± 0.19 a	5.0 ± 0.13 a	14.4 ± 0.26 a
	BA	86	1.7 ± 0.08 e	1.6 ± 0.09 d	3.4 ± 0.14 e
	KİN	92	6.8 ± 0.16 c	3.8 ± 0.14 b	10.6 ± 0.18 b
	NAA	88	3.1 ± 0.09 d	1.2 ± 0.07 e	4.2 ± 0.12 de
	IAA	91	6.7 ± 0.16 c	3.6 ± 0.14 b	10.2 ± 0.25 b
	IBA	90	7.1 ± 0.14 bc	1.9 ± 0.06 cd	9.0 ± 0.18 c
	$\chi^2$ (s.d:6)		P > 0.05		

Rakamlar kültürün 14. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır.

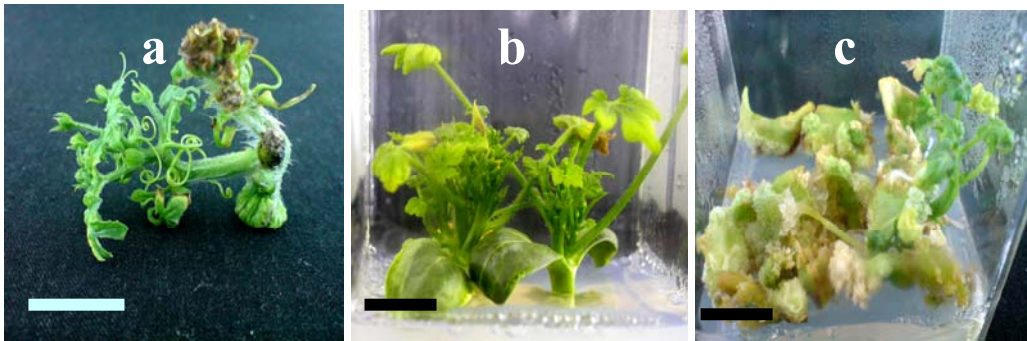
Tablo 9'daki verilerden görüldüğü gibi, karpuz tohumlarının çimlenmesi için kullanılan BBD'lerin etkisi kontrole göre farklılıklar göstermiştir. Sayısal olarak en yüksek çimlenme oranı 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> içeren MS besiyerinde elde edilmekle birlikte istatistiksel olarak gruplar arasındaki fark 'Beyazkış'ta önemli, 'Karakış' ve 'Sürme'de önemsiz olmuştur. Çimlenme oranı GA<sub>3</sub> içeren ortamda 'Beyazkış',

'Karakış' ve 'Sürme' için sırasıyla % 95, %96 ve % 98 olurken, BBD'siz kontrol grubunda aynı sırayla %86, %91 ve %94 olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeninin GA<sub>3</sub>'ün tohum çimlenmesi sırasında hidrolitik enzimleri faaliyetini arttırmasıyla açıklanabilir. Yaptığımız çalışma çimlenme ortamı olarak BA haricinde diğer BBD'leri kullanabileceğimizi göstermektedir. Bütün karpuz tiplerinde genel olarak, BA ortamında hem kök oluşumu inhibe olmakta hem de hipokotil uzaması durmaktadır. Her üç karpuz tipinde de hipokotil uzunluğu ve toplam fide uzunluğu GA<sub>3</sub> içeren ortamda daha büyük olmuş ancak oluşan fidelerin kontrole göre daha ince yapıda olduğu gözlenmiştir. Hipokotil uzunluğu ve toplam fide uzunluğunun, en düşük oranda BA içeren ortamda saptanmıştır. Sürme tohumlarının çimlenme ve gelişme başarısının hemen bütün ortamlarda diğer karpuz tiplerinden daha iyi olduğu tespit edilmiştir.

Bitki büyüme düzenleyicileri çok pahalı olması ve tohumların BBD'siz ortamdaki çimlenme başarısı da yüksek olmasından dolayı bundan sonraki çalışmalarda çimlenme ortamı olarak BBD'siz MS besiyeri kullanılmasına karar verilmiştir.

#### 4.2.2. Kültür Başlatılmasına Farklı Eksplant Tiplerinin Etkisi

Bu deneyde sürgün ucu kültürlerinin başlatılması için en uygun eksplant tipinin saptanması amaçlanmıştır. Deneyde tarlada tohumdan gelişen karpuz bitkilerinin apikal uçları kesilerek, çimlenmiş tohumlardan elde edilen beş günlük in vitro fideler ve kotiledonlarla mukayese edilmek üzere 1.0 mgL<sup>-1</sup> BA içeren MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Kültürün 3. haftasında oluşan sürgünlerin uzunluğu ve sayısı tespit edilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 10'da verilmiştir.



**Resim 4.** Sürme'de **a.** Tarladan alınan apikal uç; **b.** İn vitro fide; **c.** Kotiledonda kültür başlatılması. (Bar: 1.0 cm)

**Tablo 10.** Kültür başlatılmasına farklı eksplant tiplerinin etkisi

Eksplant Tipi		Ortalama Sürgün Sayısı $\pm$ SH	Ortalama Sürgün Uzunluğu (cm) $\pm$ SH
Beyazkış	Tarladan alınan	3.21 $\pm$ 0.30 b	1.03 $\pm$ 0.15 b
	İn vitro fide	6.88 $\pm$ 0.66 a	1.90 $\pm$ 0.22 a
	Kotiledon	2.62 $\pm$ 0.21 b	0.86 $\pm$ 0.14 b
Karakış	Tarladan alınan	3.49 $\pm$ 0.38 b	1.15 $\pm$ 0.13 b
	İn vitro fide	8.58 $\pm$ 0.82 a	1.81 $\pm$ 0.13 a
	Kotiledon	1.90 $\pm$ 0.14 c	1.08 $\pm$ 0.10 b
Sürme	Tarladan alınan	4.88 $\pm$ 0.32 b	1.08 $\pm$ 0.12 b
	İn vitro fide	7.10 $\pm$ 0.24 a	1.76 $\pm$ 0.20 a
	Kotiledon	2.35 $\pm$ 0.15 c	0.93 $\pm$ 0.14 b

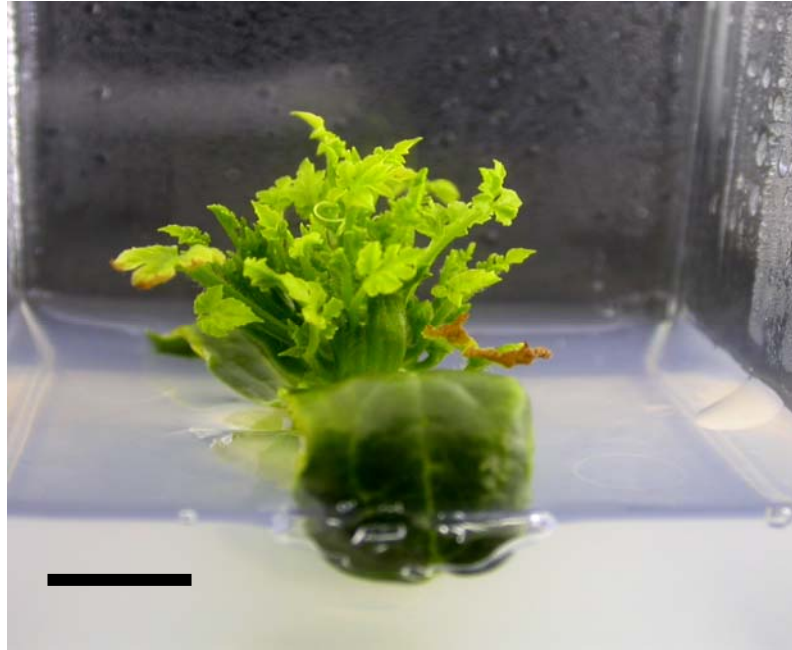
*Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır*

*Tabloda bir sütunda farklı bir harfle gösterilen iki ortalama değer bu ortalamaların DUNCAN testine göre P=0.05 seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu gösterir*

Sürgün ucu kültürlerinin başlatılmasında her üç karpuz tipinde de, tohumlardan elde edilen in vitro fidelerden ortaya çıkan sürgünler, apikal uç ve kotiledonlardan oluşturulardan hem daha uzun hem de fazla sayıda olmuş ayrıca in vitro fidelerden elde edilen sürgünlerin alt kültüre almak için morfolojik olarak daha uygun olduğu saptanmıştır. Kotiledonların bazılarında sürgünler oluşurken aynı zamanda kallus oluşumunun da gerçekleştiği gözlenmiştir (**Resim 4**). Tablo 10'daki verilerden de anlaşılacağı gibi, in vitro fidelerden eksplant başına elde edilen ortalama sürgün sayısı, 'Beyazkış'ta  $6.88 \pm 0.66$ , 'Karakış'ta  $8.58 \pm 0.82$  ve 'Sürme'de  $7.10 \pm 0.24$  adet olarak elde edilirken, tarladan alınan sürgün uçlarında ortalama sürgün sayısı, 'Beyazkış'ta  $3.21 \pm 0.30$ , 'Karakış'ta  $3.49 \pm 0.38$  ve 'Sürme'de  $4.88 \pm 0.32$  adet olarak elde edilmiştir. Bütün çeşitlerde in vitro fidelerden elde edilen sürgünlerin, apikal uçlardan ve kotiledonlardan elde edilenlerden yaklaşık % 70-90 oranında daha uzun olduğu görülmüştür. Tarladan alınan apikal uçların ancak belli mevsim dönemlerinde temin edilebilmesi, kotiledon ve in vitro sürgün uçlarına göre bu eksplantların kullanımını dezavantajlı hale getirmektedir. Ancak çalışılan her üç tipte de en az sürgün sayısı kotiledonlardan ve en fazla sürgün sayısı in vitro fidelerden elde edilmiştir. Bu nedenle karpuz tiplerinde hızlı bir mikroçoğaltım gerçekleştirilmesi amaçlanan çalışmalarımızda, in vitro fidelerden itibaren bir protokol geliştirilmesine karar verilmiştir.

#### 4.2.3. Kültür Başlatılmasına Sitokininlerin (BA, Kin) Etkisi.

Bu deney, tohum kökenli beş günlük in vitro fidelerden, kültür başlatılmasına sitokininlerin (BA ve Kin; herbiri  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$ ) etkisini saptamak amacıyla yapılmıştır. Akselik fideler, bir kontrol grubuyla beraber, BA ve kinetin içeren MS besiyerlerinde kültüre alınmış, kültürün 3. haftasında oluşan sürgünlerin uzunlukları ve sayıları tespit edilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 11’de verilmiştir.



**Resim 5.** Karakış'ta in vitro fidelerden BA içeren besiyerinde kültür başlatılması. (Bar: 1.0 cm)

**Tablo 11.** İn vitro fidelerden kültür başlatılmasına sitokininlerin etkisi

	Sitokinin Tipi $1.0 \text{ mg l}^{-1}$	Ortalama Sürgün Sayısı $\pm \text{SH}$	Ortalama Sürgün Uzunluğu (cm) $\pm \text{SH}$
Beyazkış	Kontrol	$1.12 \pm 0.12 \text{ c}$	$1.32 \pm 0.23 \text{ b}$
	BA	$8.29 \pm 0.63 \text{ a}$	$1.82 \pm 0.25 \text{ a}$
	Kinetin	$3.77 \pm 0.27 \text{ b}$	$1.98 \pm 0.31 \text{ a}$
Karakış	Kontrol	$1.49 \pm 0.22 \text{ c}$	$1.27 \pm 0.13 \text{ c}$
	BA	$7.75 \pm 0.71 \text{ a}$	$1.73 \pm 0.20 \text{ b}$
	Kinetin	$3.16 \pm 0.36 \text{ b}$	$2.13 \pm 0.28 \text{ a}$
Sürme	Kontrol	$1.45 \pm 0.18 \text{ c}$	$1.42 \pm 0.15 \text{ b}$
	BA	$8.62 \pm 0.73 \text{ a}$	$1.66 \pm 0.22 \text{ b}$
	Kinetin	$4.53 \pm 0.45 \text{ b}$	$2.25 \pm 0.25 \text{ a}$

*Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır*

Üç haftalık kültür dönemi sonucu elde edilen verilere göre, BBD'siz (kontrol grubu), BA ve kinetin içeren MS besi ortamında kültüre alınan beş günlük in vitro fidelerden oluşan sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Üzerinde çalışılan üç karpuz tipinde de, beş günlük fidelerden en fazla sürgün  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA ortamında elde edilmiştir (**Resim 5**). Tablo 11'deki verilerden de anlaşılacağı gibi, BA ortamında elde edilen sürgün sayıları, kinetin ortamında elde edilenlerden yaklaşık iki kat daha fazla olmuş, ancak her üç karpuz çeşidinde de en yüksek sürgün uzunluklarının kinetin ortamında oluştuğu saptanmıştır. Bununla birlikte kinetin ortamında oluşan bazı sürgünlerde sararmalar meydana geldiği görülmüştür. Ortalama sürgün sayısı en yüksek BA içeren MS besi ortamında elde edildiğinden, bundan sonraki kültür başlatılması çalışmalarında sitokinin olarak BA kullanılmasına karar verilmiştir.

#### 4.2.4. Kültür Başlatılmasına Eksplant Yaşının Etkisi

Proliferasyon çalışmalarımızda kullanacağımız in vitro koşullarda tohumdan oluşan fidelerden, sürgünlerin elde edilmesine, eksplant yaşının etkisini saptamak amacıyla gerçekleştirilen bu deneyde üç, beş ve yedi günlük in vitro fideler kullanılmıştır. Akselik fideler, hipokotilden itibaren 0.5-1.0 cm kesilerek  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren MS besiyerinde kültüre alınmıştır. Kültürün 3. haftasında oluşan sürgünlerin uzunluğu ve sayısı saptanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 12'de verilmiştir.

**Tablo 12.** İn vitro fide yaşının kültür başlatılmasına etkisi

	Eksplant Yaşı (gün)	Ortalama Sürgün Sayısı $\pm$ SH	Ortalama Sürgün Uzunluğu (cm) $\pm$ SH
Beyazkış	3	4.12 $\pm$ 0.63 b	1.75 $\pm$ 0.17 a
	5	7.23 $\pm$ 0.56 a	1.78 $\pm$ 0.20 a
	7	7.79 $\pm$ 0.45 a	1.81 $\pm$ 0.21 a
Karakış	3	6.25 $\pm$ 0.51 b	1.67 $\pm$ 0.09 b
	5	8.36 $\pm$ 0.63 a	1.72 $\pm$ 0.10 b
	7	8.21 $\pm$ 0.46 a	1.93 $\pm$ 0.14 a
Sürme	3	5.47 $\pm$ 0.42 b	1.54 $\pm$ 0.10 a
	5	9.16 $\pm$ 0.55 a	1.65 $\pm$ 0.20 a
	7	8.67 $\pm$ 0.41 a	1.74 $\pm$ 0.16 a

*Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır*

Sürgün ucu kültürlerinin başlatılmasına eksplant yaşının etkisinin incelendiği bu deneyde, elde edilen ortalama sürgün sayısı bakımından her üç karpuz çeşidinde de beş ve yedi günlük eksplantların istatistiksel olarak aynı grupta olduğu, üç günlük fidelerin daha az sürgün oluşturduğu ve diğer gruplardan istatistiksel yönden farklı olduğu görülmüştür. Bütün karpuz tiplerinde üç, beş ve yedi günlük eksplantlardan elde edilmiş sürgünlerin morfolojik olarak herhangi bir farklılık göstermediği ve hepsinin alt kültürler için kullanılabilir olduğu saptanmıştır. Tablo 12'deki verilere göre elde edilen sürgün sayısı bakımından beş ve yedi günlük fideler, üç günlük fidelerden daha iyi sonuç vermiş, sürgün uzunluğu bakımından ise 'Beyazkış' ve 'Sürme'de bütün eksplantların istatistiksel olarak aynı grupta olduğu, 'Karakış'ta yedi günlük eksplantların diğer gruplardan daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir. Ancak zaman kaybını azaltmak için bundan sonraki çalışmalarımızda beş günlük in vitro fideler kullanılmasına karar verilmiştir.

#### 4.2.5 Kültür Başlatılmasına MS Besi Ortam Konsantrasyonunun Etkisi

Sürgün uçlarının sürgün büyüme ve gelişimini test etmek için, beş günlük in vitro fideler,  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren MS besisi ortamının dört farklı konsantrasyonunda (1:4, 1:2, 1:1, 2:1) kültüre alınmıştır. Kültürün 3. haftasında oluşan sürgünlerin uzunlukları ve sayıları saptanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 13'te verilmiştir.

**Tablo 13.** Kültür başlatılmasına MS besisi ortam konsantrasyonunun etkisi

	MS Besi Ortam Konsantrasyonu	Ortalama Sürgün Sayısı $\pm$ SH	Ortalama Sürgün Uzunluğu (cm) $\pm$ SH
Beyazkış	1:4	$4.87 \pm 0.47$ c	$1.74 \pm 0.11$ a
	1:2	$6.25 \pm 0.13$ b	$1.67 \pm 0.17$ a
	1:1	$7.34 \pm 0.87$ a	$1.81 \pm 0.12$ a
	2:1	$6.85 \pm 0.40$ ab	$1.64 \pm 0.13$ a
Karakış	1:4	$4.26 \pm 0.31$ d	$1.80 \pm 0.13$ a
	1:2	$5.55 \pm 0.75$ c	$1.74 \pm 0.09$ a
	1:1	$8.32 \pm 0.90$ a	$1.82 \pm 0.19$ a
	2:1	$7.14 \pm 0.25$ b	$1.63 \pm 0.12$ a
Sürme	1:4	$5.32 \pm 0.32$ c	$1.60 \pm 0.12$ a
	1:2	$6.75 \pm 0.66$ b	$1.88 \pm 0.18$ a
	1:1	$8.87 \pm 1.07$ a	$1.83 \pm 0.21$ a
	2:1	$6.25 \pm 0.46$ bc	$1.75 \pm 0.14$ a

*Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır*

Kültürün 3. haftasında rapor edilen verilere uygulanan analize göre, MS besi ortamının farklı konsantrasyonlarında kültüre alınan in vitro fidelerden oluşan sürgünlerin sayısı farklılıklar göstermiştir. Tablo 13'teki verilerden de anlaşılacağı gibi, her üç karpuz tipinde de 1:4 konsantrasyonundaki MS besiyerinde oluşan ortalama sürgün sayısı en düşük ('Beyazkış'  $4.87 \pm 0.47$ , 'Karakış'  $4.26 \pm 0.31$  ve 'Sürme'  $5.32 \pm 0.32$  adet), 1:1 konsantrasyonunda kullanılan MS besi ortamında sürgün sayısı bakımından en yüksek ('Beyazkış'  $7.34 \pm 0.87$ , 'Karakış'  $8.32 \pm 0.90$  ve 'Sürme'  $8.87 \pm 1.07$  adet) sonucu vermiştir. MS besi konsantrasyonu 1:1 oranından daha azaldıkça veya arttıkça, sürgün sayısında da bir azalma olduğu görülmüştür. Her üç karpuz tipinde de 1:2 ve 1:1 konsantrasyonundaki besi ortamlarında oluşan sürgünlerin diğer konsantrasyonlarda gelişen sürgünlere göre morfolojik olarak daha yeşil ve kullanılabilir olduğu saptanmıştır. Sürgün uzunluğu bakımından her üç karpuz tipinde de gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Ortalama sürgün sayısı en yüksek 1:1 konsantrasyonunda MS besi ortamında elde edildiği için bundan sonraki çalışmalarda 1:1 konsantrasyonunda besi ortamı kullanılmasına karar verilmiştir.

#### **4.2.6. Kültür Başlatılmasına Farklı Karbon Kaynaklarının Etkisi**

Bu deneyde beş günlük in vitro fideler,  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA ve karbon kaynağı olarak kullanılan farklı şeker tipleri (Sakkaroz, Glikoz, Maltoz ve Fruktoz) ile içeren MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Kültürün 3. haftasında oluşan sürgünlerin uzunlukları ve sayıları saptanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 14'te verilmiştir.



**Tablo 14.** Kültür başlatılmasına karbon kaynağı çeşitlerinin etkisi

	<b>Karbon Kaynağı ( % 3 )</b>	<b>Ortalama Sürgün Sayısı ± SH</b>	<b>Ortalama Sürgün Uzunluğu (cm) ± SH</b>
Beyazkış	Sakkaroz	7.47 ± 0.57 a	1.74 ± 0.14 a
	Glikoz	4.76 ± 0.36 b	1.58 ± 0.08 ab
	Maltoz	5.52 ± 0.52 b	1.41 ± 0.11 b
	Fruktoz	5.06 ± 0.43 b	1.65 ± 0.15 ab
Karakış	Sakkaroz	8.61 ± 0.76 a	1.69 ± 0.15 a
	Glikoz	5.94 ± 0.38 b	1.42 ± 0.12 ab
	Maltoz	5.48 ± 0.23 b	1.37 ± 0.18 b
	Fruktoz	5.15 ± 0.45 b	1.61 ± 0.13 ab
Sürme	Sakkaroz	8.19 ± 0.54 a	1.59 ± 0.13 a
	Glikoz	4.65 ± 0.42 c	1.41 ± 0.09 a
	Maltoz	5.63 ± 0.31 b	1.53 ± 0.13 a
	Fruktoz	4.92 ± 0.37 bc	1.55 ± 0.14 a

*Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır*

Tablo 14'teki verilerden de anlaşılacağı gibi, üç haftalık kültür dönemi sonucunda alınan verilere göre, farklı şeker tipleriyle desteklenen MS besi ortamında kültüre alınan eksplantların, sürgün sayısı bakımından test edilen işlem grupları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Sürgün uzunluğu bakımından farklı şeker çeşitleri kullanıldığında 'Sürme'de gruplar arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiş, 'Beyazkış' ve 'Karakış'ta en düşük sürgün uzunluğu maltoz şekeri kullanıldığında elde edilmiştir. Karbon kaynağı olarak sakkarozun kullanılması ile en yüksek sürgün sayısı 'Beyazkış'ta  $7.47 \pm 0.57$ , 'Karakış'ta  $8.61 \pm 0.76$  ve 'Sürme'de  $8.19 \pm 0.54$  adet olarak en iyi sonucu vermiştir.

