

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**KABAKTA (*Cucurbita pepo* L.) *İN VİTRO* BİTKİ
REJENERASYON PROTOKOLÜNÜN OPTİMİZASYONU**

**Hazırlayan
Ahmet SAY**

**Danışman
Yrd. Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN**

Yüksek Lisans Tezi

**Mayıs 2017
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**KABAKTA (*Cucurbita pepo L.*) İN *VİTRO* BİTKİ
REJENERASYON PROTOKOLÜNÜN OPTİMİZASYONU**

**Hazırlayan
Ahmet SAY**

**Danışman
Yrd. Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN**

Yüksek Lisans Tezi

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından FYL-2014-4958 kodlu projesiyle desteklenmiştir**

**Mayıs 2017
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Ahmet SAY

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

Kabakta (*Cucurbita pepo* L.) *İn Vitro* Bitki Rejenerasyon Protokolünün Optimizasyonu adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi 'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Ahmet SAY

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN

Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

Bahçe Bitkileri Bölümü ABD Başkanı

Yrd. Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN danışmanlığında **Ahmet SAY** tarafından hazırlanan “**Kabakta (*Cucurbita pepo L.*) *İn Vitro* Bitki Rejenerasyon Protokolünün Optimizasyonu**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

.../.../2017

JÜRİ:

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN

Üye : Prof. Dr. Halit YETİŞİR

Üye : Prof. Dr. Ş. Şebnem ELLİALTIOĞLU

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... / /

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanmasında, yürütülmesinde ve sonuçlandırılmasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirmeleri ile çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren, bu yolda bilgisini ve insan yetiştirmedeki sabrını örnek aldığım çok değerli tez hocam Yrd. Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın laboratuvar ve yazım aşamasında yardımlarını, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Halit YETİŞİR ve Doç. Dr. Satı UZUN'a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca her zaman yanımda olup destekleyen ve bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasına maddi destek veren Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: FYL-2014-4958) ve çalışmamın laboratuvar kısmının yapılmasında tüm imkânlarını sunan Erciyes Üniversitesi Betül-Ziya EREN Genom ve Kök Hücre Merkezi yönetimine teşekkür ederim.

Ahmet SAY

Kayseri, Mayıs 2017

KABAKTA (*Cucurbita pepo* L.) İN VİTRO BİTKİ REJENERASYON PROTOKOLÜNÜN OPTİMİZASYONU

Ahmet SAY

**Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Mayıs 2017
Danışmanlar: Yrd. Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN**

ÖZET

Bu çalışmada çekirdeklik kabakta (*Cucurbita pepo* L.) organogenesiz yoluyla *in vitro* bitki rejenerasyon protokolü çalışılmış, uygun eksplant tipi ve ortamı belirlenmiştir. Tek hücreden rejenerasyon özellikle gen transformasyonu ile bitki ıslahı çalışmaları açısından önemlidir. Bitki materyali olarak Kayseri ve çevresinde yaygın tarımı yapılan yerel kabak popülasyonu kullanılmıştır. Tohum kabuğu soyulup %1 NaClO (sodyum hipoklorit) içerisinde sterilize edilmiş ve 30 g/l sukroz ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan MS ortamında çimlendirilmiştir. Çimlenen *in vitro* fidelerden alınan dokular BAP, BAP+NAA, BAP+IAA, BAP+TDZ, TDZ, TDZ+IAA ve TDZ+NAA'nın farklı dozları kullanıldığı MS ortamında 25°C'de 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyotunda kültüre alınmıştır. Bir ay sonunda kotiledonunun proksimal, distal ve orta kısmı ile hipokotil bölgelerinden elde edilen eksplantlarda sadece irileşme ve kallus oluşumu gözlenmiş, "Flamingo gagası tipi" (kotiledonun proximal kısmı bulunan hipokotil) eksplantlarda ise sürgün oluşumu gözlenmiştir. En yüksek eksplant yüzdesi %70,83 ile 0,5 mg/l BAP ve 0,25 mg/l NAA'nın birlikte kullanıldığı besin ortamından elde edilmiştir. Sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı ise en fazla 5,33 adet ile 1,0 mg/l BAP ile 0,5 mg/l IAA içeren besin ortamında tespit edilmiştir. Diğer birçok kombinasyonun da Flamingo gagası tipi eksplantlarda rejenerasyonu tetiklediği görülmüştür. Rejenerasyon sonucu elde edilen bitkiler MS besin ortamında başarı ile köklendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Cucurbitaceae, Kayseri, çerezlik kabak, mikro çoğaltım

OPTIMIZATION OF *IN VITRO* PLANT REGENERATION PROTOCOL IN PUMPKIN SEED PLANTS (*Cucurbita pepo* L.)