Karbon kaynağı olarak sakkaroz dışında, glikoz, fruktoz ve maltoz kullanılması durumunda ortalama sürgün sayısında gözlenen düşüş, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Her üç karpuz tipinde de sakkaroz ortamında oluşan sürgünlerdeki gelişmenin daha iyi ve yaprakların daha canlı olduğu, özellikle 'Beyazkış'ta olmak üzere maltoz ortamında gelişen sürgün ve yaprakların sarıya yakın renkte olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlardan da anlaşılacağı gibi, çalışılan karpuz çeşitlerinde sürgün proliferasyonu için test edilen şekerler içinde, en uygun karbon kaynağının sakkaroz olduğu saptanmış ve bu nedenle in vitro fidelerden itibaren sürgün çoğaltılması çalışmalarında MS besi ortamının bu karbonhidrat çeşidi ile desteklenmesine karar verilmiştir.

#### 4.2.7. Kültür Başlatılmasına Farklı Sakkaroz Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde beş günlük in vitro fideler, 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA ve karbon kaynağı olarak kullanılan farklı şeker tipleri içinde en iyi sonucu veren sakkarozun dört farklı konsantrasyonu (%2, 3, 4 ve 5) ile destekli MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Kültürün 3. haftasında oluşan sürgünlerin uzunlukları ve sayıları saptanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 15'te verilmiştir.

**Tablo 15.** Kültür başlatılmasına sakkaroz konsantrasyonunun etkisi

	Sakkaroz oranı (%)	Ortalama Sürgün Sayısı ± SH	Ortalama Sürgün Uzunluğu (cm) ± SH
Beyazkış	2	3.41 ± 0.25 c	1.52 ± 0.11 b
	3	7.19 ± 0.55 a	1.71 ± 0.16 ab
	4	7.37 ± 0.65 a	1.86 ± 0.18 a
	5	5.29 ± 0.32 b	1.44 ± 0.13 b
Karakış	2	4.45 ± 0.55 c	1.76 ± 0.16 a
	3	8.68 ± 0.63 a	1.65 ± 0.13 a
	4	8.22 ± 0.44 a	1.85 ± 0.15 a
	5	6.21 ± 0.27 b	1.61 ± 0.12 a
Sürme	2	6.23 ± 0.43 c	1.68 ± 0.16 ab
	3	8.80 ± 0.71 a	1.82 ± 0.22 ab
	4	7.46 ± 0.35 b	1.93 ± 0.19 a
	5	6.01 ± 0.40 c	1.58 ± 0.08 b

*Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır*

Sürgün ucu kültürlerinin başlatılmasına farklı sakkaroz konsantrasyonlarının etkisinin incelendiği bu deneyde, bütün karpuz tiplerinde sürgün sayısı bakımından test edilen konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Tablo 15'teki verilere göre elde edilen ortalama sürgün sayısı bakımından 'Beyazkış' ve 'Karakış'ta %3 ve 4, 'Sürme'de %3 oranında sakkaroz içeren MS besiyeri en iyi sonucu vermiştir. Sürgün uzunluğu bakımından 'Karakış'ta bütün eksplantların istatistiksel olarak aynı grupta olduğu, 'Beyazkış' ve 'Sürme'de %4 sakkaroz içeren MS besiyerinin en iyi sonucu verdiği gözlenmiştir. Deney gruplarının tamamında elde edilen sürgünlerin alt kültüre alınabilir özellikte olduğu saptanmıştır. Deney sonuçlarından hareketle bundan sonraki çalışmalarda %3 oranında sakkaroz içeren MS besiyerinin kullanılmasının uygun olacağına karar verilmiştir.

#### 4.2.8. Kültür Başlatılması Çalışmaları ile İlgili Genel Değerlendirme

Mikroçoğaltım çalışmalarına başlarken verilecek en öncelikli kararlardan biri kullanılacak besin ortamlarının seçimidir. Çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilen bir çok besin ortamı formülasyonu mevcut olmasına rağmen, birkaç tanesi ve bunların çeşitli modifikasyonları çok yaygın olarak kullanılmaktadır (**Compton ve ark., 2004; Babaoğlu ve ark., 2002**). Karpuzda yapılan mikroçoğaltım çalışmalarının kültür başlatma aşamasında, çalışmaların hemen tamamında tam konsantrasyonda MS besi ortamı kullanılmıştır. Çalışmalarımızda kullandığımız aynı yoğunluktaki (30  $g l^{-1}$  sakkaroz, 7  $g l^{-1}$  agar) besi ortamının bir çok araştırmacı tarafından da kullanıldığı rapor edilmiştir (**İbrahim ve ark., 2009; Shalaby ve ark., 2008; Pirinç ve Onay, 2008; Sultana ve ark., 2004; Raza ve ark., 2003; Sultana ve Bari, 2003; Chaturvedi ve Bhatnagar, 2001; Compton, 1999; Compton ve Gray, 1994; Compton ve Gray, 1993; Tabei ve ark., 1993; Desamero ve ark., 1993; Gray ve Elmstrom, 1991**). Çok seyrekte olsa bazı araştırmacılar rejenerasyon ortamı olarak Linsmaier and Skoog (LS) besi ortamı kullandıklarını rapor etmiştir (**Ahad ve ark., 1994**). Yapılan araştırmaların tamamında pH'nın 5.7-5.8 olarak kullanıldığı rapor edildiğinden, yaptığımız çalışmada pH optimizasyonuna gerek duyulmamıştır.

Karpuzdaki in vitro çalışmalarda eksplant kaynağı olarak kullanılan en uygun in vitro fide ve kotiledon yaşının, araştırmacıların büyük çoğunluğu tarafından beş gün olduğu rapor edilmekle beraber (**Suratman ve ark., 2009; Pirinç ve Onay, 2008; Krug ve ark., 2005; Sultana ve ark., 2004; Sultana ve Bari, 2003; Compton ve Gray, 1993**) bazı araştırmacılar da dört günlük (**Zhang ve Zhang, 2009; Ntui ve ark., 2004**) ve yedi günlük (**Chaturvedi ve Bhatnagar, 2001**) eksplantlardan daha iyi sonuç alındığını açıklamışlardır. Araştırmalarımız sonucu Diyarbakır karpuz tiplerinde en uygun eksplant yaşının beş gün olduğu ve bu sonucun daha önce yapılmış çalışmaların çoğunluğu ile uyumlu olduğu görülmüştür.

**Shalaby ve arkadaşları (2008)** iki karpuz çeşidinde ('SA100', 'SA101') in vitro fidelerden elde ettikleri sürgün ve kotiledonları kullanarak geliştirdikleri mikroçoğaltım protokolünde, 30  $g l^{-1}$  sakkaroz, 8  $g l^{-1}$  agar içeren MS besi ortamını (pH: 5.7) kullanmışlardır. Çalışmada en yüksek sürgün sayısını (5.6 adet) MS besi yerinde 'SA100' çeşidinde sürgün ucunu eksplant kaynağı olarak kullanarak elde etmişlerdir. Araştırmamızda eksplant kaynağı olarak kullanılan in vitro fidelerdeki

sürgün uçlarının, kotiledonlardan daha iyi rejenera olduğu gözlenmiş ve bu sonucun araştırıcıların bulgularını destekler nitelikte olduğu belirlenmiştir. Kùltür koşullarının optimizasyonuna yönelik olarak yaptığımız ve benzer koşullarda elde ettiğimiz sürgün sayısı değerleri araştırıcıların bulgularından daha yüksek bulunmuştur.

**Sultana ve Bari (2003)** diploid karpuzda sürgün rejenerasyonunda 5 günlük fidelerden elde ettikleri in vitro sürgünleri kullanmışlardır. Araştırıcılar pH'sı 5.7 olarak ayarlanmış 30 gl<sup>-1</sup> sakkaroz, 7 gl<sup>-1</sup> agar içeren MS besi yerinde en yüksek sürgün sayısını 6.1 ve en yüksek sürgün uzunluğunu 4.5 cm olarak rapor etmişlerdir. Araştırmamızda aynı yaştaki eksplantlardan elde ettiğimiz sürgün sayıları daha yüksek olmakla birlikte, sürgün uzunlukları daha düşük olmuştur. Ancak mikroçoğaltım protokolünde fazla sayıda sürgün elde etmek, uzun sürgün elde etmekten daha önemli olduğundan, elde ettiğimiz değerler sürgün sayısı bakımından oldukça iyimser bir sonuçtur.

**Compton ve arkadaşları (1993b)** aseptik ortamda çimlendirilmiş karpuz fidelerinden elde edilen sürgün ucu eksplantlarını MS besiyerine aktarmışlar Farklı genotiplerde yapılan çalışmalarda eksplant başına sürgün eldesinin farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir. Araştırmamızda farklı genotiplerden elde ettiğimiz sonuçların kısmen de olsa değişiklik göstermesi araştırıcıların bulgularını desteklemektedir.

**Gray ve Elmstrom (1991)** tetraploid hatların mikroçoğaltımı için tarladaki bitkilerin sürgün uçlarının klonal çoğaltım için eksplant olarak kullanılmasının potansiyel bir uygulama olduğunu belirtmişlerdir. Araziden aldığımız sürgün uçlarının her üç karpuz tipinde de sürgün proliferasyonunda kullanılabileceği görölmüş ve sonuçlarımızın araştırıcıların bulgularını desteklediği görölmüştür.

### 4.3. Sürgün Proliferasyonu Çalışmaları

#### 4.3.1. Sürgün Proliferasyonuna BA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde materyal olarak beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Test edilen BA konsantrasyonları arasında, 21 günlük kültür süresi sonunda hem sürgün sayısı hem de sürgün uzunluğu bakımından oldukça belirgin farklılıklar gözlenmiştir. Üç haftalık kültür dönemi sonucu elde edilen verilere göre en yüksek ortalama sürgün sayısı, 'Beyazkış' ile 'Karakış'ta  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  ve 'Sürme'de  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren MS besisi ortamında elde edilmiştir. Her üç karpuz tipinde de  $0.5-1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren MS besisi ortamlarında diğer konsantrasyonlara göre daha yüksek sürgün sayıları elde edilmiştir. Buna göre karpuz tohumlarından elde edilen sürgünlerden itibaren mikroçoğaltımın, sürgün proliferasyonu aşaması için  $0.5-1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA ile içeren MS besisi ortamının kullanılabilmesi belirlenmiştir.



**Resim 6.** Sürme'de tohum kökenli sürgünlerin  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA ortamında proliferasyonu (Bar: 1.0 cm)

**Tablo 16.** Tohum kökenli sürgünlerin proliferasyonuna BA'nın farklı konsantrasyonlarının etkisi

	BA (mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> )	Ortalama Sürgün Sayısı ± SH	Ortalama SürgünUzun. (cm) ± SH
Beyazkiş	Kontrol	1.58 ± 0.14 ef	0.73 ± 0.03 c
	0.10	2.58 ± 0.22 de	1.11 ± 0.06 ab
	0.25	4.50 ± 0.41 c	1.29 ± 0.07 ab
	0.50	6.33 ± 0.49 b	1.59 ± 0.07 ab
	1.0	7.75 ± 0.55 a	1.63 ± 0.14 a
	2.0	4.91 ± 0.41 c	0.94 ± 0.03 bc
	4.0	2.83 ± 0.24 d	0.84 ± 0.03 c
	8.0	1.00 ± 0.00 f	0.00 ± 0.00 d
Karakış	Kontrol	1.75 ± 0.17 ef	0.87 ± 0.04 bc
	0.10	2.66 ± 0.22 de	1.43 ± 0.09 a
	0.25	3.58 ± 0.33 d	1.66 ± 0.08 a
	0.50	6.25 ± 0.46 b	1.57 ± 0.08 a
	1.0	8.91 ± 0.51 a	1.51 ± 0.06 a
	2.0	6.58 ± 0.43 b	1.01 ± 0.03 b
	4.0	4.83 ± 0.36 c	0.93 ± 0.03 bc
	8.0	1.16 ± 0.14 f	0.67 ± 0.07 c
Sürme	Kontrol	1.66 ± 0.14 f	0.93 ± 0.04 c
	0.10	3.00 ± 0.30 e	1.26 ± 0.08 ab
	0.25	4.91 ± 0.33 d	1.43 ± 0.07 a
	0.50	8.16 ± 0.36 a	1.52 ± 0.07 a
	1.0	7.16 ± 0.40 b	1.40 ± 0.06 a
	2.0	5.83 ± 0.36 c	1.02 ± 0.03 bc
	4.0	3.08 ± 0.37 e	0.88 ± 0.04 cd
	8.0	1.41 ± 0.14 f	0.62 ± 0.03 d

*Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır*

Tablo 16'daki verilerde görüldüğü gibi 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA içeren MS besi ortamında en yüksek ortalama sürgün sayısı 'Beyazkiş'ta 7.75 ± 0.55 ve 'Karakış'ta 8.91 ± 0.51 adet, 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA içeren MS besi ortamında 'Sürme'de 8.16 ± 0.36 adet olarak elde edilmiştir. Sürme karpuzunda BA konsantrasyonu arttıkça sürgünlerin taban kısmında meydana gelen kallus dokusunun da büyüdüğü gözlenmiş (**Resim 6**), diğer karpuz tiplerinde kallus dokusunun daha küçük yapıda oluştuğu görülmüştür. Optimum BA konsantrasyonunun altında veya üzerindeki konsantrasyonlarda bütün karpuz çeşitlerinde sürgün sayısı ve sürgün uzunluğunda önemli oranda azalma olduğu görülmüştür. BA konsantrasyonu optimum konsantrasyona göre azaldığında oluşan sürgünler daha cılız yapıda olmakta, konsantrasyon arttığında ise daha kalın bir yapıda olduğu gözlenmiştir. Bütün karpuz tiplerinde optimum konsantrasyondan

uzaklaştıkça oluşan sürgünlerin alt kültüre alınabilme özelliklerinin de azaldığı görülmüştür. Bu sonuç mikroçoğaltım çalışmalarında uygun BBD konsantrasyonunun tespit edilmesinin önemini göstermektedir.



**Resim 7.** Karakışta BA içeren MS besiyerinde tohum kökenli sürgünlerin proliferasyonundan genel görünüm

#### **4.3.2.Sürgün Proliferasyonuna Kinetin'in Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi**

Bu deneyde materyal olarak, beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Üç haftalık kültür dönemi sonucu elde edilen verilere göre 'Sürme' ( $5.45 \pm 0.36$  adet) ve 'Karakış'ta ( $5.16 \pm 0.36$  adet) en yüksek ortalama sürgün sayısı  $2.0 \text{ mg l}^{-1}$  kinetin içeren MS besi ortamında, 'Beyazkış'ta ( $4.75 \pm 0.27$  adet)  $4.0 \text{ mg l}^{-1}$  kinetin içeren MS besi ortamında elde edilmiştir. Kinetinin en uygun konsantrasyonundan elde edilen sürgün sayıları, BA'nın en uygun konsantrasyonuna göre % 40-60 daha düşük sayıda olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle Diyarbakır karpuz tiplerinde mikroçoğaltım çalışmalarının, sürgün proliferasyon aşamasında, sitokinin olarak olarak BA kullanmanın daha uygun olacağı görülmektedir.

**Tablo 17.** Tohum kökenli sürgünlerin proliferasyonuna kinetinin farklı konsantrasyonlarının etkisi

	Kinetin (mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> )	Ortalama Sürgün Sayısı ± SH	Ortalama Sürgün Uzun. (cm) ± SH
Beyazkış	Kontrol	1.58 ± 0.14 e	0.73 ± 0.03 e
	0.10	2.41 ± 0.22 d	1.51 ± 0.07 cd
	0.25	3.33 ± 0.30 c	1.95 ± 0.07 b
	0.50	3.65 ± 0.32 bc	1.92 ± 0.07 b
	1.0	3.94 ± 0.28 b	2.42 ± 0.08 a
	2.0	3.87 ± 0.33 b	1.85 ± 0.07 bc
	4.0	4.75 ± 0.27 a	1.71 ± 0.06 c
	8.0	3.46 ± 0.20 c	1.39 ± 0.06 d
Karakış	Kontrol	1.75 ± 0.17 e	0.87 ± 0.04 d
	0.10	2.08 ± 0.19 e	1.66 ± 0.09 bc
	0.25	2.91 ± 0.28 cd	1.75 ± 0.09 b
	0.50	3.08 ± 0.22 c	1.82 ± 0.09 b
	1.0	3.91 ± 0.22 b	1.98 ± 0.10 ab
	2.0	5.16 ± 0.36 a	2.16 ± 0.07 a
	4.0	4.16 ± 0.24 b	1.73 ± 0.06 b
	8.0	2.25 ± 0.21de	1.51 ± 0.05 c
Sürme	Kontrol	1.66 ± 0.14 e	0.93 ± 0.04 d
	0.10	1.83 ± 0.24 e	1.65 ± 0.09 c
	0.25	2.16 ± 0.27 de	1.83 ± 0.09 b
	0.50	3.08 ± 0.19 c	2.12 ± 0.10 ab
	1.0	4.58 ± 0.25 b	2.33 ± 0.10 a
	2.0	5.45 ± 0.36 a	2.27 ± 0.07 a
	4.0	4.53 ± 0.35 b	1.91 ± 0.07 b
	8.0	2.66 ± 0.22 cd	1.66 ± 0.04 c

*Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır*

Tablo 17’de görüldüğü gibi en yüksek sürgün uzunluğu ‘Sürme’ ( $2.33 \pm 0.10$  cm) ve ‘Beyazkış’ta ( $2.42 \pm 0.08$  cm) 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> kinetin içeren MS besisi ortamında, ‘Karakış’ta ( $2.16 \pm 0.07$  cm) 2.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> kinetin içeren MS besisi ortamında elde edilmiştir. Bütün karpuz çeşitlerinde kinetinin en uygun konsantrasyonundan elde edilen sürgün uzunlukları, BA’nın en uygun konsantrasyonlarından elde edilenlere göre yaklaşık % 40-60 daha fazla olmuştur. 2.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> ve daha yüksek kinetin konsantrasyonunda bulunan eksplantların büyük çoğunluğunda sararma meydana geldiği görülmüş, ayrıca kinetin ortamında çoğaltılan sürgünlerin bazılarında köklenme olduğu ve bu ortamda gelişen sürgünlerin yaprak ayalarının, BA ortamında çoğaltılanlara göre daha geniş olduğu gözlenmiştir.



### 4.3.3.Sürgün Proliferasyonunu İyileştirme Çalışmaları

Bu bölümdeki araştırmaların amacı, sürgün proliferasyonunda en iyi sitokinin tipi olan BA içeren MS besiyerine çeşitli oksin, aminoasit ve poliaminlerin ilave edilmesiyle, maksimum sürgün proliferasyonunu sağlamaktır.

#### 4.3.3.1. BA+Oksin Karışımının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde materyal olarak, beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Deneyde sürgün proliferasyonunu arttırmak için en iyi sitokinin tipi olan BA'ya ('Beyazkış' ve 'Karakış' için 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>, 'Sürme' için 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>) oksinlerin (IBA, IAA ve NAA) 0.1 ve 0.2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> konsantrasyonlarının birlikte kombinasyonunun etkisi araştırılmıştır. Kontrol grubu olarak 'Beyazkış' ve 'Karakış' için 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>, 'Sürme' için 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA içeren MS besi ortamı kullanılmıştır. Kültürün 3. haftasında sürgün uzunluğu ve sürgün sayısı tespit edilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 18'de verilmiştir.

**Tablo 18.** Tohum kökenli sürgünlerin proliferasyonuna BA+oksin karışımlarının etkisi

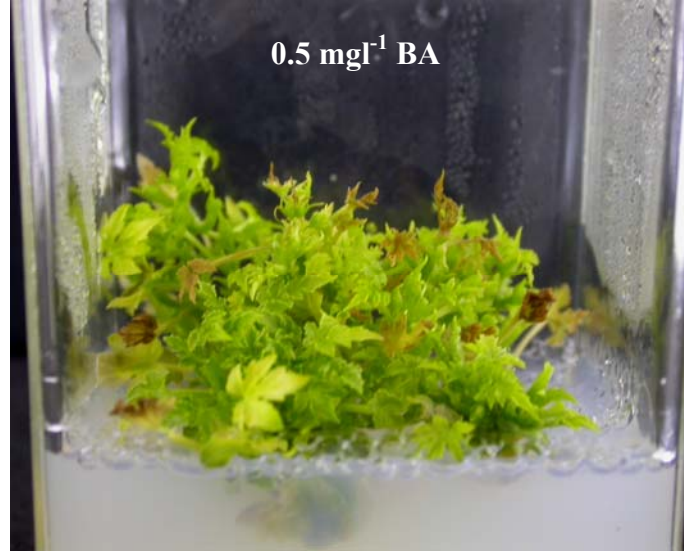
	mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	Ortalama Sürgün Sayısı ± SH	Ortalama Sürgün Uzun. (cm) ± SH
Beyazkış	1BA	7.75 ± 0.55 a	1.53 ± 0.14 bc
	1BA + 0.1 IBA	7.86 ± 0.32 a	1.96 ± 0.17 a
	1BA + 0.2 IBA	6.08 ± 0.74 b	1.91 ± 0.23 a
	1BA + 0.1 IAA	7.11 ± 0.35 a	1.77 ± 0.16 ab
	1BA + 0.2 IAA	5.14 ± 0.64 c	1.86 ± 0.19 a
	1BA + 0.1 NAA	6.09 ± 0.36 b	1.31 ± 0.12 cd
	1BA + 0.2 NAA	3.45 ± 0.24 d	1.18 ± 0.19 d
Karakış	1BA	8.91 ± 0.51 a	1.61 ± 0.06 ab
	1BA + 0.1 IBA	8.04 ± 0.43 a	1.79 ± 0.15 a
	1BA + 0.2 IBA	6.42 ± 0.68 bc	1.82 ± 0.29 a
	1BA + 0.1 IAA	6.69 ± 0.54 bc	1.59 ± 0.17 ab
	1BA + 0.2 IAA	6.84 ± 0.47 b	1.41 ± 0.22 b
	1BA + 0.1 NAA	5.83 ± 0.42 c	1.44 ± 0.16 b
	1BA + 0.2 NAA	2.26 ± 0.59 d	0.95 ± 0.11 c
Sürme	0.5BA	8.16 ± 0.36 a	1.52 ± 0.18 b
	0.5BA+0.1 IBA	7.81 ± 0.26 a	1.91 ± 0.16 ab
	0.5BA+0.2 IBA	4.28 ± 0.49 c	2.28 ± 0.52 a
	0.5BA+0.1 IAA	5.72 ± 0.39 b	1.67 ± 0.27 b
	0.5BA+0.2 IAA	3.63 ± 0.31 c	1.84 ± 0.36 ab
	0.5BA+0.1NAA	4.09 ± 0.51 c	1.43 ± 0.22 bc
	0.5BA+0.2NAA	2.68 ± 0.32 d	0.92 ± 0.12 c

*Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır*

Tablo 18'deki verilerden de anlaşılacağı gibi, optimum BA konsantrasyonuna 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA ilavesiyle 'Beyazkış' ve 'Karakış'ta sürgün sayısında önemli bir değişim gözlenmemiş, 'Sürme'de ise sürgün sayısındaki düşüş önemli olmuştur. Ortamda IBA olması karpuz tipine bağlı olmaksızın sürgün uzunluğunda önemli artışlara sebep olmuştur. Ancak IBA'nın 0.2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> konsantrasyonunda oluşan sürgün sayıları deney gruplarının tamamında azalma göstermiştir. Ortama IAA eklenmesiyle 'Beyazkış'ta 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> konsantrasyonda istatistiksel olarak herhangi bir farklılık meydana gelmezken, IAA eklenen diğer grupların tamamında sürgün sayısında azalma kaydedilmiştir. Besi ortamına NAA eklenmesiyle, her üç karpuz tipinde de sürgün sayısı ve sürgün uzunluğundaki azalma istatistiksel olarak çok önemli bulunmuş, oluşan sürgünler ve yaprakların morfolojik olarak türe özgü olmadığı ve bu sürgünlerde özellikle 'Sürme' tipinde taban kallusunun diğer oksin içeren ortamlara göre oldukça genişlediği gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre Diyarbakır karpuz genotiplerinde, sürgün proliferasyonu için optimum BA konsantrasyonuna ilave edilebilecek en uygun oksin tipinin düşük konsantrasyonlu IBA olduğu saptanmıştır.

#### **4.3.3.2. BA ve BA+IBA Ortamlarında, Alt Kültür Sayısının, Sürgün Proliferasyonuna ve Rozet Sürgün Oluşumuna Etkisi**

Bu deneyde materyal olarak, beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Deneyin amacı yapılan alt kültür sayısının sürgün proliferasyonuna etkisini saptamak ve alt kültürler sonucu her üç karpuz çeşidinde de görülen ve mikroçoğaltımda önemli bir problem olan rozet sürgün oluşumunu önlemektir (**Resim 8**). Deneyde en iyi sitokin tipi olan BA'ya ('Beyazkış' ve 'Karakış' için 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>, 'Sürme' için 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>) sürgün uzunluğunda en iyi sonucu veren oksinin (0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA) birlikte kombinasyonunun etkisi araştırılmıştır. Kontrol grubu olarak 'Beyazkış' ve 'Karakış' için 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>, 'Sürme' için 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA içeren MS besisi ortamı kullanılmıştır. Kültürün 3. haftasında sürgün uzunluğu ve sürgün sayısı tespit edilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 19'da verilmiştir.



**Resim 8.** Sürme’de tohum kökenli sürgünlerden alt kültürler sonucu oluşan rozet sürgünler

**Tablo 19.** BA ve BA+IBA ortamlarında, alt kültür sayısının, sürgün proliferasyonuna ve rozet sürgün oluşumuna etkisi

		1. Alt kültür		2. Alt kültür		3. Alt kültür	
	İşlem (mg l <sup>-1</sup> )	Rozet sürgün oranı (%)	Sürgün sayısı	Rozet sürgün oranı (%)	Sürgün sayısı	Rozet sürgün oranı (%)	Sürgün sayısı
<b>Beyazkış</b>	1BA	18.5	7.75±0.55a	26.9	7.22±0.41a	37.9	7.14±0.57a
	1BA+0.1 IBA	10.3	6.62±0.29b	13.7	5.32±0.36b	23.0	4.35±0.32b
		P < 0.05		P < 0.05		P < 0.05	
<b>Karakış</b>	1BA	17.3	8.91±0.51a	21.7	6.87±0.28a	24.2	6.69±0.52a
	1BA+0.1 IBA	9.5	7.48±0.36b	13.8	5.35±0.23b	21.8	4.27±0.38b
		P < 0.05		P < 0.05		P > 0.05	
<b>Sürme</b>	0.5 BA	20.5	8.16±0.36a	17.8	6.38±0.51a	30.4	6.32±0.39a
	0.5BA+0.1IBA	15.7	7.81±0.26a	16.1	6.14±0.34a	19.0	6.03±0.28a
		P < 0.05		P > 0.05		P < 0.05	

*Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır.*

Tablo 19’da görüldüğü gibi proliferasyon ortamına IBA eklenmesi rozet bitki oluşumunu ‘Beyazkış’ta üç alt kültür boyunca, ‘Karakış’ta ilk iki alt kültürde ve ‘Sürme’de birinci ve üçüncü alt kültürlerde istatistiksel olarak önemli derecede azaltmıştır. Ancak IBA içeren ortamda kontrole kıyasla, ‘Beyazkış’ ve ‘Karakış’ta yapılan bütün alt kültürlerde oluşan sürgün sayısı önemli oranda düşüş göstermiş, ‘Sürme’deki ise sürgün sayısındaki düşüş istatistiksel yönden önemli bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). Bütün karpuz tiplerinde oluşan sürgünlerin hemen hemen tamamı morfolojik olarak normal görünümlü olmuştur. Besi ortamında BA+IBA kullanımı yalnız ‘Sürme’ tipinde olumlu sonuç verdiği için, ‘Sürme’nin sürgün proliferasyon çalışmalarında bu kombinasyonun alternatif olarak kullanılabilceği saptanmıştır.

#### **4.3.3.3. Sürme’de BA+ Aminoasitin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi**

Bu deneyde, Diyarbakır karpuz tipleri içinde en fazla ekonomik öneme sahip olan ‘Sürme’ karpuzunda, tohum kökenli beş günlük in vitro fidelerden sürgün proliferasyonunu arttırmak için en iyi sitokin tipi olan BA’ya ( $0.5 \text{ mg l}^{-1}$ ) beş farklı aminoasitin (lösin, metiyonin, triptofan, valin, alanin) 50, 100, ve 200  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarda ilavesiyle birlikte etkisi araştırılmıştır. Kontrol grubu olarak  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren MS besi ortamı kullanılmıştır. Kültürün 3. haftasında sürgün uzunluğu ve sürgün sayısı tespit edilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 20’de verilmiştir.

**Tablo 20.** Sürme’de tohum kökenli sürgünlerin proliferasyonuna  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA+farklı aminoasit karışımlarının etkisi

Amino asit ( $\mu\text{M}$ )	Ortalama Sürgün Sayısı $\pm$ SH	Ortalama Sürgün Uzunluğu (cm) $\pm$ SH
0	$8.12 \pm 0.11$ fg	$1.57 \pm 0.07$ cd
<b>Lösin</b>		
50	$13.14 \pm 0.32$ bc	$1.68 \pm 0.07$ bc
100	$11.31 \pm 0.45$ de	$1.86 \pm 0.13$ a
200	$10.72 \pm 0.35$ de	$1.65 \pm 0.08$ c
<b>Metiyonin</b>		
50	$10.44 \pm 0.41$ e	$1.67 \pm 0.05$ c
100	$14.67 \pm 0.68$ a	$1.64 \pm 0.07$ c
200	$13.29 \pm 0.45$ b	$1.82 \pm 0.05$ ab
<b>Triptofan</b>		
50	$8.71 \pm 0.38$ f	$1.36 \pm 0.09$ ef
100	$7.57 \pm 0.55$ fg	$1.38 \pm 0.12$ ef
200	$5.69 \pm 0.24$ h	$1.24 \pm 0.04$ f
<b>Valin</b>		
50	$10.42 \pm 0.46$ e	$1.88 \pm 0.06$ a
100	$10.95 \pm 0.48$ de	$1.82 \pm 0.05$ ab
200	$11.87 \pm 0.55$ cd	$1.93 \pm 0.14$ a
<b>Alanin</b>		
50	$7.45 \pm 0.37$ fg	$1.54 \pm 0.08$ cd
100	$7.25 \pm 0.61$ g	$1.45 \pm 0.04$ de
200	$8.38 \pm 0.29$ fg	$1.34 \pm 0.03$ ef

*Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır*

Tablo 20’deki verilerden de anlaşılacağı gibi,yirmi bir günlük kültür sonunda, test edilen beş farklı amino asit arasında hem ortalama sürgün sayısı hem de sürgün uzunluğu bakımından istatistiksel farklılıklar olduğu gözlenmiştir. En çok sürgün ortalama  $14.67 \pm 0.68$  adet sürgün sayısı ile 100  $\mu\text{M}$  methionin ile içeren MS besi ortamında elde edilirken, bu ortamı sırasıyla 200  $\mu\text{M}$  metiyonin ( $13.29 \pm 0.45$ ) ve 50  $\mu\text{M}$  lösin ( $13.14 \pm 0.32$ ) ortamları izlemiştir. Sürgün sayısı bakımından 100  $\mu\text{M}$  methionin ortamının test edilen diğer ortamların tümüyle arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Proliferasyon ortamına lösin, metiyonin ve valin eklenmesiyle ortalama sürgün sayısı ve sürgün uzunluğunun kontrole göre daha yüksek, triptofan ve alanin eklenmesiyle daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Besi ortamındaki triptofan ve alanin konsantrasyonu arttıkça oluşan sürgünlerin daha çok rozet formdaki sürgünlere benzediği, diğer aminoasit içeren ortamlarda gelişen sürgünlerin ise morfolojik olarak kontrol grubundan farklı olmadığı gözlenmiştir. Bu nedenle Sürme karpuzunda yapılacak sürgün proliferasyonu çalışmalarında özellikle lösin ve metiyonin amino asitlerinin kullanılmasının faydalı olacağı saptanmıştır.

#### 4.3.3.4.Sürme’de BA+Aminoasite Poliamin İlavesinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, ‘Sürme’ karpuzunda tohum kökenli beş günlük in vitro fidelerden, sürgün proliferasyonunu arttırmak için, önceki deneyde elde edilen en iyi kombinasyona ( $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA+ $100 \text{ } \mu\text{M}$  metiyonin) üç farklı poliaminin (spermin, spermidin, putresin) 50, 100 ve 200  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarında ilavesinin birlikte etkisi araştırılmıştır. Kültürün 3. haftasında sürgün uzunluğu ve sürgün sayısı tespit edilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 21’de verilmiştir.

**Tablo 21** Sürme’de tohum kökenli sürgünlerin proliferasyonuna  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA + $100 \text{ } \mu\text{M}$  metiyonin+farklı poliamin karışımlarının etkisi

Poliamin ( $\mu\text{M}$ )	Ortalama Sürgün Sayısı $\pm$ SH	Ortalama Sürgün Uzunluğu (cm) $\pm$ SH
0	$14.27 \pm 0.43$ de	$1.63 \pm 0.08$ c
<b>Spermin</b>		
50	$18.55 \pm 0.36$ a	$2.03 \pm 0.14$ a
100	$17.81 \pm 0.42$ ab	$1.87 \pm 0.08$ ab
200	$15.43 \pm 0.41$ cd	$1.85 \pm 0.06$ ab
<b>Spermidin</b>		
50	$17.12 \pm 0.67$ b	$1.70 \pm 0.06$ c
100	$16.57 \pm 0.28$ bc	$1.76 \pm 0.04$ bc
200	$14.51 \pm 0.48$ de	$1.69 \pm 0.16$ c
<b>Putresin</b>		
50	$15.51 \pm 0.40$ cd	$1.42 \pm 0.08$ d
100	$17.28 \pm 0.24$ ab	$1.31 \pm 0.08$ d
200	$13.25 \pm 0.35$ e	$1.32 \pm 0.06$ d

*Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır*

Tablo 21’de görüldüğü gibi, yirmi bir günlük kültür sonunda, test edilen üç farklı poliamin arasında hem ortalama sürgün sayısı hem de sürgün uzunluğu bakımından istatistiksel farklılıklar olduğu gözlenmiştir. En çok sürgün ortalama  $18.55 \pm 0.36$  adet sürgün sayısı ile 50  $\mu\text{M}$  spermin ile içeren MS besi ortamında elde edilirken, bu ortamı sırasıyla 100  $\mu\text{M}$  spermin ( $17.81 \pm 0.42$ ) ve 100  $\mu\text{M}$  putresin ( $17.28 \pm 0.24$ ) ortamları izlemiştir. Proliferasyon ortamına her üç poliaminin ayrı ayrı ilave edilmesiyle ortalama sürgün sayısının kontrole göre genel olarak daha yüksek, ortalama sürgün uzunluğunun ise spermin ve spermidin ortamlarında kontrole göre daha yüksek ve sürgünlerin normal görünümlü olduğu, putresin ortamında ise sürgün uzunluğunun kontrole göre daha kısa olduğu ve uç kısımlarında

sararmalar meydana geldiği tespit edilmiştir. ‘Sürme’ karpuzunda yapılan sürgün proliferasyonu çalışmalarında özellikle sperminin metiyonin ile birlikte kullanılması, elde edilen sürgün sayısını iki kat arttırmıştır.

#### 4.3.3.6. Sürgün Proliferasyonu İle İlgili Genel Değerlendirme

Diyarbakır karpuz çeşitlerinde yapılan sürgün proliferasyon çalışmalarında eksplant olarak beş günlük in vitro fidelerden oluşan apikal sürgünler kullanıldığında  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren MS besi ortamında en yüksek ortalama sürgün sayısı ‘Beyazkış’ta  $7.75 \pm 0.55$  ve ‘Karakış’ta  $8.91 \pm 0.51$  adet,  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren MS besi ortamında ‘Sürme’de  $8.16 \pm 0.36$  adet olarak elde edildiği ve optimum BA konsantrasyonunun altında veya üzerindeki konsantrasyonlarda bütün karpuz çeşitlerinde sürgün sayısı ve sürgün uzunluğunda önemli oranda azalma olduğu bir önceki bölümle ilgili deneyde açıklanmıştır (Tablo 16). Bu sonuç mikroçoğaltım çalışmalarında uygun BBD konsantrasyonunun tespit edilmesinin önemini göstermektedir. Bu sonuca uygun olarak karpuzda apikal sürgünler ve kotiledonlardan yapılan sürgün proliferasyon çalışmalarının büyük çoğunluğunda  $0.25 - 5.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA kullanıldığı rapor edilmiştir (**İbrahim ve ark., 2009; Ntui ve ark., 2009; Shalaby ve ark., 2008; Pirinç ve Onay, 2008; Krug ve ark., 2005; Compton ve Gray, 1993; Desamero ve ark., 1993; Gray ve Elmstrom, 1991; Dong ve Jia, 1991**). Bazı araştırmacılar da sürgün proliferasyonunda en iyi sonucu BA’ya çeşitli oksinleri ilave ettiklerinde elde ettiklerini rapor etmiştir (**Zhang ve Zhang, 2004; Sultana ve Bari, 2003; Ahad ve ark., 1994; Tabei ve ark., 1993**).

**Shalaby ve arkadaşları (2008)** iki karpuz çeşidinde (‘SA100’, ‘SA101’) in vitro sürgün ve kotiledonları kullanarak geliştirdikleri mikro çoğaltım protokolünde,  $30 \text{ g l}^{-1}$  sakkaroz,  $8 \text{ g l}^{-1}$  agar içeren MS besi ortamını (pH: 5.7) kullanmışlardır. Sürgün rejenerasyonu için BA’nın  $0.5-10.0 \text{ mg l}^{-1}$  aralığındaki konsantrasyonlarını test etmişler ve en yüksek sürgün sayısını ( $5.6$  adet)  $2.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren MS besi yerinde ‘SA100’ çeşidinde apikal sürgünleri eksplant kaynağı olarak kullandıklarında elde etmişlerdir. ‘SA101’ çeşidinde en yüksek sürgün sayısını ( $5.0$  adet)  $2.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA’lı ortamda 6 günlük kotiledonlardan elde etmişlerdir. Araştırmamızda eksplant kaynağı olarak kullanılan sürgünlerin, kotiledonlardan daha iyi rejenere olduğu gözlenmiş ve bu sonucun araştırmacıların bulgularını destekler nitelikte olduğu belirlenmiştir. BA’nın optimum konsantrasyonunu belirlemek için

yaptığımız ve benzer koşullarda elde ettiğimiz sürgün sayısı değerleri araştırmacıların bulgularından daha yüksek bulunmuştur.

**Sultana ve Bari (2003)** diploid karpuzda sürgün rejenerasyonuna farklı BBD'lerin etkisini araştırdıkları çalışmada 5 günlük in vitro fidelerden elde ettikleri sürgünleri kullanmışlardır. Araştırmacılar pH'sı 5.7 olarak ayarlanmış 30 gl<sup>-1</sup> sakkarroz, 7 gl<sup>-1</sup> agar ve 1 mg l<sup>-1</sup> BA +0.2 mg l<sup>-1</sup> NAA içeren MS besisi yerinde en yüksek sürgün sayısını 6.1 ve en yüksek sürgün uzunluğunu 4.5 cm olarak rapor etmişlerdir. BA'ya oksin ilavesi yaptığımız deneyde sürgün sayısı bakımından bu ortamların herhangi bir artışa neden olmadığı hatta NAA ortamında düşüş gözlemlendiği tespit edilmiştir. BA ortamına oksinlerin eklenmesiyle sürgün uzunluğunda da önemli değişimler gözlemlenmiştir. Ortama IBA eklendiğinde sürgün uzunluğunun kontrole göre çok arttığı, IAA eklendiğinde az da olsa arttığı ancak NAA eklendiğinde sürgün uzunluğunun düştüğü tespit edilmiştir. Bu bakımdan sonuçlarımız araştırmacıların bulgularıyla uyum göstermemektedir.

**Gray ve Elmstrom (1991)** tetraploid hatların mikroçoğaltımı için tarladaki bitkilerin sürgün uçlarını keserek sterilize ettikten sonra, eksplantları 30 gl<sup>-1</sup> sakkarroz, 7 gl<sup>-1</sup> agar içeren MS besisi yerinde (pH: 5.7) kültüre almışlardır. Araştırmacılar sürgün proliferasyonu için en uygun BA konsantrasyonunun 1.0 mg l<sup>-1</sup> olduğunu rapor etmişlerdir. Bulgularımız hem besisi ortamının içeriği hem de BBD konsantrasyonu bakımından araştırmacıların sonuçlarını desteklemektedir.

**Dong ve Jia (1991)**, sekiz diploid karpuz çeşidinde yaptıkları mikroçoğaltım çalışmasında beş günlük in vitro fide kotiledonlarını kullanmışlardır. Sürgün proliferasyonu için BA, zeatin, 2İP ve kinetini test etmişlerdir. Bütün çeşitler için en iyi sitokinin tipinin BA olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacıların çalışmasına benzer bir çalışmayı **Compton ve ark. (1993b)** yapmışlar ve sürgün proliferasyonunda BA'nın en iyi konsantrasyonunun da, TDZ ve kinetin'in en iyi konsantrasyonuna göre yaklaşık 1.5 – 2.8 kat daha fazla aksiller sürgün elde etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada kinetinin en uygun konsantrasyonundan elde edilen sürgün sayısının, BA'nın en uygun konsantrasyonuna göre % 40-60 daha düşük sayıda olduğu gözlemlenmiştir. Elde ettiğimiz bulgular her iki çalışmanın sonuçlarını desteklemektedir. Bu nedenle Diyarbakır karpuz tiplerinde mikroçoğaltım



çalışmalarının sürgün proliferasyon aşamasında, sitokin olarak BA kullanmanın daha uygun olduğu tespit edilmiştir.