Ahmet SAY

Erciyes University, Institute of Natural and Applied Sciences

Master's Thesis, May 2017

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Kahraman GÜRCAN

ABSTRACT

In this thesis, *in vitro* plant regeneration protocol was studied in pumpkin seed (*Cucurbita pepo* L.) plants and proper explant type and medium was determined. Regeneration from a single cell is a quite significant issue in plant breeding studies for gene transformation. Local pumpkin population commonly grown in Kayseri and surrounding provinces was used as the plant material. Seeds were peeled and sterilized in 1% NaClO (sodium hypochlorite) and germinated in MS medium containing 3% sucrose and 0.75% agar. The tissue samples taken from germinated *in vitro* seedlings were cultured in MS media with different doses of BAP, BAP+NAA, BAP+IAA, BAP+TDZ, TDZ, TDZ+IAA and TDZ+NAA at 25°C and 16/8 h light/dark photoperiod. At the end of the first month, enlarging and callus formation was observed only in explants obtained from proximal, distal, mid-sections and hypocotyl section of cotyledon. Successful shoot formation was accomplished in “Flamingo Beak- Type” (hypocotyl with proximal section of cotyledon) explants. The highest explant ratio (70.83%) was recorded in the growth medium containing 0.5 mg/l BAP and 0.25 mg/l NAA. The highest number of shoots per explant (5.33) was obtained from the growth medium containing 1 mg/l BAP and 0.5 mg/l IAA. Various other combinations also induced regeneration in flamingo beak-type tissues. Regenerated plants were successfully rooted in MS growth medium.

Key Words: Cucurbitaceae, Kayseri, pumpkin seed, mikro propagation

İÇİNDEKİLER

KABAKTA (*Cucurbita pepo* L.) İN VITRO BİTKİ REJENERASYON PROTOKOLÜNÜN OPTİMİZASYONU

Sayfa

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	ii
KABUL ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR ve SİMGELER	x
TABLolar LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiv
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Kabak Hakkında Genel Bilgiler	5
1.1.1. Kabağın Bilimsel Sınıflandırması	5
1.1.2. Kabağın Orijini ve Tarihçesi	7
1.1.3. Kabağın Besin Değeri	8
1.1.4. Dünya’da ve Türkiye’de Kabağın Önemi	9
1.2. Literatür Çalışması	16

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal.....	23
2.2. Yöntem.....	24
2.2.1. <i>İn Vitro</i> Çalışmalarında İzlenen Yöntem	24
2.2.1.1. Tohumların Yüzey Dezenfeksiyonu	24
2.2.1.2. Besin Ortamı ve Bitki Büyüme Düzenleyicilerin Hazırlanması ve Sterilizasyonu	25
2.2.1.3. Çimlendirilme Çalışmaları.....	26
2.2.1.4. Eksplant Tipleri.....	27
2.2.1.5. Eksplantların Rejenerasyon Ortamına Yerleştirilmesi.....	29
2.2.1.6. Ortamların Bileşimi	30
2.2.1.7. <i>İn vitro</i> Sürgünlerin Mikro Çoğaltım Çalışmaları	30
2.2.1.8. <i>İn vitro</i> Sürgünlerin Köklendirilmesi Çalışmaları	31
2.2.1.9. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi:	31

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Tohumların Yüzey Dezenfeksiyonu Çalışmaları	32
3.2. Çimlendirilme Çalışmaları	32
3.3. Rejenerasyon Denemeleri Bulguları	35
3.3.1. Rejenerasyonda Eksplant Tiplerinin Etkisi	35
3.3.2. Rejenerasyonda Ortam Bileşiminin Etkisi	36
3.3.2.1. Farklı BAP, BAP+NAA ve BAP+IAA Konsantrasyonları ve Kombinasyonları İçeren MS Ortamlarının Sürgün Rejenerasyonuna Etkisi.....	37