**Vasudevan ve ark. (2006)**, *Cucumis sativus*'ta farklı azot kaynaklarının sürgün proliferasyonuna etkisini araştırdıkları çalışmada en iyi sonucu (13.6 adet sürgün/eksplant) besi ortamına glutamin eklediklerinde elde ettiklerini rapor etmişlerdir. **Vasudevan ve ark. (2008)**, *Cucumis sativus*'ta in vitro ortamda sürgün proliferasyonunu arttırmak için çeşitli aminoasit ve poliaminleri optimum BA konsantrasyonuna ( $4.44 \mu\text{M}=1\text{mg l}^{-1}$ ) eklemişler ve elde ettikleri sürgün sayısında önemli artışlar olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar  $4.44 \mu\text{M}$  BA'da beş günlük in vitro sürgün uçları kullandıklarında eksplant başına 8.6 adet sürgün elde ettiklerini,  $4.44 \mu\text{M}$  BA'ya  $88 \mu\text{M}$  lösin eklediklerinde elde edilen sürgün sayısının eksplant başına 21.4'e yükseldiğini,  $4.44 \mu\text{M}$  BA+ $88 \mu\text{M}$  lösinine  $68 \mu\text{M}$  spermidin eklediklerinde ise elde edilen sürgün sayısının 36.6'ya yükseldiğini rapor etmişlerdir. En fazla ekonomik öneme sahip olan 'Sürme' karpuzunda yaptığımız çalışmada,  $4.44 \mu\text{M}$  BA'da beş günlük in vitro sürgün uçları kullanıldığında eksplant başına 8.12 adet sürgün elde edildiğini,  $4.44 \mu\text{M}$  BA'ya  $100 \mu\text{M}$  metiyonin eklendiğinde elde edilen sürgün sayısının eksplant başına 14.67'ye yükseldiğini,  $4.44 \mu\text{M}$  BA+ $100 \mu\text{M}$  metiyonine  $50 \mu\text{M}$  spermin eklendiğinde ise elde edilen sürgün sayısının 18.55'e yükseldiği saptanmıştır. En iyi sonucu veren aminoasit ve poliaminler farklı olsa da azot kaynağı ve aktive edici olarak bu organik maddelerin besi yerinde kullanılmasının faydalı olduğu konusunda bulgularımız araştırmacılarla uyum içindedir.

#### 4.4. Köklendirme Çalışmaları

##### 4.4.1. Köklenmeye IBA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde materyal olarak, beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Çalışmada bir kontrol grubu ile birlikte 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA içeren MS besiyerine aktarılmış in vitro sürgünlerin en iyi hangi konsantrasyonda kökleneceği araştırılmıştır. Test edilen IBA konsantrasyonları arasında, 21 günlük kültür süresi sonunda kök sayısı, kök uzunluğu ve köklenme oranları bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir. Deney sonucunda Her üç karpuz tipinde de 0.5-1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA içeren MS besi ortamlarında diğer konsantrasyonlara göre daha yüksek kök sayıları elde edilmiştir. Buna göre Diyarbakır karpuz tiplerinde in vitro sürgünlerin köklendirilmesi için 0.5 – 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA içeren MS besiyerinin en uygun ortam olduğu belirlenmiştir.



**Resim 9.** Karakiş'ta tohum kökenli sürgünlerin 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA ortamında köklenmesi

**Tablo 22.** Tohum kökenli sürgünlerin köklenmesine IBA'nın farklı konsantrasyonlarının etkisi

	IBA (mg l <sup>-1</sup> )	Ortalama Kök Sayısı	Ortalama Kök Uzunluğu (cm)	Köklenme Oranı (%)
Beyazkış	Kontrol	0.65 ± 0.04 d	0.66 ± 0.03 e	12
	0.1	3.04 ± 0.16 c	1.17 ± 0.11 c	44
	0.5	7.63 ± 0.35 ab	1.59 ± 0.07 ab	71
	1	8.75 ± 0.22 a	1.73 ± 0.14 a	76
	2	6.91 ± 0.22 b	1.44 ± 0.08 b	74
	4	2.43 ± 0.25 c	0.87 ± 0.06 d	51
<i>P</i> < 0.05				
Karakış	Kontrol	0.72 ± 0.05 e	0.77 ± 0.04 c	14
	0.1	2.66 ± 0.14 d	1.13 ± 0.05 b	42
	0.5	6.55 ± 0.40 b	1.77 ± 0.15 a	67
	1	8.81 ± 0.47 a	1.74 ± 0.07 a	91
	2	6.29 ± 0.31 b	1.26 ± 0.03 b	71
	4	3.83 ± 0.16 c	0.69 ± 0.08 c	63
<i>P</i> < 0.05				
Sürme	Kontrol	0.86 ± 0.11 d	0.73 ± 0.05 c	11
	0.1	3.47 ± 0.33 c	1.28 ± 0.08 b	57
	0.5	6.17 ± 0.41 ab	1.71 ± 0.14 a	72
	1	7.96 ± 0.24 a	1.86 ± 0.11 a	95
	2	5.24 ± 0.26 b	1.12 ± 0.04 b	69
	4	3.58 ± 0.17 c	0.78 ± 0.05 c	52

Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır

*P* < 0.05

Tablo 22'deki verilerden de anlaşılacağı gibi, her üç karpuz tipinde de en fazla kök sayısı 1.0 mg l<sup>-1</sup> IBA içeren besiyerinde ('Beyazkış' 8.75±0.22, 'Karakış' 8.81±0.47, 'Sürme' 7.96±0.24 adet) elde edilmiş, oluşan köklerin morfolojik olarak sağlıklı ve iyi durumda görüldükleri saptanmıştır (**Resim 9, 10**). En iyi kök uzunluğu ise 'Beyazkış' (1.73±0.14 cm) ve 'Sürme'de (1.86±0.11 cm) 1.0 mg l<sup>-1</sup> IBA ve 'Karakış'ta (1.77±0.15 cm) ise 0.5 mg l<sup>-1</sup> IBA içeren MS besiyerinin olduğu tespit edilmiştir. Her üç karpuz tipinde de *in vitro* sürgünlerin farklı IBA konsantrasyonlarında köklenme oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (*P*<0.05). Gruplar arasında en düşük köklenme oranı kontrol grubunda, en yüksek köklenme oranı ise 1.0 mg l<sup>-1</sup> IBA ('Sürme' %95, 'Karakış' %91 ve 'Beyazkış' %76) ortamında elde edilmiştir.



**Resim 10.** Sürme'de tohum kökenli sürgünlerin 1.0 mg<sup>-1</sup> IBA ortamında köklenmesinden genel görünüm

#### 4.4.2. Köklenmeye IAA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde materyal olarak, beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Çalışmada bir kontrol grubu ile birlikte 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg<sup>-1</sup> IAA içeren MS besiyerine aktarılmış in vitro sürgünlerin en iyi hangi konsantrasyonda kökleneceği araştırılmıştır. Test edilen IAA konsantrasyonları arasında, 21 günlük kültür süresi sonunda kök sayısı, kök uzunluğu ve köklenme oranları bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir. Her üç karpuz tipinde de 0.5-2.0 mg<sup>-1</sup> IAA içeren MS besi ortamlarında diğer konsantrasyonlara göre daha yüksek kök sayıları elde edilmiştir.



**Resim 11.** Karakış'ta tohum kökenli sürgünlerin 1.0 mg<sup>-1</sup> IAA ortamında köklenmesi

**Tablo 23.** Tohum kökenli sürgünlerin köklenmesine IAA'nın farklı konsantrasyonlarının etkisi

	IAA (mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> )	Ortalama Kök Sayısı	Ortalama Kök Uzunluğu (cm)	Köklenme Oranı (%)
Beyazkış	Kontrol	0.65 ± 0.04 e	0.66 ± 0.03 e	12
	0.1	2.18 ± 0.26 d	1.32 ± 0.14 cd	32
	0.5	4.29 ± 0.45 c	1.82 ± 0.06 ab	56
	1	5.98 ± 0.42 b	1.96 ± 0.09 a	66
	2	6.54 ± 0.35 a	1.67 ± 0.07 b	75
	4	3.25 ± 0.25 cd	0.95 ± 0.03 d	39
<i>P</i> < 0.05				
Karakış	Kontrol	0.72 ± 0.05 d	0.77 ± 0.04 d	14
	0.1	2.66 ± 0.21 c	1.45 ± 0.03 bc	36
	0.5	5.27 ± 0.52 b	1.92 ± 0.14 a	45
	1	6.63 ± 0.49 a	1.65 ± 0.08 b	79
	2	5.26 ± 0.28 b	1.35 ± 0.05 c	76
	4	2.84 ± 0.13 c	0.84 ± 0.09 d	55
<i>P</i> < 0.05				
Sürme	Kontrol	0.86 ± 0.11 e	0.73 ± 0.05 d	11
	0.1	3.09 ± 0.24 d	1.37 ± 0.09 c	55
	0.5	5.62 ± 0.35 b	2.15 ± 0.18 a	69
	1	6.81 ± 0.39 a	1.94 ± 0.14 ab	76
	2	4.35 ± 0.33 c	1.63 ± 0.11 b	72
	4	2.92 ± 0.21 d	1.19 ± 0.09 cd	63

*Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır*

*P* < 0.05

Tablo 23'te görüldüğü gibi, deney sonucunda en fazla kök sayısı 'Sürme' (6.81±0.39 adet) ve 'Karakış'ta (6.63±0.49) 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IAA, 'Beyazkış'ta ise (6.54±0.35) 2.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IAA içeren besiyerinde elde edilmiştir. Ancak IAA'nın en iyi konsantrasyonunda elde edilen kök sayıları, optimum IBA ortamından daha düşük sayıda bulunmuştur. En iyi kök uzunluğu 'Karakış (1.92±0.14 cm) ve 'Sürme'de (2.15±0.18 cm) 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IAA, 'Beyazkış'ta ise (1.96±0.09 cm) 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IAA içeren MS besiyerinde elde edilmiştir. Her üç karpuz çeşidinde de in vitro sürgünlerin farklı IAA konsantrasyonlarında köklenme oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (*P*<0.05). Gruplar arasında en düşük köklenme oranı kontrol grubunda, en yüksek köklenme oranı 'Sürme' (%76) ve 'Karakış'ta (%79) 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IAA, 'Beyazkış'ta (%75) ise 2.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IAA ortamında elde edilmiştir. IAA ortamındaki kök uzunlukları IBA'ya göre daha yüksek olmuştur. Ancak elde edilen köklerin IBA ortamına göre cılız (ince) olduğu ve 'Karakış'ta bazı köklerin uç kısımlarında sararmalar meydana geldiği görülmüştür (**Resim 11**).

#### 4.4.3. Köklenmeye NAA'nın Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde materyal olarak, beş günlük in vitro fidelerden alt kültürler sonucu oluşan sürgünler kullanılmıştır. Çalışmada bir kontrol grubu ile birlikte 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA içeren MS besiyerine aktarılmış in vitro sürgünlerin en iyi hangi konsantrasyonda kökleneceği araştırılmıştır. Test edilen NAA konsantrasyonları arasında, 21 günlük kültür süresi sonunda kök sayısı, kök uzunluğu ve köklenme oranları bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir. Her üç karpuz tipinde de 0.5-1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA içeren MS besi ortamlarında diğer konsantrasyonlara göre daha yüksek kök sayıları elde edilmiştir.

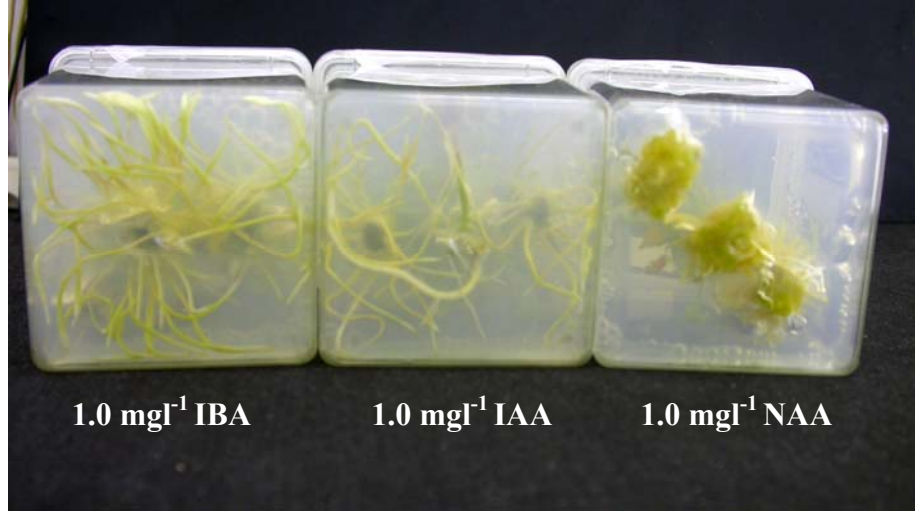


**Resim 12.** Karakış'ta tohum kökenli sürgünlerin 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA ortamında köklenmesi

**Tablo 24.** Tohum kökenli sürgünlerin köklenmesine NAA'nın farklı konsantrasyonlarının etkisi

	NAA (mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> )	Ortalama Kök Sayısı	Ortalama Kök Uzunluğu (cm)	Köklenme Oranı (%)
Beyazkış	Kontrol	0.65 ± 0.04 d	0.66 ± 0.03 cd	12
	0.1	2.09 ± 0.15 c	1.04 ± 0.04 a	41
	0.5	5.41 ± 0.21 a	0.95 ± 0.06 ab	47
	1	5.92 ± 0.33 a	0.86 ± 0.07 b	59
	2	3.85 ± 0.38 b	0.62 ± 0.05 cd	56
	4	2.76 ± 0.24 bc	0.57 ± 0.04 d	45
<i>P</i> < 0.05				
Karakış	Kontrol	0.72 ± 0.05 e	0.77 ± 0.04 d	14
	0.1	3.78 ± 0.14 c	1.27 ± 0.08 a	48
	0.5	6.64 ± 0.40 a	1.05 ± 0.11 b	55
	1	4.95 ± 0.47 b	0.86 ± 0.09 cd	59
	2	4.14 ± 0.31 bc	0.83 ± 0.06 cd	63
	4	2.46 ± 0.16 d	0.66 ± 0.08 e	39
<i>P</i> < 0.05				
Sürme	Kontrol	0.86 ± 0.11 d	0.73 ± 0.05 c	11
	0.1	3.97 ± 0.33 c	1.36 ± 0.07 a	66
	0.5	5.56 ± 0.41 b	0.95 ± 0.09 bc	55
	1	6.87 ± 0.24 a	0.72 ± 0.05 c	68
	2	4.31 ± 0.26 bc	0.58 ± 0.03 d	71
	4	3.63 ± 0.17 c	0.51 ± 0.03 d	53
<i>P</i> < 0.05				
Rakamlar kültürün 21. gününde en az 20 eksplantın ortalamasıdır				<i>P</i> < 0.05

Tablo 24'teki verilerden de anlaşılacağı gibi, deney sonucunda en fazla kök sayısı 'Sürme' (6.87±0.24 adet) ve Beyazkış'ta (5.92±0.33) 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA, 'Karakış'ta ise (6.64±0.40) 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA içeren besiyerinde elde edilmiştir. En iyi kök uzunluğu, her üç karpuz çeşidinde de 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA içeren MS besiyerinde elde edilmiştir. Her üç karpuz tipinde de in vitro sürgünlerin farklı NAA konsantrasyonlarında köklenme oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (*P*<0.05). Gruplar arasında en düşük köklenme oranı kontrol grubunda, en yüksek köklenme oranı 'Sürme' (%71) ve 'Karakış'ta (%63) 2.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA, 'Beyazkış'ta (%59) ise 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA ortamında elde edilmiştir. NAA ile yapılan köklenme deneyi sonuçlarına göre, konsantrasyon arttıkça sürgünlerin taban kısmında oluşan kallusun kütlesi de artmıştır. Bu kallustan çıkan köklerin uzunluğunun, IBA ve IAA ortamına göre önemli sayılabilecek oranda düşük olduğu tespit edilmiştir (**Resim 12, 13**). Kültürün 4 ve 5. haftalarından sonra kallustan çok sayıda kökün çıktığı görülmüştür.



**Resim 13.** Sürme’de tohum kökenli sürgünlerin farklı oksin ortamlarında köklenmesi

#### 4.4.3. Köklendirme Çalışmaları İle İlgili Genel Değerlendirme

Karpuzda tohumdan itibaren *in vitro* çoğaltılan sürgünlerin köklendirilmesinde, çeşide bağlı olarak bir çok araştırmacı farklı oksin tiplerinin farklı konsantrasyonlarını kullanmıştır. Rejenerantların köklendirilmesinde bazı araştırmacılar IBA kullanırken (**Krug ve ark., 2005; Dabauza ve ark., 1997; Ahad ve ark., 1994; Compton ve ark., 1993b; Compton ve Gray, 1992**), bazıları da NAA kullanmışlardır (**Sultana ve ark., 2004; Sultana ve Bari, 2003; Piriñç ve ark., 2003; Chaturvedi ve Bhatnagar, 2001; Compton ve Gray, 1993b**). Yapılan köklenme çalışmalarında IAA kullanıldığını rapor eden çalışmalar da mevcuttur (**Suratman ve ark., 2009**). Yaptığımız çalışmada her üç karpuz tipinde de en fazla kök sayısı  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  IBA içeren besiyerinde (‘Beyazkış’  $8.75 \pm 0.22$ , ‘Karakış’  $8.81 \pm 0.47$ , ‘Sürme’  $7.96 \pm 0.24$  adet) elde edilmiştir. IAA ortamında en fazla kök sayısı ‘Sürme’ ( $6.81 \pm 0.39$  adet) ve ‘Karakış’ta ( $6.63 \pm 0.49$ )  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  IAA ortamında, ‘Beyazkış’ta ise ( $6.54 \pm 0.35$ )  $2.0 \text{ mg l}^{-1}$  IAA içeren besiyerinde elde edilmiştir. NAA ortamında en fazla kök sayısı ise ‘Sürme’ ( $6.87 \pm 0.24$  adet) ve ‘Beyazkış’ta ( $5.92 \pm 0.33$ )  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  NAA besiyerinde, ‘Karakış’ta ( $6.64 \pm 0.40$ )  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  NAA içeren besiyerinde elde edilmiştir. Ancak IAA ve NAA’nın en iyi konsantrasyonunda elde edilen kök sayıları, optimum IBA ortamından daha düşük sayıda bulunmuştur.

IBA ortamında en yüksek köklenme oranı  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  IBA (‘Sürme’ %95, ‘Karakış’ %91 ve ‘Beyazkış’ %76) ortamında elde edilmiştir. IAA ortamında en

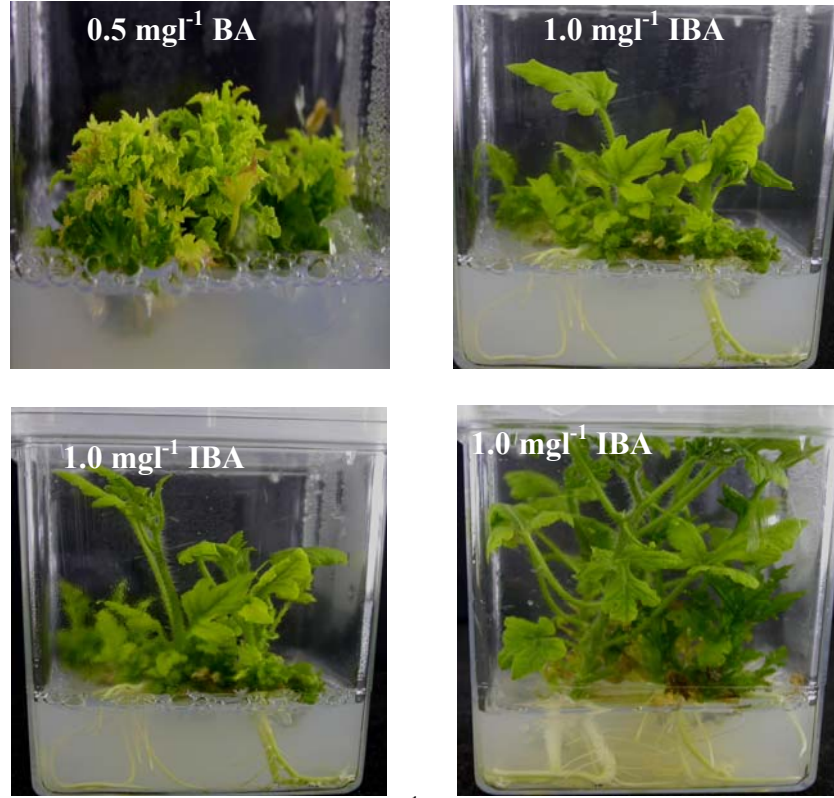


yüksek köklenme oranı ‘Sürme’ (%76) ve ‘Karakışta’ (%79) 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IAA, ‘Beyazkiş’ta (%75) ise 2.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IAA ortamında elde edilmiştir. NAA ortamında en yüksek köklenme oranı ‘Sürme’ (%71) ve ‘Karakışta’ (%63) 2.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA, ‘Beyazkiş’ta (%59) ise 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA ortamında elde edilmiştir.

**Suratman ve arkadaşları (2009)** diploid ‘Hwang fong yellow Quen’ (HFYQ) karpuz çeşidinde in vitro ortamda rejenere ettikleri sürgünleri köklendirmek için IBA, IAA ve NAA oksinlerini kullanmıştır. Araştırmacılar IBA ve IAA’nın NAA’ya göre köklenmede daha iyi sonuç verdiğini ve 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IAA ortamında sürgünlerin %80 oranında, 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA ortamında ise sürgünlerin %75 oranında köklendiğini rapor etmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular araştırmacıların sonuçlarını desteklemektedir.

**Krug ve ark. (2005), Ahad ve ark. (1994) ile Compton ve ark. (1993b)**, karpuzda in vitro ortamda rejenere ettikleri sürgünleri köklendirmek için 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA içeren MS besiyerini kullandıklarını belirtmiştir. Yine bu çalışmaya benzer şekilde **Dabauza ve ark. (1997)**, karpuzda in vitro ortamda rejenere ettikleri sürgünleri köklendirmek için 0.5-1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA kullandıklarını belirtmiştir. Yaptığımız çalışmada her üç karpuz tipinde de en fazla kök sayısı ve köklenme oranı 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA içeren besiyerinde elde edildiğinden sonuçlarımız araştırmacıların bulgularıyla uyum içindedir.

**Sultana ve ark. (2004)**, karpuzda indirekt sürgün rejenerasyonu ile elde ettikleri sürgünleri köklendirmek için IBA, IAA ve NAA hormonlarını kullanmışlardır. Araştırmacılar en yüksek köklenme oranının NAA’da % 95 ve ortalama kök sayısının 4.65 adet olarak elde edildiğini belirtmiştir. Diğer oksinlerdeki en yüksek köklenme oranının IBA’da %80 ve kök sayısının 4.10 adet, IAA’da köklenme oranının %65 ve kök sayısının 2.20 adet olduğunu rapor etmişlerdir. Aynı araştırmacıların sonuçlarına göre sürgünlerin köklenmesi için en uygun ortamın NAA olduğu belirtilmiş ancak yaptığımız çalışmada köklenme için en uygun ortamın IBA olarak saptanmasından bulgularımız farklı çıkmıştır. Optimum şartlarda elde edilen kök sayıları bakımından da sonuçlarımız aynı araştırmacıların bulgularından yaklaşık iki kat daha yüksek çıkmıştır.



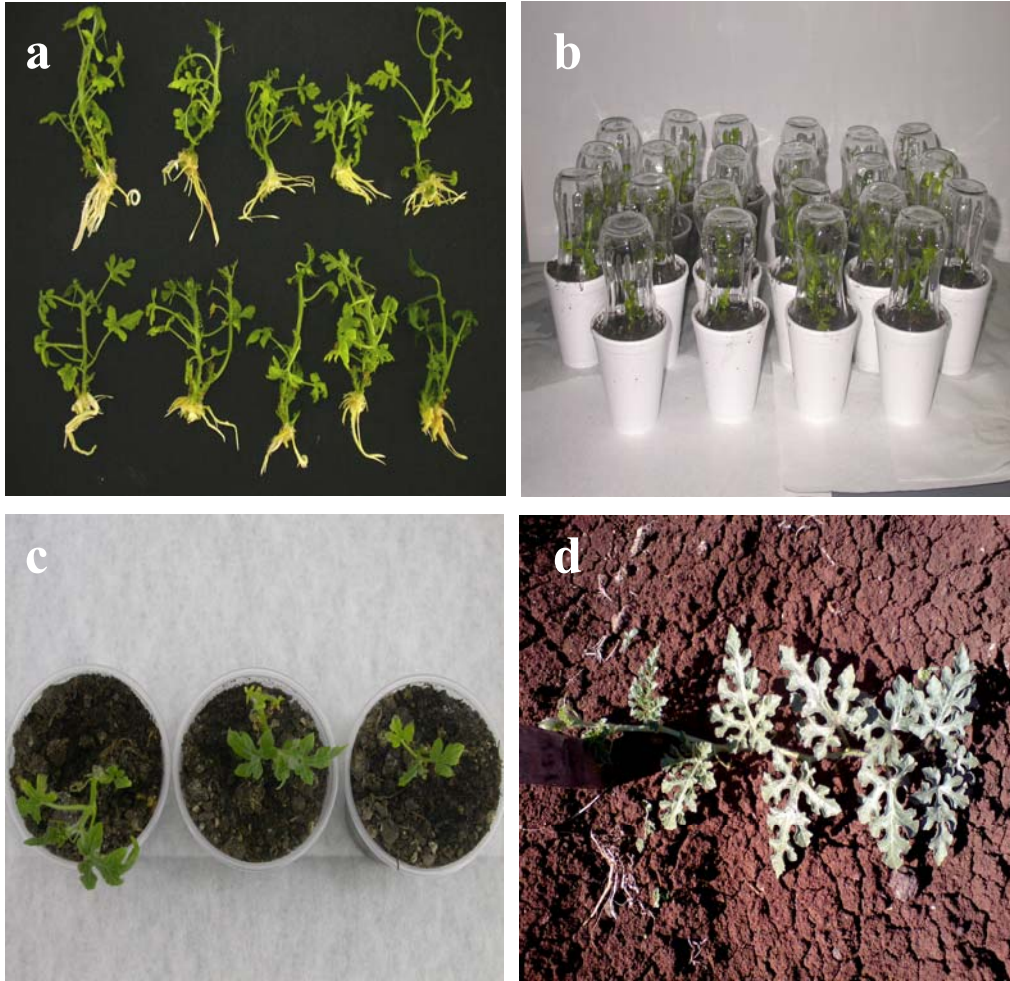
**Resim 14.** Rozet sürgünlerin 1.0 mg l<sup>-1</sup> IBA ortamında boyunun uzaması

Çalışmamızda önemli olan bir diğer nokta yaklaşık 2 cm'lik sürgünlerin, sürgün uzama ortamına aktarılmadan doğrudan köklenme ortamında yüksek oranlarda sürgün uzaması göstererek köklenmesidir. Sürgünler IBA ortamında 21 günlük kültür sonunda köklenirken aynı zamanda da boyları da yaklaşık üç kat uzamıştır. Hatta rozet sürgünler bile IBA ortamında uzamaya başlayarak kültür süresi sonunda normal sürgünlerle hemen hemen aynı boya ulaşmıştır (**Resim 14**). IAA ortamında uzama daha az görülürken, NAA ortamında sürgün uzaması görülmemiştir. **Srivastava ve ark. (1989)**, NAA'nın sürgün organogenezisini inhibe ettiğini rapor etmiştir. Bulgularımız araştırmacıları destekler niteliktedir.

#### 4.5. Aklimatizasyon Çalışmaları

*İn vitro*'da köklenmiş karpuz bitkiciklerinin arazi şartlarına alıştırılmasında ilk aşama olan aklimatizasyon için otoklavda sterilize edilmiş torf kullanılmıştır. Bitkiler köklenme ortamından çıkarılıp musluk suyu altında yıkanarak, su içerisinde bir süre bekletildikten sonra sterilize edilmiş torf içeren plastik bardaklara dikilmişlerdir. Dikim işleminden sonra can suyu verilen bitkilerin üzerleri cam beher

ve bardaklarla kapatılarak belirtilen büyüme odasında gelişmeye bırakılmıştır. Sulama işlemi düzenli olarak yapılmış ve ekimi yapılan bitkilerin üzeri 2. günden itibaren aşamalı olarak (2. günde 10 dakika, 3. günde 20 dakika, 4. günde 1 saat, 5. günde 4 saat, 6. günde 8 saat ve 7. günde 12 saat) açılmak suretiyle ortamın nemi kontrol altında tutulmuştur. Bu şekilde gelişmeye bırakılan bitkilerin üzerleri bir haftalık süre sonunda tamamen açılmıştır. Üzerleri tamamen açılan bitkiler 1 hafta daha büyüme odasında bekletildikten sonra torf ve toprak karışımı içeren saksılara aktarılarak arazi koşullarına aktarılmaya hazırlanmış ve 2 hafta bakım işlemleri düzenli bir şekilde yapılarak gelişmeleri sağlanmıştır (**Resim 15**).



**Resim 15.** İn vitro karpuz bitkiciklerinin aklimatizasyon aşamaları

- Tohum kökenli sürgünlerin 1.0 mg l<sup>-1</sup> IBA ortamında köklenmesi
- Sterilize edilmiş torf içeren bardaklara aktarıldıktan bir hafta sonra bitkiciklerin gelişimi
- Torf ve toprak karışımı içeren saksılara aktarılarak arazi koşullarına aktarılmaya hazırlanmış bitkicikler
- Alıştırılmaları tamamlanmış ve tarlaya aktarılmış bitkiler

**Tablo 25.** İn vitro elde edilmiş karpuz fidelerinin aklimatizasyonuna farklı oksin tiplerinin etkisi

	Oksin Tipi (1.0 mg l <sup>-1</sup> )	Saksıya aktarıldıktan sonra yaşayan rejenerant (%)*	Saksıdan tarlaya aktarıldıktan sonra yaşayan rejenerant (%)**
Beyazkış	IBA	85	70
	IAA	85	76
	NAA	50	65
		<i>P</i> < 0.05	<i>P</i> > 0.05
Karakış	IBA	85	79
	IAA	75	70
	NAA	45	61
		<i>P</i> < 0.05	<i>P</i> < 0.05
Sürme	IBA	95	89
	IAA	85	79
	NAA	45	72
		<i>P</i> < 0.05	<i>P</i> < 0.05

\* Değerler aklimatizasyonun 14. gününde en az 20 eksplantın ortalamasını göstermektedir.

\*\* Değerler tarlaya şaşırtmanın 14. gününde en az 20 eksplantın ortalamasını göstermektedir.

Tablo 25'teki verilerden de anlaşılacağı gibi, saksıya aktarıldıktan sonra yaşayan rejenerant oranı en yüksek ('Beyazkış' %85, 'Karakış' %85, 'Sürme' %95) IBA ortamında köklendirilen fidelerde görülmüştür. En düşük oran ise ('Beyazkış' %50, 'Karakış' %45, 'Sürme' %45) NAA ortamında köklendirilmiş fidelerde tespit edilmiştir. Bu durum en iyi köklendirme ortamı olan IBA'da oluşan köklerin daha sağlıklı geliştiğini göstermektedir. Yapılan deneylerde her üç karpuz tipinde de NAA ortamında köklenme öncesi yoğun ve büyük bir kallus kitlesi oluştuğu ve köklerin bu kallustan geliştiği görülmüştür. Bu bulgular NAA ortamında köklendirilen sürgünlerin şaşırtılmasında, diğer BBD'lere göre daha düşük başarı oranının sebebi olabileceğini akla getirmektedir. Saksıdan tarlaya aktarıldıktan sonra yaşayan rejenerant oranının en yüksek 'Karakış' (%79) ve 'Sürme'de (%89) IBA ortamında köklendirilmiş, 'Beyazkış'ta ise (%76) IAA ortamında köklendirilmiş fidelerde gerçekleştiği saptanmıştır.

#### 4.5.1. Aklimatizasyon İle İlgili Genel Değerlendirme

Steril koşullarda, düşük ışık yoğunluğunda, yüksek nem içeren ve tüm besin maddelerinin bulunduğu bir ortamda geliştirilen bitkilerin, daha düşük nem, daha yüksek ışık düzeyi ve steril olmayan koşullara sahip dış ortama aktarılması çok dikkat isteyen bir işlem olup, bunun aşamalı olarak yapılması gerekmektedir

(Compton ve ark., 2004). Sayılan sebeplerden dolayı, karpuzun mikroçoğaltımıyla ilgili yapılan hiçbir çalışmada %100 aklimatizasyon başarısı rapor edilmemiştir.

Suratman ve ark. (2009), karpuzda yaptıkları mikroçoğaltım çalışmasında toprağa aktarılacak sürgünlerin en az 16 mm uzunluk ve 1 cm'lik köke sahip olması gerektiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar 0.1 mg<sup>l</sup> IAA'da köklendirilmiş sürgünleri substrat olarak kullandıkları 1:1 (v/v) oranındaki steril toprak-vermikülit ile doldurulmuş saksılara aktarmışlar ve bir haftalığına in vitro kültürdekiyle aynı ortamda (16 saat fotoperiyot, 25°C) bekletmişlerdir. Her gün sulayıp aşamalı olarak havalandırılan bitkicikleri toprağa aktarmışlar ve %50 başarıyla aklimatize ettiklerini rapor etmişlerdir. Yaptığımız aklimatizasyon işlemleri karpuz üzerine rapor edilen diğer çalışmalara benzer özelliktedir. Kullandığımız substrat, steril torf olup elde ettiğimiz aklimatizasyon başarı oranı, 'Karakış' (%79) ve 'Sürme'de (%89) IBA ortamında köklendirilmiş, 'Beyazkış'ta ise (%76) IBA ortamında köklendirilmiş sürgünlerde gerçekleşmiş ve araştırmacıların rapor ettiğinden çok daha yüksek olmuştur.

Shalaby ve ark. (2008), karpuzda yaptıkları mikroçoğaltım çalışmasında NAA ortamında köklendirilmiş beş cm'den büyük in vitro köklü sürgünleri, steril torf ile doldurulmuş küçük saksılara aktarıp nemli ortam oluşturmak için üzerini temiz plastik torbayla örtmüşlerdir. Araştırmacılar kademeli olarak havalandırdıkları bitkicikleri %80 başarıyla toprağa aktarmışlardır. Yaptığımız çalışmada NAA'da köklendirilen bitkicikleri toprağa aktarma başarımız %61-72 arasında olup araştırmacıların sonuçlarına yakın değerdedir.

Compton ve arkadaşları (1993b) diploit ve tetraploid karpuz çeşitlerinde in vitro mikroçoğaltımla elde ettikleri sürgünlerin köklenmesi için, IBA içeren MS besiyerini kullanmışlardır. Araştırmacılar köklenen sürgün oranının farklı çeşitlerde %60-100 arasında, aklimatize edilmiş sürgün oranının ise %21-96 arasında gerçekleştiğini rapor etmişlerdir. Yaptığımız köklenme çalışmalarında elde ettiğimiz sonuçlar, daha öncekilerle yakın miktarda olup in vitro bitkicikleri toprağa aktarma başarımız daha yüksek olmuştur.

Compton ve Gray (1992) diploid karpuz çeşitlerinde in vitro rejenere edilen sürgünleri 1.0 mg<sup>l</sup> IBA'da %70-90 başarıyla köklendirmişler, köklü sürgünleri %

60-85 başarıyla toprağa aktarmışlardır. Bulgularımız araştırmacıların sonuçlarıyla uyum içindedir.

#### 4.6. Mikroçoğaltılmış ve Tohumdan Elde Edilmiş Bitki ve Karpuzların Karşılaştırılmaları

##### 4.6.1. Bitki Boyu ve Boğum Sayısı Bakımından Karşılaştırma

Bu deneyde mikroçoğaltılmış bitkilerden ve tohumdan elde edilmiş bitkilerin boy (cm) ve boğum sayısı (adet) yönünden karşılaştırılmaları incelenmiştir. 2007 yılı denemelerinde her üç karpuz tipinde de tohumdan elde edilmiş bitkilerin boyları aktarılmış fidelerden daha uzun olmuştur. Bitkideki boğum sayısı sadece ‘Beyazkış’ta tohumlardan direkt elde edilen bitkilerde daha fazla sayıda olmuş, ‘Karakış’ ve ‘Sürme’de istatistiksel olarak bir farklılık görülmemiştir.

**Tablo 26.** Mikroçoğaltılmış ve tohumdan elde edilmiş bitkilerin boy uzunluğu ve boğum sayısı yönünden karşılaştırılmaları

		2007		2008	
	Ekim metodu	Bitki boyu (cm)	Bitki boğum sayısı (adet)	Bitki boyu (cm)	Bitki boğum sayısı (adet)
<b>Beyazkış</b>	Direkt tohum	317 a	65 a	292 a	61 a
	Aktarılmış fide	285 b	53 b	283 a	48 b
<b>Karakış</b>	Direkt tohum	276 a	68 a	308 a	52 a
	Aktarılmış fide	243 b	61 a	269 b	45 a
<b>Sürme</b>	Direkt tohum	324 a	47 a	284 a	56 a
	Aktarılmış fide	291 b	53 a	271 a	51 a

Tablo 26’deki verilerden de anlaşılacağı gibi, 2008 yılı denemelerinde ‘Karakış’ta bitki boyu, ‘Beyazkış’ta boğum sayısı direkt tohumdan elde edilmiş bitkilerde, aktarılmış fidelerden istatistiksel olarak daha yüksek olmuş, geri kalan deney gruplarının hiçbirinde farklılık görülmemiştir. Tarlaya aktarılan in vitro

fidelerin boylarında ilk 10-15 gün boyunca boy uzaması çok yavaş ve sınırlı olmuş bu süreden sonra normal olarak gelişme göstermeye başlamışlardır.

#### 4.6.2. Ürün Verimi Yönünden Karşılaştırma

Bu deneyde mikroçoğaltılmış bitkilerden ve tohumdan elde edilmiş karpuzların, bitki başına alınan meyve sayısı, ürün verimi (kg/m<sup>2</sup>) ve ortalama meyve ağırlığı (kg) yönünden karşılaştırılmaları incelenmiştir. 2007 yılı denemelerinde her üç karpuz çeşidinde de tohumdan elde edilmiş fidelerden meydana gelen meyve sayısı ve ürün miktarı ile in vitro elde edilmiş fidelerden meydana gelen meyve sayısı ürün miktarı arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır. Meyve ağırlığı bakımından her iki ekim metodundan gelişen karpuzlarda ‘Beyazkış’ ve ‘Karakış’ta herhangi bir farklılık gözlenmezken ‘Sürme’de direkt tohumdan gelişen karpuzların meyve ağırlığı in vitro gelişenlerden daha yüksek bulunmuştur.

**Tablo 27.** Mikroçoğaltılmış ve tohumdan elde edilmiş karpuzların ürün verimi yönünden karşılaştırılmaları

		2007			2008		
	Ekim metodu	Bitki başına Meyve verimi (adet)	Ürün (kg/m <sup>2</sup> )	Meyve ağırlığı (kg)	Bitki başına Meyve verimi (adet)	Ürün (kg/m <sup>2</sup> )	Meyve ağırlığı (kg)
<b>Beyazkış</b>	Direkt tohum	5.83 a	4.50 a	6.44 a	4.69 a	4.11 a	7.34 a
	Aktarılmış fide	5.41a	4.25 a	6.55 a	4.83 a	4.48 a	6.80 a
<b>Karakış</b>	Direkt tohum	6.08 a	4.85 a	6.65 a	6.34 a	4.42 a	6.43 a
	Aktarılmış fide	5.66 a	4.40 a	6.48 a	5.29 b	4.17 a	5.74 a
<b>Sürme</b>	Direkt tohum	4.70 a	6.02 a	12.81a	4.16 a	5.69 a	13.30 a
	Aktarılmış fide	4.54 a	5.91 a	11.85 b	4.33 a	5.65 a	11.51 b

Tablo 27’de görüldüğü gibi 2008 yılı denemelerinde bitki başına meyve verimi bakımından ‘Karakış’ta, meyve ağırlığı bakımından da ‘Sürme’de direkt tohumdan meydana gelen karpuzların, aktarılmış fidelerden meydana gelenlerden istatistiksel olarak önemli oranda yüksek olduğu gözlenmiş, diğer grupların hiçbirinde istatistiksel olarak herhangi bir farklılık saptanmamıştır.

#### 4.6.3. Şeker İçeriği Yönünden Karşılaştırma

Bu deneyde mikroçoğaltılmış bitkilerden ve tohumdan elde edilmiş karpuzların şeker içeriği yönünden karşılaştırılmaları incelenmiştir. Fruktoz karpuz tiplerinin tamamında en yüksek konsantrasyona sahip şeker olmuştur. Fruktozdan sonra konsantrasyonu yüksek olan şekerin glikoz olduğu görülmüş ve en düşük orandaki şekerin sakkaroz olduğu tespit edilmiştir. 2007 yılı denemelerinde sadece 'Beyazkış'ta tohumdan oluşmuş meyvelerdeki sakkaroz miktarı, aktarılmış fidelerden elde edilenden daha yüksek bulunmuş, geri kalan bütün deney gruplarında istatistiksel yönden önemli bir farklılık gözlenmemiştir.

**Tablo 28.** Mikroçoğaltılmış ve tohumdan elde edilmiş karpuzların şeker içeriği yönünden karşılaştırılmaları

		2007				2008			
	Ekim metodu	Sakkaroz	Glikoz	Fruktoz	Top.şeker	Sakkaroz	Glikoz	Fruktoz	Top.şeker
<b>Beyazkış</b>	Direkt tohum	0.76 a	2.40 a	5.79 a	8.95 a	0.95 a	2.26 b	5.34 a	8.55 a
	Aktarılmış fide	0.62 b	2.44 a	5.45 a	8.51 a	0.63 b	2.97 a	5.23 a	8.83 a
<b>Karakış</b>	Direkt tohum	0.57 a	2.55 a	5.32 a	8.44 a	0.86 a	2.85 a	4.93 b	8.64 a
	Aktarılmış fide	0.55 a	2.71 a	5.56 a	8.82 a	0.64 b	2.59 a	5.44 a	8.67 a
<b>Sürme</b>	Direkt tohum	0.49 a	2.15 a	5.15 a	7.79 a	0.54 a	1.93 a	5.37 a	7.84 a
	Aktarılmış fide	0.51 a	2.32 a	4.97 a	7.90 a	0.42 b	1.72 a	4.83 a	6.97 b

Değerler g/100 ml meyve suyundan elde edilmiştir.