3.3.2.2. Farklı BAP ve BAP+TDZ Konsantrasyonları ve Kombinasyonları İçeren MS Ortamlarının Sürgün Rejenerasyonuna Etkisi.....	40
3.3.2.3. Farklı IAA+BAP ve IAA+TDZ Konsantrasyonları ve Kombinasyonları İçeren MS Ortamlarının Sürgün Rejenerasyonuna Etkisi.....	42
3.3.2.4. Farklı TDZ, TDZ+IAA ve TDZ+NAA Konsantrasyonları ve Kombinasyonları İçeren MS Ortamlarının Sürgün Rejenerasyonuna Etkisi.....	45
3.4. <i>İn vitro</i> Sürgünlerin Mikro Çoğaltım Çalışmaları.....	49
3.5. <i>İn vitro</i> Sürgünlerin Köklendirilmesi Çalışmaları.....	51

4. BÖLÜM

TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ.....	65

KISALTMALAR ve SİMGELER

<u>Sembol</u>	<u>Anlamı</u>
%	Yüzde
°C	Santigrad Derece
2,4,5-T	2, 4,5-Trichlorophenoxyacetic Acid
2,4-D	2, 4 dichlorophenoxyacetic acid
AgNO ₃	Gümüş Nitrat
BA	Benziladenin
BAP	6-Benzylaminopurine
da	Dekar
g,	Gram,
mg	Miligram
GA	Gibberellic Acid
ha	Hektar
HCl	Hidroklorik asit
HgCl ₂	Cıva (II) Klorür
IAA	İndole-3-Acetic Acid
IBA	İndol Butirik Asit
İP	İzopentelin Adenin
l	Litre,
ml	mililitre
µl	mikrolitre
MS	Murashige and Skoog
NAA	β-Naphthyleneacetic Acid
NaOH	Sodyum hidroksit
t	Ton
TDZ	Thidiazuron
µM	Mikro Molar

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.	Kuruyemiş sektörü iç pazar büyüklüğü	3
Tablo 1.1.	Cucurbita cinsi içerisinde giren önemli türlerin tanımlama anahtarı.....	7
Tablo 1.2.	Kabak çekirdeği yağında yağ asitleri kompozisyonu (%)	9
Tablo 1.3.	Dünya’da ve Türkiye’de yıllara göre çerezlik kabak üretim alanı (ha), miktarı (ton) ve verim (ton/da)	12
Tablo 1.4.	Önemli bazı kabak üreticisi ülkelerin yıllara göre üretim miktarları ve alanları	13
Tablo 1.5.	Türkiye’de bölgelere göre çerezlik kabak üretim alan (da) ve miktarı (ton).....	14
Tablo 1.6.	Türkiye’de yıllara ve illere göre çerezlik kabak üretim alan (da) ve miktarı (ton)	15
Tablo 1.7.	Kayseri’de ilçelere göre çerezlik kabak üretim alan (da) ve miktarı (ton) 16	
Tablo 2.1.	Çalışmada kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerin sterilizasyon yöntemi ve kullanılan çözücü	25
Tablo 2.2.	<i>İn vitro</i> rejenerasyon sırasında kullanılan MS ortamı.....	27
Tablo 2.3.	<i>İn vitro</i> rejenerasyon sırasında kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyonları.....	29
Tablo 3.1.	Farklı BAP, NAA ve IAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlara ait varyans analizi	38
Tablo 3.2.	Farklı BAP, NAA ve IAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlar.....	38
Tablo 3.3.	Farklı BAP, NAA ve IAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi.....	39
Tablo 3.4.	Farklı BAP, NAA ve IAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı	39

Tablo 3.5.	Farklı BAP ve BAP+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlara ait varyans analizi	40
Tablo 3.6.	Farklı BAP ve BAP+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlar	41
Tablo 3.7.	Farklı BAP ve BAP+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi.....	41
Tablo 3.8.	Farklı BAP ve BAP+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı	42
Tablo 3.9.	Farklı IAA+BAP ve IAA+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlara ait varyans analizi	43
Tablo 3.10.	Farklı IAA+BAP ve IAA+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlar	43
Tablo 3.11.	Farklı IAA+BAP ve IAA+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi	44
Tablo 3.12.	Farklı IAA+BAP ve IAA+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı	44
Tablo 3.13.	Farklı TDZ, IAA ve NAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlara ait varyans analizi	45
Tablo 3.14.	Farklı TDZ, IAA ve NAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlar	46
Tablo 3.15.	Farklı TDZ, IAA ve NAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi.....	47

Tablo 3.16. Farklı TDZ, IAA ve NAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı	47
---	----