Tablo 28'deki verilerden de anlaşılacağı gibi, 2008 yılı denemelerinde her üç karpuz tipinde de direkt tohumdan oluşmuş meyvelerdeki sakkaroz miktarı, aktarılmış fidelerden elde edilenden daha yüksek bulunmuştur. Aktarılmış fidelerden oluşan karpuzlarda 'Beyazkış'ta glikoz, 'Karakış'ta ise fruktoz şekeri tohumdan elde edilenlere göre daha yüksek bulunmuştur. Sonuçta toplam şeker miktarları 'Sürme'de 2008 yılı dışında diğer bütün deney gruplarında istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir. Bu bulgular diploid Diyarbakır karpuz genotiplerinin mikroçoğaltılması sonucunda herhangi bir kalite kaybının olmadığını göstermesi bakımından önemlidir.



#### 4.6.4. Mikroçoğaltılmış ve Tohumdan Elde Edilmiş Bitki ve Karpuzların Karşılaştırılmaları İle İlgili Genel Değerlendirme

Yaptığımız çalışmalarda mikroçoğaltılmış bitkilerden ve tohumdan elde edilmiş bitkilerin boy uzunluğu yönünden karşılaştırılmaları incelenmiş, bitkilerde görülen boy uzunluğu ve boğum sayısı farkına rağmen, direkt tohumdan ve aktarılmış bitkilerden elde edilen karpuzlardaki, bitki başına meyve verimi, ürün miktarı, ortalama meyve ağırlığı ve şeker miktarlarında önemli farklılıklar olmadığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar kaliteli diploid Diyarbakır karpuz hatlarının mikroçoğaltım yoluyla üretilmesi durumunda herhangi bir kalite eksikliğine neden olmayacağını göstermektedir.

**NeSmith (1999)**, diploid Royal Sweet karpuz çeşidinde direkt tohum ve aktarılmış rejenerantların, iki yıl üst üste toplam ürün verimlerini ve ortalama meyve ağırlıklarını tespit ettiği çalışmada, ilk yıl sırasıyla direkt tohumdan ve aktarılmış bitkiden meyve ağırlığını 8.0 kg, ürün verimini 6.0 kg /m<sup>2</sup> ile 8.6 kg ve 6.7 kg /m<sup>2</sup> olarak elde etmiş, çalışmanın ikinci yılında ise sırasıyla direkt tohumdan ve aktarılmış bitkiden meyve ağırlığını 10.4 kg, ürün verimini 4.3 kg /m<sup>2</sup> ile 9.9 kg ve 7.5 kg /m<sup>2</sup> olarak elde etmiştir. Yaptığımız çalışmada direkt tohumdan ve aktarılmış fidelerden elde edilen ürün verimi ile meyve ağırlıklarının farklı olmadığı gözlenmiş, bu nedenle bulgularımız araştırmacının sonuçlarıyla uyum göstermemiştir.

**Quek ve ark. (2007)**, karpuzun fizikokimyasal özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında, karpuzda en fazla bulunan şekerin fruktoz ardından glikoz ve sakkaroz olduğunu rapor etmişlerdir. **Elmstrom ve Davis'de (1981)**, araştırmacıların sonuçlarına benzer bulgular elde etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar araştırmacıların bulgularını destekler niteliktedir.

#### 4.7. Tetraploid Bitki Elde Edilmesi ve Ploidi Seviyesinin Belirlenmesi

Poliploid karpuz bitkisi elde etmek için hem in vivo hem de in vitro yöntemler denenmiştir. İn vivo yöntemde tohumlar ve tohumlardan gelişen kotiledonlu fideler kullanılmış, in vitro yöntemde ise tohumlar ve in vitro rejenerasyon edilmiş sürgünler kullanılmıştır.

#### 4.7.1. İn vivo Koşullarda Tetraploid Bitkiler Elde Edilmesi Araştırmaları

Bu deneyde diploid olduğu bilinen tohumlardan in vivo koşullarda tetraploid bitkiler elde etmek için iki yöntem denenmiştir. Her iki yöntemde de kullanılmak üzere üç farklı dozda (%0.1, 0.2, 0.4) kolşisin çözeltisi hazırlanmıştır. İlk yöntemde, hazırlanan kolşisin çözeltileri içinde 12 ve 24 saat bekletilen tohumlar daha sonra saksılara aktarılmıştır. İkinci in vivo yöntemde saksılara ekilen tohumlardan gelişen kotiledonlu fidelerin ilk gerçek yaprak oluşumu aşamasında büyüme ucuna, 24 saat içinde 8 saat arayla günde 3 kez bir damla ve 48 saat içinde 6 damla kolşisin çözeltileri damlatılmış ve katlama gerçekleşmesi sağlanmıştır.

**Tablo 29.** İn vitro koşullarda farklı süre ve kolşisin dozlarının tetraploid oluşumuna etkisi

	Kolşisin dozu (%)	Tohumdan tetraploid oluşumu (%)		Fideden tetraploid oluşumu (%)	
		12 saat (daldırma)	24 saat (daldırma)	24 saat (3 damla)	48 saat (6 damla)
Beyazkış	0.0	-	-	-	-
	0.1	-	6.2	-	-
	0.2	3.2	7.4	-	5.2
	0.4	4.3	10.7	-	5.8
		$P > 0.05$	$P < 0.05$		$P < 0.05$
Karakış	0.0	-	-	-	-
	0.1	-	4.1	-	3.8
	0.2	-	8.6	3.2	5.2
	0.4	9.1	15.3	4.0	7.6
		$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P > 0.05$	$P < 0.05$
Sürme	0.0	-	-	-	-
	0.1	6.9	7.1	-	-
	0.2	8.7	11.5	-	6.8
	0.4	9.5	13.0	4.0	8.8
		$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$

Tablo 29’da görüldüğü gibi in vivo koşullarda en fazla tetraploid oluşumu her üç karpuz tipinde de tohumların kolşisin çözeltisine daldırılması ile elde edilmiştir. Genel olarak daldırma süresi ve çözelti konsantrasyonu arttıkça tetraploidi oluşma

oranı da artmıştır. Tetraploid uyartımında en yüksek sonuç (Beyazkış %10.7, Karakış %15.3, Sürme %13.0) tohumların, %0.4'lük kolşisin çözeltisinde 24 saat süreyle daldırılmasıyla elde edilmiştir. Fideden tetraploid uyartılması, tohuma göre oldukça düşük düzeyde kalmıştır.

#### 4.7.2. İn vitro Koşullarda Tetraploid Bitkiler Elde Edilmesi Araştırmaları

İn vitro yöntemde üç farklı dozda (%0.01, 0.02, 0.03) kolşisin içeren hormonsuz MS besi ortamı hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerine yüzey sterilizasyonu yapılmış tohumlar ve in vitro rejenere edilmiş sürgünler üç ve beş günlüğüne aktarılmış ve bu süre sonunda  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren ortamda kültüre alınmıştır.

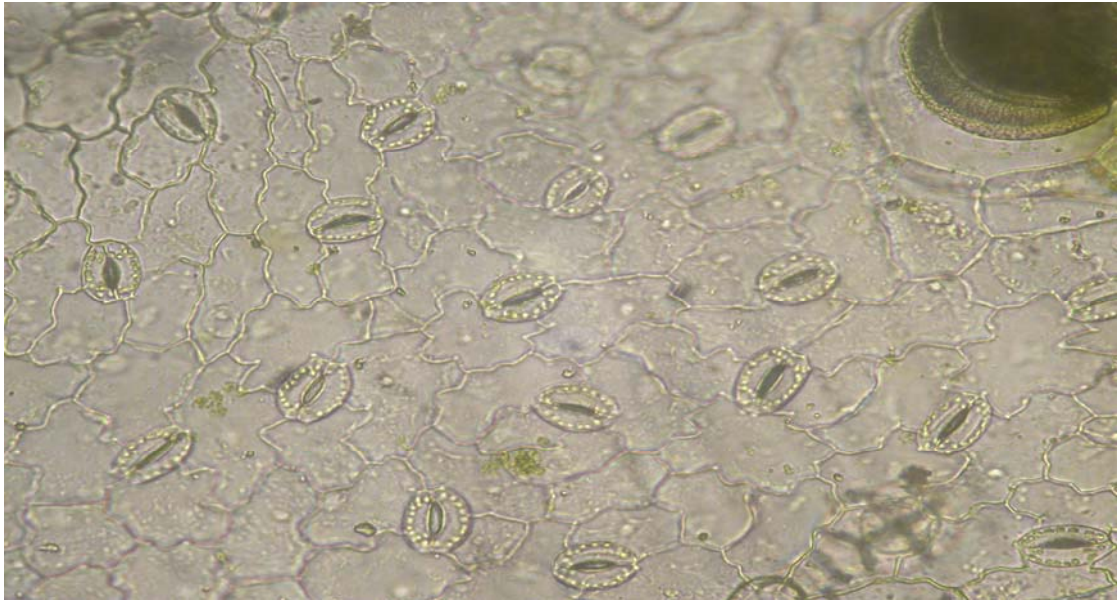
**Tablo 30.** İn vitro koşullarda farklı süre ve kolşisin dozlarının tetraploid oluşumuna etkisi

	Kolşisin dozu (%)	Tohumdan tetraploid oluşumu (%)		Sürgünden tetraploid oluşumu (%)	
		3 gün	5 gün	3 gün	5 gün
Beyazkış	0.00	-	-	-	-
	0.01	3.2	4.3	-	-
	0.02	3.2	9.7	-	-
	0.03	7.6	16.2	-	4.3
		$P < 0.05$	$P < 0.05$		$P < 0.05$
Karakış	0.00	-	-	-	-
	0.01	4.3	7.6	-	3.4
	0.02	7.6	17.6	-	5.5
	0.03	8.1	23.5	3.1	5.5
		$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P > 0.05$
Sürme	0.00	-	-	-	-
	0.01	7.6	12.1	-	-
	0.02	10.3	14.7	-	6.4
	0.03	10.3	27.0	3.4	8.1
		$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$

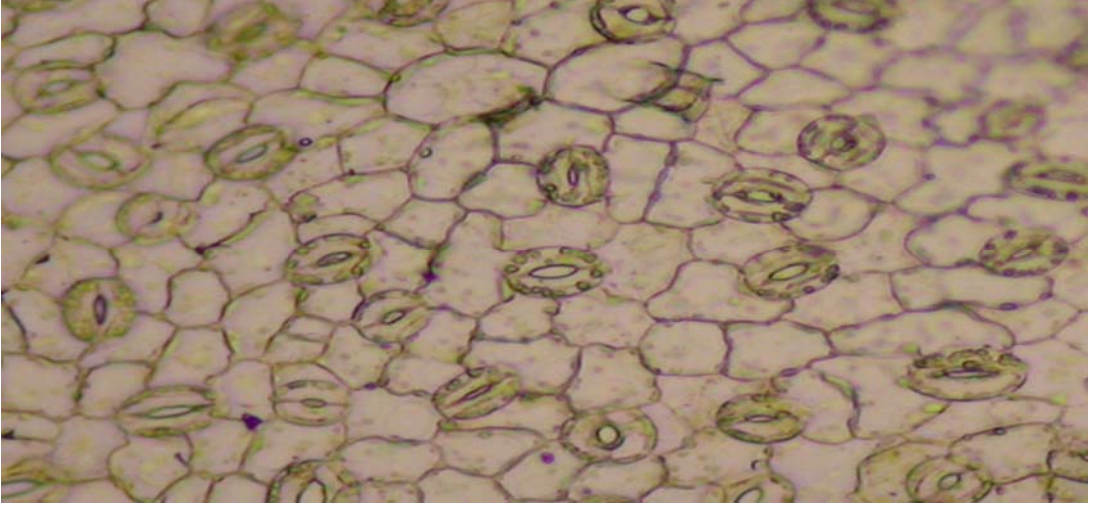
Tablo 30'da görüldüğü gibi, in vitro koşullarda en fazla tetraploid oluşumu her üç karpuz tipinde de tohumların, kolşisin içeren MS besiyerinde kültüre alınmasıyla elde edilmiştir. Kültür süresi ve kolşisin konsantrasyonu arttıkça tetraploidi oluşma oranının da arttığı görülmüştür. Tetraploid uyartımında en yüksek sonuç (Beyazkış %16.2, Karakış %23.5, Sürme %27.0) tohumların, %0.03'lük kolşisin içeren MS besiyerinde kültüre alınmasıyla elde edilmiştir. İn vitro sürgünlerin aynı ortamlarda kültüre alınmasıyla elde edilen tetraploid uyartımı oldukça düşük seviyede kalmıştır. Bu nedenle karpuz Diyarbakır karpuz tiplerinde tetraploid hatlar elde etmek için in vitro yöntemlerin, in vivo yöntemlere göre daha etkili olduğu ve eksplant kaynağı olarak tohumların kullanılmasının uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

#### 4.7.3. Ploidi Seviyesinin Belirlenmesi

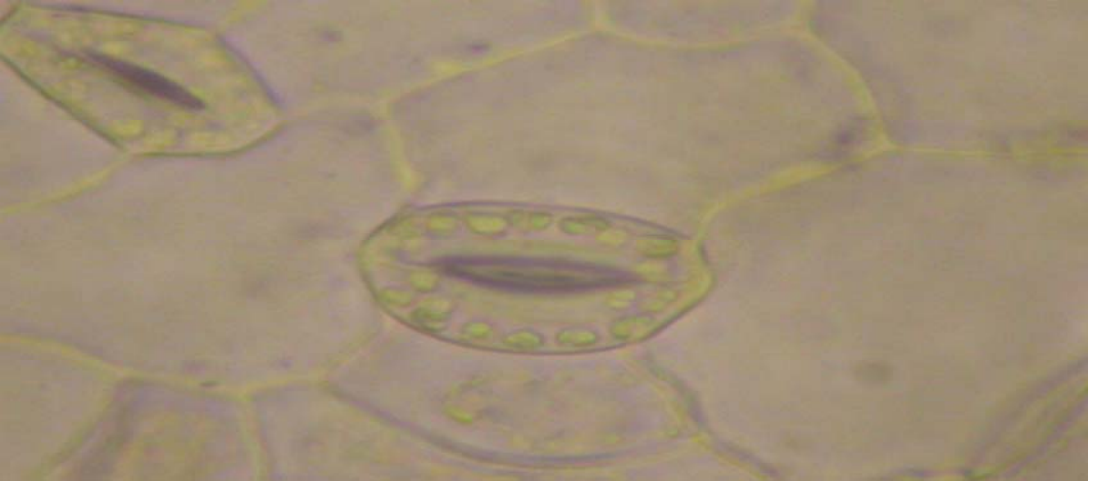
Ploidi seviyesi yaprakların alt epidermisinde, stoma bekçi hücrelerindeki kloroplastların sayılması ve yaprakta toplam DNA miktarının spektrofotometrik olarak tespit edilmesiyle belirlenmiştir. DNA miktarı 1 gram taze yaprakta  $\mu\text{g/ml}$  cinsinden hesaplanmıştır. Ayrıca bulguları morfolojik olarak desteklemek için yaprak genişliği ve erkek çiçek çapı gibi ölçümler yapılmıştır.



**Resim 16.** Sürme'de tetraploid bitki yapraklarında stomaların genel görünümü



**Resim 17.** Sürme’de diploid bitki yapraklarında stomaların genel görünümü



**Resim 18.** Sürme’de tetraploid bitki yapraklarında kloroplastların stomadaki görünümü

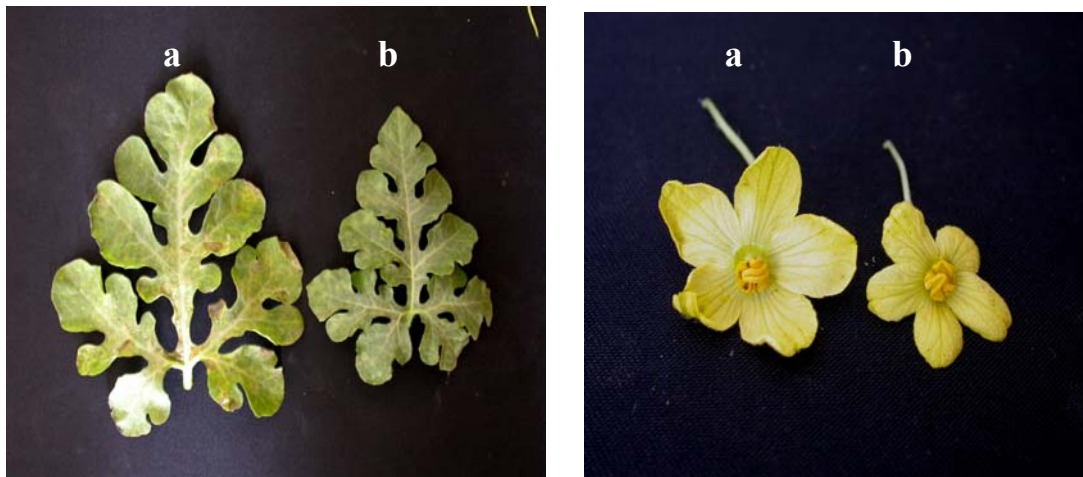


**Resim 19.** Sürme’de diploid bitki yapraklarında kloroplastların stomadaki görünümü

**Tablo 31.** İn vivo ve in vitro koşullarda oluşturulmuş diploid ve tetraploid bitkilerin ploidi seviyesinin belirlenmesi

	Ploidi seviyesi	Yaprak genişliği (cm)	Erkek çiçek çapı (mm)	Kloroplast sayısı	DNA miktarı (µg/ml)
<b>Beyazkış</b>	2n	13.3±1.3	25.8±1.2	10.3±0.5	1.96±0.28
	4n	15.7±1.2	30.4±1.8	19.5±0.9	3.87±0.37
<b>Karakış</b>	2n	13.9±1.4	26.3±2.6	11.6±0.8	2.16±0.17
	4n	16.6±1.3	31.6±1.5	20.9±0.8	4.03±0.35
<b>Sürme</b>	2n	14.8±1.7	26.2±2.1	10.7±0.6	2.41±0.24
	4n	17.3±2.3	32.1±2.8	18.7±1.3	4.66±0.27

Tablo 31’de görüldüğü gibi tetraploid bitkilerin stomalarındaki kloroplast sayısının ve yaş yapraklardaki DNA miktarının, diploid bitkilerin yaklaşık 1.8-2 katı olduğu saptanmıştır. ‘Beyazkış’, ‘Karakış’ ve ‘Sürme’ tetraploid hatlarının kloroplast sayısı sırasıyla 19.5±0.9, 20.9±0.8 ve 18.7±1.3 adet olarak tespit edilirken, diploid hatların kloroplast sayısı sırasıyla 10.3±0.5, 11.6±0.8 ve 10.7±0.6 adet olarak gözlenmiştir (**Resim 16-19**). Her üç karpuz tipinde de tetraploid bitkilerin yaprak genişliği ve erkek çiçek çapının, diploidlere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (**Resim 20**).



**Resim 20.** Sürme’de a. Tetraploid; b. Diploid yaprak ve çiçekleri

#### 4.7.4. Tetraploid Bitki Elde Edilmesi ve Ploidi Seviyesinin Belirlenmesi İle İlgili Genel Değerlendirme

Çekirdeksiz karpuz üretiminde ebeveyn olarak kullanılan tetraploid hatların üretilmesinde en fazla kullanılan antimitotik ajan kolşisinidir (Ying ve ark., 2009; Dao ve ark., 2007; Jaskani ve ark., 2004; Raza ve ark., 2003; Lizhi ve ark., 2002; Lower ve Johnson, 1969). Ancak dinitroanilin (Omran ve ark., 2008) ve oryzalin (Koh, 2002) kullanarak tetraploidi uyartımı gerçekleştirilen bazı çalışmalar da rapor edilmiştir. Bu araştırmalarda karpuz çeşidine bağlı olarak farklı uygulama süresi ve dozlar kullanılmıştır. Yaptığımız çalışma sonuçlarına göre tetraploid bitki elde etmek için her üç Diyarbakır karpuz tipinde de in vitro yöntemlerin daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Tohumun %0.03 kolşisinli MS ortamında çimlenmesiyle tetraploidi oluşma oranı ‘Sürme’de %27, ‘Karakış’ta %23.5, ‘Beyazkış’ta ise %16.2 olarak gerçekleşmiştir (Tablo 30).

Omran ve ark. (2008), beş diploid karpuz çeşidinde (‘Gizal’, ‘Sugar Baby’, ‘Crimson Sweet’, ‘Tirg’, ‘Luo’) tetraploidi elde etmek için kolşisin (300-500 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>) ve dinitroanilin (12-15 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>) kullanarak bu çözeltileri mukayese etmişlerdir. Bütün karpuz çeşitlerinde en yüksek tetraploidi eldesi tohumların 12 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> dinitroanilin çözeltisine 12 saat daldırılmasıyla elde edildiğini rapor etmişlerdir. Karpuzların ploidi seviyesini tespit etmek için bekçi hücrelerdeki kloroplastları saymışlar ve diploidlerde 9.3 ile 13 adet arasında, tetraploidlerde 22.6 ile 26.4 adet arasında kloroplast saydıklarını belirtmişlerdir. Yaptığımız çalışmada tetraploidi uyartımı için yalnızca kolşisin kullanılmıştır ancak bekçi hücrelerdeki kloroplast sayısı bakımından sonuçlarımız araştırmacıların bulgularıyla tam bir uyum içindedir.

Babaoğlu ve ark. (2002), stomalar içerisinde bulunan kloroplast sayısının bazı bitki türlerinde (karpuz, kavun, şeker pancarı, hıyar, biber, kabak) ploidi ayırmada, güvenilir bir yöntem olarak dünya literatüründe yer aldığını belirtmiştir. Karpuzda ploidi seviyesini belirlemek için kloroplast sayımı kullanıldığını rapor eden çok sayıda çalışma mevcuttur (Omran ve ark., 2008; Jaskani ve ark., 2005a; Jaskani ve ark., 2004a; Koh, 2002; Compton ve ark., 1999; Compton ve ark., 1996; Sarı ve ark., 1996; Compton ve ark., 1994).

Dao ve ark. (2007), üç diploid karpuz çeşidinde fidelerin büyüme uçlarına farklı konsantrasyonlarda kolşisin uygulayarak tetraploid hatlar elde etmeye

çalışmışlardır. Araştırmacılar bu amaçla bir ve iki gerçek yapraklı aşamadayken fidelerin büyüme uçlarına %0.2 ve %0.4'lük kolşisin çözeltisi uygulamasıyla en iyi tetraploid uyartımının olduğunu rapor etmiştir. Yaptığımız çalışma sonuçlarına göre in vivo koşullarda fidelerin büyüme uçlarına 48 saatte toplam 6 damla %0.2 ve %0.4'lük kolşisin çözeltisi uyguladığımızda tüm karpuz tiplerinde katlamamın gerçekleştiği gözlenmiştir. Bu nedenle bulgularımız araştırmacıları kısmen destekleyici niteliktedir.

**Jaskani ve ark. (2005)**, yedi diploid karpuz çeşidi ve bunlardan oluşturulmuş tetraploid hatların bazı özellikleri yönünden karşılaştırılmasını yapmışlardır. Araştırmacılar DNA indeksi ile kloroplast sayısı arasında güçlü bir korelasyon olduğunu belirtmişler ayrıca tetraploid genotiplerde yaprak alanı, klorofil içeriği, çiçek ve çiçek organlarının büyüklüğünün daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Yaptığımız tetraploid hatlardaki DNA miktarı, yaprak genişliği ve erkek çiçek çapı değerlerinin daha yüksek olması, araştırmacıların sonuçlarını desteklemektedir.

**Jaskani ve ark. (2004)**, karpuzun in vitro rejenerasyonuna kolşisinin etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla 0.2 mg l<sup>-1</sup> BA içeren ve kolşisinin farklı konsantrasyonlarını (%0.01, 0.05 ve 0.1) içeren MS besi yerine eksplant olarak tohum ve kotiledon inkübe etmişlerdir. Araştırmacılar en yüksek sürgün proliferasyonu ve kök eldesini %0.01 kolşisin içeren MS besi yerinde tespit etmişler ve in vitro tetraploid oluşumu için düşük dozlarda kolşisin kullanımının daha uygun olduğunu belirtmişlerdir. Yaptığımız hazırlık deneylerinde kolşisinin yüksek konsantrasyonlarının özellikle in vitro ortamda eksplantlar için öldürücü olduğunu gözlemlediğimizden deneysel aşamada in vitro ortamda düşük konsantrasyonlarda kolşisin kullanılmasına karar verilmiştir. Kullandığımız dozlar araştırmacıların kullandığı dozlara yakın düzeydedir.

**Koh (2002)** 'Moodeungsan' karpuz çeşidinin diploid, triploid ve tetraploid hatlarının bazı karakteristik özelliklerini karşılaştırmasını yapmıştır. Araştırmacı her üç ploidi seviyesinde yaprak genişliği, uzunluğu, alanı ile klorofil miktarının farklılık gösterdiğini belirtmiştir. Çalışmada tetraploid hattaki DNA miktarının diploidin yaklaşık 2 katı kadar olduğunu rapor etmiştir. **Raza ve ark. (2003)** karpuz da farklı eksplant kaynaklarından in vitro ortamda tetraploid elde etmişler, elde ettikleri tetraploid hatların DNA miktarının, diploidlere göre yaklaşık iki kat olduğunu rapor etmişlerdir. Yaptığımız çalışma sonuçlarına göre tetraploid bitkilerin yapraklarındaki



DNA miktarının, diploid bitkilerin yaklaşık 1.8-2 katı olduğu gözlenmiştir. Bulgularımız araştırmacıların sonuçlarıyla uyum içindedir.

**Compton ve ark. (1999)**, in vitro karpuz rejenerantlarının ploidi seviyesini belirlemek için yapraklarda bekçi hücrelerde kloroplast sayımı yapmışlardır. Kloroplast sayısı diploidlerde ortalama 9.7 adet ve tetraploidlerde 17.8 adet olarak rapor edilmiştir. **Compton ve ark. (1996)**, beş diploid karpuz çeşidinden in vitro ortamda tetraploid hatlar elde etmişler ve elde ettikleri rejenerantların ploidi seviyesini belirlemek için bekçi hücrelerdeki kloroplastları saymışlar ve diploidlerde ortalama 11.2, tetraploidlerde 19.1 adet kloroplast olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar tetraploidlerde erkek çiçek çapı ve yaprak genişliğinin daha büyük olduğunu rapor etmiştir. **Compton ve ark. (1994)**, diploid karpuz kotiledonları kullanarak in vitro ortamda tetraploid karpuz rejenere etmek için bir çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar bitkilerin ploidi seviyesini tespit etmek için stomalarda kloroplast sayımı yapmışlardır. Araştırma sonucunda tetraploid rejenerantlardaki ortalama kloroplast sayısı 18.6 adet iken diploid rejenerantlarda ortalama 11.2 adet olarak tespit edilmiştir. **McCouston ve Elmstrom (1993)** karpuz ve kavunda ploidi seviyesini belirlemek için stoma bekçi hücrelerinde kloroplast sayımı yapmıştır. Araştırmacılar bu yöntemin kullanılmasının ploidi tespitinde önemli kolaylıklar sağladığını ve kısa zamanda sonuç alınabildiğini belirtmiştir. Araştırma sonucunda diploid karpuzda ortalama kloroplast sayısı 11.4 adet, tetraploid karpuzda ise 19.7 adet olarak sayılmıştır. Diploid kavunda ortalama kloroplast sayısı 8.5 adet iken tetraploid kavunda 18.6 adet olarak rapor edilmiştir. Bulgularımız yapılan çalışmaları desteklemektedir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada günümüzde yeteri kadar önem verilmediği için yabancı çeşitlerle rekabet gücünü yitirmekte olan Diyarbakır karpuzunun ‘Sürme’, ‘Beyazkış’ ve ‘Karakış’ genotipleri üzerine doku kültürü yöntemi kullanılarak, sürgün ucu mikroçoğaltım olanakları araştırılmıştır. Tarladan alınmış eksplantların apikal uç ve tohumların yüzey sterilizasyonu için materyaller %70’lik etil alkolde 40 saniye ön sterilizasyona tabi tutulmuş ardından apikal uçlar %2 ve tohumlar %4’lük NaOCl çözeltisinde karpuz tipine göre 10-15 dakika çalkalanmıştır. Yapılan sterilizasyon deneyleri sonucunda mikroçoğaltım için yeterli sayıda aksenik ve sağlıklı materyal elde edilmiştir. Yapılan sterilizasyon deneylerinin önemli ölçüde başarılı olması, elde edilen sonuçların bundan sonraki karpuz ve diğer kabakgil çalışmalarında referans olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

Sürgün ucu kültürlerinin başlatılması için yapılan deneyler sonucunda, beş günlük in vitro fidelerin, 2-3 cm uzunluğundaki tarladaki bitkilerin apikal uçları ve beş günlük in vitro kotiledonlardan, karpuz tipine bağlı olarak yaklaşık 2-3 kat verimli oldukları görülmüş ve mikroçoğaltım için en uygun eksplant tipi olduğu tespit edilmiştir.

Diyarbakır karpuz tiplerinin beş günlük in vitro fidelerinden, üç haftalık kültür sonucu sürgün uçları elde edilmiştir. Sürgün proliferasyonu için test edilen sitokininler (BA, Kin) içerisinde ‘Sürme’ için  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$ , ‘Karakış’ ve ‘Beyazkış’ için  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BA destekli,  $7 \text{ g l}^{-1}$  agar ve  $30 \text{ g l}^{-1}$  sakkaroz içeren, 1:1 konsantrasyonunda MS besi ortamının en iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir. Eksplant başına elde ettiğimiz sürgün sayısının, dünyanın birçok yerinde yapılmış karpuzdaki mikroçoğaltım çalışmalarına göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Sürgün proliferasyonunu iyileştirme çalışmalarında, tespit edilen en iyi sitokinin konsantrasyonuna her üç karpuz tipi için oksinlerin (IBA, IAA, NAA) etkisi test edilmiş ancak sürgün sayısında önemli bir artış gözlenmemiştir. Proliferasyon ortamına IBA eklendiğinde sürgün sayısında bir artış gözlenmemekle beraber, sürgün uzunluklarında çok önemli artışlar kaydedilmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak mikroçoğaltım çalışmalarında önemli bir sorun olarak görülen rozet bitki oluşumunu engellemek için BA+IBA içeren besiyeri kullanılmıştır. Rozet bitki

oluşumunun hem sürgün rejenerasyonu aşamasında, hem de rozet oluştuktan sonra, IBA ile köklenme aşamasında sürgün uzaması sağlanarak büyük ölçüde önüne geçilmiştir.

Ekonomik olarak en fazla öneme sahip olan ‘Sürme’ tipinde ayrıca beş farklı aminoasit (lösin, metiyonin, triptofan, valin, alanin) ve üç farklı poliaminin (spermin, spermidin, putresin) sürgün proliferasyonuna etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda ‘Sürme’de 100 µM metiyonin ve 50 µM spermini birlikte içeren besi ortamının sürgün veriminde yaklaşık % 100 oranında bir artış meydana getirdiği görülmüştür. Yapılan literatür çalışmalarında karpuz ile ilgili buna benzer bir sonucun görülmemesi deney sonuçlarının ileride yapılacak benzer çalışmalara kaynak olabileceğini göstermektedir.

İn vitro elde edilen tohum kökenli sürgünlerin köklendirilme çalışmalarında test edilen oksinler (IBA, IAA ve NAA) içerisinde en iyi köklenme her üç karpuz tipinde de 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA içeren MS besiyeri olduğu tespit edilmiştir. 1.0 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA içeren ortamdaki sürgünlerden, ‘Beyazkış’ta % 76, ‘Karakış’ta % 91 ve ‘Sürme’de % 95 oranında köklenme elde edilmiştir. Elde edilen köklenme oranları ‘Karakış’ ve ‘Sürme’de önemli bir başarı yakalandığını göstermektedir. İn vitro köklendirilen sürgünler tarlaya başarılı bir şekilde aktarılmıştır (‘Beyazkış’ %76, ‘Karakış’ %79 ve ‘Sürme’ %89). Her üç karpuz tipinin bitki büyüme düzenleyicilerine verdiği cevabın, birbirine yakın olması, uzun yıllardır lokal bir bölgede üretimi yapılan karpuzların genotipik yakınlıklarından kaynaklanabilir. Mikroçoğaltılmış bitkilerden ve direkt tohumdan elde edilmiş karpuzlar ürün verimi ve şeker içeriği yönünden mukayese edilmiş ancak önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. Bu sonuç bize Diyarbakır karpuz tiplerinin ticari olarak mikroçoğaltılmasında herhangi bir sakıncanın olmayacağını göstermektedir.

Dünya karpuz üretiminde Çin’den sonra ikinci sırada bulunan Türkiye’de ne yazık ki çekirdeksiz karpuz üretimi ile ilgili herhangi bir çalışma rapor edilmemiştir. Yaptığımız çalışmada çekirdeksiz karpuz üretimi için ebeveyn olarak kullanılan tetraploid hatların geliştirilmesi için hem in vivo hem de in vitro yöntemler denenmiştir. Karpuz bitkilerindeki ploidi seviyesini belirlemek için, dünyada kabul görmüş ve birçok çalışmada ana yöntem olarak kullanılan, stoma bekçi hücrelerindeki kloroplastların sayılması ve taze yaprakta toplam DNA miktarının

spektrofotometrik olarak tespit edilmesi çalışmaları yapılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre tetraploid bitki elde etmek için her üç karpuz tipinde de in vitro yöntemlerin daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Tohumun %0.03 kolşisinli MS ortamında çimlenmesiyle tetraploid oluşma oranı Sürme'de %27, Karakış'ta %23.5, Beyazkış'ta ise %16.2 olarak gerçekleşmiştir.

Bu sonuçlar hem bölge hem de ülkemiz için önemli bir gelir kaynağı olan Diyarbakır karpuz tipleri için, in vitro çoğaltım protokolünün geliştirilmesiyle üretilen karpuzlarda herhangi bir kalite kaybının olmadığını göstermiştir. Ayrıca çalışma, ülkemizde eksikliği hissedilen triploid karpuz üretimi için, ebeveyn olarak kullanılan tetraploid karpuz bitkilerinin elde edilmesinin basit yöntemlerle mümkün olduğunu göstermesi bakımından da önemlidir. Elde ettiğimiz sonuçlar yerel karpuz çeşitlerinin ıslahında kullanılabileceği gibi ileride yapılacak benzer in vitro çalışmalara ışık tutacak ve yol gösterici olacaktır.

## 6. KAYNAKLAR

**Ahad, A., Islam ,R., Hossain, M., Khalekuzzaman, M. and Joarder, O.I. (1994)** Plant Regeneration from Immature and Mature Embryo Axes of Watermelon Plant Tissue Cult., 4(1) :39-44.

**Ainsworth, C. and Beynon, J. (1994)** Techniques in Plant Molecular Biology, The Practical Manual. Wye College, University of London, London-UK.

**Alexopoulos, A.A., Kondylis, A., Passam, H.C. (2007)** Fruit Yield and Quality of Watermelon in Relation to Grafting. J Food Agr Environ., 5: 178-179.

**Alper, Y., Adelberg, J.W., Young, R.E. and Rhodes, B.B. (1994a)** Unitized, Non-selective Cutting of In Vitro Watermelon. Amer.Soc.Agric.Eng., 37 (4) : 1331-1336.

**Alper, Y., Young, R.E., Adelberg, J.W. and Rhodes, B.B. (1994b)** Mass Handling Of Watermelon Microcuttings. Amer.Soc.Agric.Eng., 37 (4) : 1337-1343.

**Anonim (2008a)** Türkiye İstatistik Kurumu.  
<http://www.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>.

**Anonim (2008b)** Tarım İl Müdürlüğü Diyarbakır Şubesi.  
<http://www.diyarbakirtarim.gov.tr/dokuman/karpuz/karpuz.htm>.

**Anonymus (2008)** FAO Statistical Database, http: [www.fao.org](http://www.fao.org).

**Anonymus (2005)** USDA National Nutrient Database for Standart Reference

**Babaoğlu S., Gürel E., Özcan S. (2002)** Doku Kültürü: Temel Laboratuar Teknikleri: Bitki Biyoteknolojisi-I, Doku Kültürü ve Uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya.

**Beşirli, G. (1991)** Diyarbakır Karpuzu Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Güneydoğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın No:2, Diyarbakır.

**Bisognin, D.A. (2002)** Origin and Evolution of Cultivated Cucurbits. *Ciência Rural*, Santa Maria. 32 (5): 715-723.

**Chaturvedi, R. and Bhatnagar, S.P. (2001)** High-Frequency Shoot Regeneration from Cotyledon Explants of Watermelon cv. Sugar Baby. *In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant.*, 37(2): 255-258.

**Cho, M.A., Moon, C.-Y., Liu, J.-R. and Choi, P.-S. (2008)** *Agrobacterium*-Mediated Transformation in *Citrullus lanatus* *Biologia Plantarum*, 52 (2): 365-369

**Compton, M.E. (1999)** Dark Pretreatment Improves Adventitious Shoot Organogenesis from Cotyledons of Diploid Watermelon. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 58: 185–188.

**Compton, M.E. (2000)** Interaction between Explant Size and Cultivar Impacts Shoot Organogenic Competence of Watermelon Cotyledons. *HorstScience*, 35:749-750.

**Compton, M.E. and Gray, D.J. (1993b).** Somatic Embryogenesis And Plant Regeneration from Immature Cotyledons of Watermelon. *Plant Cell Rep.*, 12:61-65.

**Compton, M.E. and Gray, D.J. (1999)** Shoot Organogenesis from Watermelon Cotyledon Explants. in: Trigiano RN and Gray DJ (eds) *Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercise*. 2nd edn (pp. 149-158). CRC Pres. Boca Raton, FL.

**Compton, M.E., Gray, D.J. (1992)** Micropropagation as a Means of Rapidly Propagating Triploid and Tetraploid Watermelon. Proc.Fla.State Hort.Soc., 105:352-354.

**Compton, M.E., Gray, D.J. (1993a)** Shoot Organogenesis and Plant Regeneration from Cotyledons of Diploid, Triploid and Tetraploid Watermelon. J.Amer.Soc.Hort.Sci., 118(1):151-157.

**Compton, M.E., Gray, D.J. (1994)** Adventitious Shoot Organogenesis and Plant Regeneration from Cotyledons of Tetraploid Watermelon. HortScience, 29(3):211-213.

**Compton, M.E., Gray, D.J., Elmstrom G.W. (1993b)** A Simple Protocol for Micropropagating Diploid and Tetraploid Watermelon Using Shoot-tip Explants. Plant Cell Tiss. Org. Cult., 33:211–217.

**Compton, M.E., Gray, D.J., Elmstrom G.W. (1996)** Identification of Tetraploid Regenerants from Cotyledons of Diploid Watermelon Cultured In vitro.Euphytica, 87 (3): 165-172.

**Compton, M.E., Gray, D.J., Gaba, V.P. (2004)** Use of Tissue Culture and Biotechnology for the Genetic Improvement of Watermelon. Plant, Cell, Tissue and Organ Culture, 4644PB: 1-13.

**Compton, ME., Barnett, N. and Gray, DJ. (1999).** Use of Fluorescein Diacetate (FDA) to Determine Ploidy of *In Vitro* Watermelon Shoots. Plant Cell Tiss. Org. Cult., 58: 199-203.

**Compton, ME., Gray, DJ. and Elmstrom, GW. (1994a).** Regeneration of Tetraploid Plants from Cotyledons of Diploid Watermelon. Proc. Fla. State. Hort. Soc., 107: 107-109.

**Compton, ME., Gray, DJ., and Elmstrom, GW. (1996).** Identification of Tetraploid Regenerants from Cotyledons Of Diploid Watermelon Cultured In Vitro. *Euphtica*, 87: 165-172.

**Dabauza, M., et al., (1997).** Plant Regeneration and *Agrobacterium*- Mediated Transformation of Cotyledon Explants of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. *Plant cell Rpts.*,16 (12): 888-892. OCT.

**Decoteau, D.D. (2000)** Vegetable Crops, Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.

**Desamero N.V., Adelberg, J. W., Hale, A. , Young, R. E. and Rhodes, B. (1993)** Nutrient Utilization in Liquid/Membrane System for Watermelon Micropropagation *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 33: 265-271.

**Dong, J.Z. and Jia, S.R.(1991)** High Efficiency Plant Regeneration from Cotyledons of Watermelon (*Citrullus vulgaris* Scrad.) *Plant Cell Reports*, 9: 559-562

**Edwards, A.J., Vinyard, B.T., Wiley, E.R., Brown, E.D., Collins, J.K., P. Perkins-Veazie, Baker, R.A., Clevidence, B.A. (2003)** Consumption of watermelon juice increases plasma concentration of lycopene and  $\beta$ -carotene in humans, *J. Nutr.*, 133 (4) 1043–1050.

**Elmstrom, G.W. (1981)** Sugar Development in 'Sugarlee' and 'Dixielee Two Recently-Released Watermelon Cultivars Compared with 'Charleston Gray'. *Proc. Fla. State Hart. Soc.*, 94:177-179.

**Esquinas-Alcazar, J.T., Gulick, P.J. (1983)** In 'International Board for Plant Genetic Resources, Genetic Resources of Cucurbitaceae.' IBPGR Secreteriat, Rome.

**FAO (2008)** FAO Agricultural Production Statistics Database (FAOSTAT). <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>



**Gargill, S. L., and Rudy, A. (1931)** The Value of Cucurbocitrin in the Treatment of Arterial Hypertension. *Am. J. M. Sci.*, 181: 639.

**Garster, H., (1997)** The Potential Role of Lycopene for Human Health. *J.Am. Coll. Nutr.*, 16: 109-126.

**Gichimu, B. M., Owuor, B.O., Mwai, G. N. and Dida, M. M. (2009)** Morphological Characterization of Some Wild and Cultivated Watermelon (*Citrullus sp.*) Accessions in Kenya. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 4 (2) :10-18.

**Giovannucci, E. (1999)** Tomatoes, Tomato-based Products, Lycopene, and Cancer: Review of the Epidemiologic Literature. *J. Natl. Cancer Inst.*, 91, 317–331.

**Goula, A.M., Adamopoulos, K.G. (2005)** Stability of Lycopene During Spray Drying of Tomato Pulp, *LWT-Food Sci. Technol.* 38 (5) 479–487.

**Gray, D. J. and G. W. Elmstrom (1991)** Novel Process for the Accelerated Production of Triploid Seeds for Seedless Watermelon Cultivars, US Patent No. 5,007,198 .

**Huh, Y. C., Solmaz, I. and Sari, N. (2008).** Morphological Characterization of Korean and Turkish Watermelon Germplasm. 1 Cucurbitaceae 2008, Proceedings of the IXth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae (Pitrat M. ed.), INRA, Avignon (France), May 21st-24th.

**Ibrahim A.I., Nower, A. A., Badr-Elden A. M. and Abd Elaziem T.M. (2009)** High Efficiency Plant Regeneration and Transformation of Watermelon (*Citrullus lanatus* cv. Giza1). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5(5): 689-697.

**Jarret, R.L. and Newman, M. (2000)** Phylogenetic Relationships Among by Species of *Citrullus* and the Placement of *C-rehmii* De Winter as Determined by International Transcribed Spacer (ITS) Sequence Heterogeneity. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 47:215-222.

**Jaskani, M. J., Kwon, S.W., Kim, E.J., Ko, B.R. (2004c).** Polyploidy Affects Fruit Characteristics, Seed Morphology and Germination in Watermelon (*Citrullus lanatus*). *Journal of The Korean Society for Horticultural Science*, 45 (5), 233-237.

**Jaskani, M. J., Kwon, S.W., Dae, H.K. (2005a)** Flow Cytometry of DNA Contents of Colchicine Treated Watermelon As A Ploidy Screening Method At M1 Stage. *Pakistan Journal Of Botany*, 37 (3), 685-696.

**Jaskani, M. J., Kwon, S.W., Koh, G.C., Huh, Y.C., Ko, B.R. (2004a)** Induction and Characterization of Tetraploid Watermelon. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.*, 45, 60-65.

**Jaskani, M. J., Kwon, W. S., Kim, D.H. (2005b).** Comparative Study On Vegetative, Reproductive And Qualitative Traits of Seven Diploid And Tetraploid Watermelon Lines. *Euphytica*, 145 (3) : 259-268.

**Jaskani, M. J., Kwon, W. S., Kim, D.H. and Abbas, H. (2006)** Seed Treatments and Orientation Affects Germination and Seedling Emergence in Tetraploid Watermelon. *Pak. J. Bot.*, 38(1): 89-98.

**Jaskani, M. J., Raza, H., Khan, M. M. and Malik, T.A. (2003)** In Vitro Induction of Polyploids in Watermelon and Estimation Based on DNA Content. *International Journal of Agriculture&Biology*, 5(3):398-302.

**Jaskani, M. J., Raza, H., Khan, M. M., Kwon, S. W. (2004d)** Effect of Antimitotic Agent Colchicine on *In Vitro* Regeneration of Watermelon. *J. Plant Biotechnology*, 6(4), 247-252.

**Karchi, Z., Govers, A., Nerson, H. (1981)** “Alena” Watermelon, Hort.Science, 16 (4), 573.

**Karchi, Z., Nerson, H., Paris, H.S., Edelstein, M., Govers, A. (1983).** The Importance of Cultural Practices in Materializing Yield Potential in a Tetraploid Watermelon Cultivar. Cucurbit Genetics Cooperative, 6, 59-61.

**Katherine, L.S.V., Edgar, C. C., Jerry, W. K., R., Luke, H., Julie, C. D. (2008)** Extraction Conditions Affecting Supercritical Fluid Extraction (SFE) of Lycopene from Watermelon. Bior. Tech., 99 (16) : 7835-7841.

**Kihara, H. (1951)** Triploid Watermelons. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 58: 217–230.

**Kim, J. Y.; Yi, Y. K.; Song, Y. H. (1998)** Plant Diseases on Green-house Crops in Kyeongbuk areas. Korean J. Plant Pathol., 14:41-45.

**Koh, G.C. (2002)** Tetraploid Production of Moodeungsan Watermelon. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 43 (6): 671-676.

**Koh, Gab-Cheon (2004)** Characteristics of Triploid Seedless 'Mudeungsan' Watermelon (*Citrullus vulgaris*) Compared to Its Diploid and Tetraploid Counterparts. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 45 :6 293-298.

**Krug, M.G.Z., Stipp, L.C.L. and Rodriguez, A.P.M. (2005)** In vitro Organogenesis in Watermelon Cotyledons. Pesq. agropec. bras., Brasília, 40(9) :861-865.

**Lee, S.J., Shin, J.S., Park, K.W., Hong, Y.P. (1996)** Detection of Genetic Diversity using RAPD-PCR and Sugar Analysis in Watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf.] Germplasm Theor. Appl. Genet., 92:719 725.

**Lizhi, L., Yi, H., Kunguang, L. (2002)** Chemical Induction of Mutation in Yellow Peel Watermelon and its Application in Tetraploid Watermelon Breeding China Vegetables, 3:1-5.

**Lower, R.L., Johnson, K.W. (1969).** Observation on Sterility of Induce Autotetraploid Watermelon. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 94(4), 367-369.

**Lucier, G., and Lin, B.H. (2001)** Factors Affecting Watermelon Consumption in The United States. In: Anonymous (Eds) Vegetables And Specialties: Situation And Outlook, VGS-287 (pp 23-29). USDAERS.

**Maroto, J.V., Miguel, A., Galarza, S.L., San Bautista, A., Pascual, B., Alagarda, J., Guardiola, J.L. (2005)** Parthenocarpic Fruit Set in Triploid Watermelon Induced by CPPU and 2,4-D Applications 45: 209-213.

**Mohr, H.C. (1986)** Watermelon Breeding. In: Breeding Vegetable Crops (Ed. M.J. Basset), Avi. Publ. Comp., Inc., Westport, Connecticut, 37-66.

**Murashige, T. and Skoog, F. (1962)** A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay with tobacco Tissue Cultures. Physiologia Plantarum, 15. 473-497.

**NeSmith, D.S. (1999)** Root Distribution and Yield of Direct Seeded and Transplanted Watermelon. J. Am. Soc. Hort. Sci., 124: 458–461.

**Ntui, V. O., Thirukkumaran, G., Iioka, S. and Mii, M. (2009)** Efficient Plant Regeneration via Organogenesis in “Egusi” Melon (*Colocynthis citrullus* L.) Scientia Horticulturae ,119(4) :397-402.

**Omran, S.A., Guerra-Sanz, J.M., and Garrido Cárdenas, J.A. (2008)** Methodology of Tetraploid Induction and Expression of Microsatellite Alleles in Triploid Watermelon Cucurbitaceae 2008, Proceedings of the IXth EUCARPIA

Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae (Pitrat M, ed), INRA, Avignon (France), May 21-24th.

**Pirinç, V. (2004)** Diyarbakır Karpuzunun (*Citrullus lanatus* cv. "Sürme") Mikroçoğaltılması, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD, 141 Sayfa.

**Pirinç, V. ve Onay, A. (2008)** Diyarbakır Karpuzunun (Sürme) *In vitro* Rejenerasyonunda Eksplantın Sürgün Proliferasyonuna Etkisi. HR.Ü.Z.F. Dergisi, 12 (1): 57-61.

**Pirinç, V., Onay, A., Yıldırım, H., Adıyaman, F., Işıksalan, Ç. and Başaran, D. (2003)** Adventitious Shoot Organogenesis and Plant Regeneration from Cotyledons of Diploid Diyarbakır Watermelon (*Citrullus lanatus* cv. "Sürme"). Turkish Journal of Biology, 27(2): 101-107.

**Quek, S. Y., Chok, N.K., Swedlund, P. (2007)** The Physicochemical Properties of Spray-dried Watermelon Powders Chemical Engineering and Processing, 46 386–392

**Raza, H., Jaskani, M. J., M. Khan, M. and Malik T. A. (2003)** In Vitro Induction of Polyploids in Watermelon and Estimation Based on DNA Content. International Journal of Agriculture & Biology, 5 (3): 298–302.

**Robertson H. (2004)** *Citrullus lanatus* (Watermelon, Tsamma). Museums Online South Africa. Iziko Museums of Cape Town Online Publication: <http://museums.org.za/bio/index.htm>.

**Robinson R.W. and Decker-Walters, D.S. (1997)** Cucurbits. Cab International, Wallingford, UK. p 225.

**Sarı, N., Abak, K., Pitrat, M., (1999)** Comparison of Ploidy Level Screening Methods in Watermelon: *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. and Nakai. *Scientia Horticulturae*, 82, 265-277.

**Sarı, N., Solmaz, I., Yetisir, H., Unlu, H. (2007)** Watermelon Genetic Resources in Turkey and their characteristics. *Acta Horti*, 731:33–438.

**Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E. (2000).** Tohumlu Bitkiler Sistematigi. Ders Kitabı. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No: 116, 211-212.

**Shalaby, T.A., Omran, S.A. and Baioumi, Y.A. (2008)** In vitro Propagation of Two Triploid Hybrids of Watermelon Through Adventitious Shoot Organogenesis and Shoot Tip Culture. *Acta Biologica Szegediensis*, 52(1):27-31.

**Srivastava, D.R., Andrianov, V.M., Piruzian, E.S. (1989)** Tissue Culture and Plant Regeneration of Watermelon (*Citrullus vulgaris* Schrad. cv. Melitopolski). *Plant Cell Rep.*, 8: 300–302.

**Sugiyama, K. and Morishita, M., (2000)** Fruit and Seed Characteristics of Diploid Seedless Watermelon (*Citrullus lanatus*) Cultivars Produced by Soft -X- irradiated Polen. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. Vol. 69. No. 6. p. 684-689. November

**Sultana, R.S., Bari, M.A. (2003)** Effect of Different Plant Growth Regulators on Direct Regeneration of Watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) *Plant Tissue Cult.*, 13(2) :173-177.

**Sultana, R.S., Bari, M.A. Rahman, M.H., Rahman, M.M., Siddique, N.A. and Khatun, N. (2004)** In vitro Rapid Regeneration of Plantlets from Leaf Explant of Watermelon. *Biotechnology*, 3 (2) :131-135.

**Suratman, F., Huyop, F. and Paveez, G.K.A. (2009)** In vitro Shoot Regeneration of *Citrullus vulgaris* Schrad (Watermelon). *Biotechnology*, 8 (4) : 393-404.

**Şalk, A., Arın, L., Devenci, M., Polat, S. (2008)** Özel Sebzeçilik. Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yay.Tekirdağ

**Taşkaya, B. ve Keskin, G. (2004)** Kavun-Karpuz.Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü-Bakış Sayı:6 <http://www.aeri.org.tr/PDF/Bks-6-9.pdf>

**Tilkat, E. (2006)** Erkek Antepfıstığı (*Pistacia vera* L. cv. "Atlı") Ağaçlarının In Vitro Mikroçoğaltılması. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD, 142 Sayfa.

**Xu, D.N. (2007)** Study on Polyploid Induction Methods of Watermelon Seedling. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 7: 28-40

**Vasudevan, A., Selvaraj, N., Ganapathi, A., Kasthuriengan, S., Ramesh, A.V., Manickavasagam, M., Choi, C.W. (2008)** Leucine and Spermidine Enhance Shoot Differentiation in Cucumber (*Cucumis sativus* L.). *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant*, 44:300–306.

**Vasudevan, A., Selvaraj, N., Ganapathi, A., Kasthuriengan, S., Ramesh, A.V., Manickavasagam, M. (2006)** Glutamine: A Suitable Nitrogen Source for Enhanced Shoot Multiplication in *Cucumis sativus* L. *Biologia Plantarum*,48 (1) . 128-128

**Yaltrık, F. ve Efe, A., (1989)** Otsu Bitkiler Sistematığı. Ders Kitabı. İstanbul Üniversitesi Yayın No: 3568, 427.

**Yativ, M., Harary, I. and Wolf, S. (2009)** Sucrose Accumulation in Watermelon Fruits: Genetic Variation and Biochemical Analysis. *Journal of Plant Physiology*,. [doi:10.1016/j.jplph.2009.11.009](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.11.009)

**Ying, Z. Rumei, L.I. Aimin, Zhang, Y., Jianbo, Q.I. (2009)** Preliminary Study on the Inducement of Tetraploid Quality Small Watermelon Using Colchicine to Soak Root. *Journal of Changjiang Vegetable*, 8: 651

**Zhang, X.P., Rhodes, B.B. and Adelberg, J.W. (1994a)** Shoot Regeneration from Immature Cotyledons of Watermelon. *Cucurbit Genet. Coop. Rep.*, 17: 111-115.

**Zhang, Q.M., Zhang, M.F. (2004)** Enhancement of Plantlet Regenerative Efficiency of Watermelon in vitro. *Acta Biologiae Experimentalis Sinica*, 37(6):437-442.



<b>7. TABLO LİSTESİ</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1.</b> Dünya karpuz üretiminin yıllara ve ülkelere göre dağılımı (ton)	2
<b>Tablo 2.</b> Türkiye ve Diyarbakır'da karpuz üretiminin yıllara göre dağılımı (ton) ve Diyarbakır'ın toplam üretimdeki payı	2
<b>Tablo 3.</b> Karpuzun bir porsiyonunun içerdiği besin, mineral ve vitamin değerleri	7
<b>Tablo 4.</b> Standart Murashige ve Skoog Besi Ortam İçeriği ( $g l^{-1}$ )	31
<b>Tablo 5.</b> Karpuz tohumlarının sterilizasyonuna farklı NaOCl konsantrasyonlarının etkisi	47
<b>Tablo 6.</b> Karpuz tohumlarının sterilizasyonuna % 4'lük NaOCl'de bekletme sürelerinin etkisi	48
<b>Tablo 7.</b> Apikal uçların sterilizasyonuna NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi	49
<b>Tablo 8.</b> Apikal uçların sterilizasyonuna % 2'lik NaOCl'de bekletme sürelerinin etkisi	50
<b>Tablo 9.</b> Karpuz tohumlarının çimlenmesi ve fidelerin gelişmesine BBD'lerin etkisi	53
<b>Tablo 10.</b> Kültür başlatılmasına farklı eksplant tiplerinin etkisi	55
<b>Tablo 11.</b> İn vitro fidelerden kültür başlatılmasına sitokininlerin etkisi	56
<b>Tablo 12.</b> İn vitro fide yaşının kültür başlatılmasına etkisi	57
<b>Tablo 13.</b> Kültür başlatılmasına MS besi ortam konsantrasyonunun etkisi	58
<b>Tablo 14</b> Kültür başlatılmasına karbon kaynağı çeşitlerinin etkisi	60
<b>Tablo 15.</b> Kültür başlatılmasına sakaroz konsantrasyonunun etkisi	61
<b>Tablo 16.</b> Tohum kökenli sürgünlerin proliferasyonuna BA'nın farklı konsantrasyonlarının etkisi	65
<b>Tablo 17.</b> Tohum kökenli sürgünlerin proliferasyonuna kinetinin farklı konsantrasyonlarının etkisi	67
<b>Tablo 18.</b> Tohum kökenli sürgünlerin proliferasyonuna BA+oksin karışımlarının etkisi	68
<b>Tablo 19.</b> BA ve BA+IBA ortamlarında, alt kültür sayısının, sürgün proliferasyonuna ve rozet sürgün oluşumuna etkisi	70
<b>Tablo 20.</b> Sürme'de tohum kökenli sürgünlerin proliferasyonuna $0.5 \text{ mg l}^{-1}$ BA+farklı aminoasit karışımlarının etkisi	72
<b>Tablo 21</b> Sürme'de tohum kökenli sürgünlerin proliferasyonuna $0.5 \text{ mg l}^{-1}$ BA + $100 \mu\text{M}$ metiyonin+farklı poliamin karışımlarının etkisi	73
<b>Tablo 22.</b> Tohum kökenli sürgünlerin köklenmesine IBA'nın farklı konsantrasyonlarının etkisi	78
<b>Tablo. 23.</b> Tohum kökenli sürgünlerin köklenmesine IAA'nın farklı konsantrasyonl. etkisi	80

<b>Tablo 24.</b> Tohum kökenli sürgünlerin köklenmesine NAA'nın farklı konsantrasyonlarının etkisi	82
<b>Tablo 25.</b> İn vitro elde edilmiş karpuz fidelerinin aklimatizasyonuna farklı oksin tiplerinin etkisi	87
<b>Tablo 26.</b> Mikroçoğaltılmış ve tohumdan elde edilmiş bitkilerin boy uzunluğu ve boğum sayısı bakımından karşılaştırılması	89
<b>Tablo 27.</b> Mikroçoğaltılmış ve tohumdan elde edilmiş karpuzların ürün verimi yönünden karşılaştırılmaları	90
<b>Tablo 28.</b> Mikroçoğaltılmış ve tohumdan elde edilmiş karpuzların şeker içeriği yönünden karşılaştırılmaları	91
<b>Tablo 29.</b> İn vivo koşullarda farklı süre ve kolşisin dozlarının tetraploid oluşumuna etkisi	93
<b>Tablo 30.</b> İn vitro koşullarda farklı süre ve kolşisin dozlarının tetraploid oluşumuna etkisi	94
<b>Tablo 31.</b> İn vivo ve in vitro koşullarda oluşturulmuş diploid ve tetraploid bitkilerin ploidi seviyesinin belirlenmesi	97

<b>8. RESİM LİSTESİ</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Resim 1.</b> Diyarbakır karpuz festivalinden bir görüntü	8
<b>Resim 2. a.</b> Sürme; <b>b.</b> Beyazkış; <b>c.</b> Karakış meyveleri	27
<b>Resim 3.</b> Hormonsuz ortamda kültüre alınmış Beyazkış tohumları	45
<b>Resim 4.</b> Sürme'de <b>a.</b> Tarladan alınan apikal uç; <b>b.</b> İn vitro fide; <b>c.</b> Kotiledonda kültür başlatılması	53
<b>Resim 5.</b> Karakış'ta in vitro fidelerden BA içeren besiyerinde kültür başlatılması	55
<b>Resim 6.</b> Sürme'de tohum kökenli sürgünlerin 0.5 mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> BA ortamında proliferasyonu	62
<b>Resim 7.</b> Karakışta BA içeren MS besiyerinde tohum kökenli sürgünlerin proliferasyonundan genel görünüm	64
<b>Resim 8.</b> Sürme'de tohum kökenli sürgünlerden alt kültürler sonucu oluşan rozet sürgünler	68
<b>Resim 9.</b> Karakış'ta tohum kökenli sürgünlerin 1.0 mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> IBA ortamında köklenmesi	75
<b>Resim 10.</b> Sürme'de tohum kökenli sürgünlerin 1.0 mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> IBA ortamında köklenmesinden genel görünüm	77
<b>Resim 11.</b> Karakış'ta tohum kökenli sürgünlerin 1.0 mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> IAA ortamında köklenmesi	77
<b>Resim 12.</b> Karakış'ta tohum kökenli sürgünlerin 0.5 mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> NAA ortamında köklenmesi	79
<b>Resim 13.</b> Sürme'de tohum kökenli sürgünlerin farklı oksin ortamlarında köklenmesi	81
<b>Resim 14.</b> Rozet sürgünlerin 1.0 mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> IBA ortamında boyunun uzaması	83
<b>Resim 15.</b> İn vitro karpuz fidelerinin aklimitezasyon aşamaları	84
<b>Resim 16.</b> Sürme'de tetraploid bitki yapraklarında stomaların genel görünümü	93
<b>Resim 17.</b> Sürme'de diploid bitki yapraklarında stomaların genel görünümü	94
<b>Resim 18.</b> Sürme'de tetraploid bitki yapraklarında kloroplastların stomadaki görünümü	94
<b>Resim 19.</b> Sürme'de diploid bitki yapraklarında kloroplastların stomadaki görünümü	94
<b>Resim 20.</b> Sürme'de <b>a.</b> Tetraploid; <b>b.</b> Diploid yaprak ve çiçekleri	95

## ÖZGEÇMİŞ

1976'da Diyarbakır'da doğdum. İlköğrenimimi Diyarbakır Merkez Yeni İlk Okulunda, orta öğrenimimi İstanbul Bakırköy Yahya Kemal BEYATLI Lisesinde tamamladım. 1997'de girdiğim ÖYS sonucu Akdeniz Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandım. Burada bir yıl okuduktan sonra Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne yatay geçişle kayıt oldum. Bu fakülteden 2001 yılında birincilik derecesi ile mezun oldum. 2004'te aynı üniversitenin Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, yüksek lisans programından mezun oldum. 2001'de ÖSYM tarafından yapılan memur alımı sınavında (KMS) öğretmenlik alanında tüm branşlarda Türkiye 105.si oldum ve Milli Eğitim Bakanlığına bağlı olarak Diyarbakır'a Biyoloji Öğretmeni olarak atandım. 2008 yılında Anadolu ve Fen Liselerine Öğretmen Seçimi Sınavında Biyoloji alanında Türkiye 2. olarak Anadolu Lisesi Öğretmenliğine atandım. 2009 yılında Siirt Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım. Halen aynı kurumda çalışmaktayım. Evli ve iki çocuk babasıyım.