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Kabak yetiştiriciliği yapılan ülkelerin üretim yoğunluğu	9
Şekil 1.2.	Kıtalara göre dünya kabak üretim payı.....	10
Şekil 1.3.	Türkiye’de yıllara göre kabak üretim miktarı.....	11
Şekil 1.4.	1990 ile 2015 yılları arasında Türkiye’de Kırsal nüfus ile Kentsel nüfusun değişimi (%).....	11
Şekil 2.1.	Kabak tohumlarının sterilizasyon aşamaları.....	24
Şekil 2.2.	Kabak tohumlarının kültür ortamına sivri kısım aşağı gelecek şekilde ekimi	27
Şekil 2.3.	Kotiledon ve hipokotil eksplantların hazırlanması	28
Şekil 2.4.	Flamingo gagası tipi eksplantların hazırlanması	28
Şekil 2.5.	Rejenerasyonda eksplant tiplerinin etkisini belirlemek için kotiledon, hipokotil ve Flamingo gagası tipi eksplantların besin ortamına ekilmesi 30	
Şekil 3.1.	Kabak tohumlarında ilk çimlenme gözlemleri.....	33
Şekil 3.2.	2 kat MS, 30 g/l sukroz ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan 2MS besin ortamında çimlenmiş bitkiler	33
Şekil 3.3.	Tam MS, 30 g/l sukroz ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan 1MS besin ortamında çimlenmiş bitkiler	33
Şekil 3.4.	Yarım MS, 30 g/l sukroz ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan ½MS besin ortamında çimlenmiş bitkiler	34
Şekil 3.5.	30 g/l sukroz ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan 0MS besin ortamında çimlenmiş bitkiler	34
Şekil 3.6.	Sukroz içermeyen ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan 0MS besin ortamında çimlendirme	34
Şekil 3.7.	Farklı MS konsantrasyonlarında çimlendirme sonrası morfolojik gözlemler	34
Şekil 3.8.	Farklı MS konsantrasyonlarında çimlendirme karşılaştırmaları.....	36
Şekil 3.9.	Rejenerasyon için uygun eksplant tipinin belirlenmesinde ön çalışma	36

Şekil 3.10.	Rejenerasyon için uygun eksplant tipinin belirlenmesi için ön çalışma a; Kotiledon ve Hipokotil içeren ortamda kallus oluşumu ve irileşme b; Flamingo gagası tipi Eksplant içeren ortamda rejenerasyon.....	37
Şekil 3.11.	Büyüme düzenleyici içeren MS ortamlarında rejenerasyon başlangıcı.....	48
Şekil 3.12.	Rejenerasyon sonucu elde edilen bitkilerin mikro çoğaltımda kullanılması.....	49
Şekil 3.13.	<i>In vitro</i> rejenerasyon sonucu oluşan sürgünlerin mikro çoğaltımı	50
Şekil 3.14.	<i>In vitro</i> sürgünlerin mikro çoğaltım sonrası köklenmeleri	51
Şekil 3.15.	<i>In vitro</i> sürgünlerin mikro çoğaltım sonrası köklendirme çalışması a, b; MS ortamında köklenmenin sağlanması c; 2-3 Alt kültür sonrası bitkilerde çiçeklenme oluşumu.....	52

GİRİŞ

Cucurbitaceae, dünya çapında önemli bir bitki ailesi olup 120'den fazla cinsi içerisinde bulundurmaktadır [1]. Kabaklar (*Cucurbita spp.*) botanik sınıflandırmada Dicotyledoneae sınıfı, Cucurbitales takımı, Cucurbitaceae ailesi içerisinde yer alır. Bu aile içerisinde yer alan türler “Cucurbit”ler olarak sözü edilen tropik kökenli sıcak iklim bitkileridir [2]. Kabakların gen merkezi Amerika kıtası olarak kabul görmekte olup [3], *Cucurbita*'nın tarımı yapılan 5 türünden biri olan *Cucurbita pepo* Kuzey Amerika orjinlidir [4, 5] ve birkaç bin yıldır burada tarımı yapılmaktadır [6]. Kuzey Amerika kıtasında 10.000 yıldır, Avrupa'da da 500 yıldır tarımı yapılmaktadır [7]. *Cucurbita*'nın tarımı yapılan, yenilebilir formları genelde daha büyük, daha az tohum ve meyveli, meyve etinin yapısı acısız ve az lifli, bitki parçaları daha büyük, daha az dayanıklı ve daha fazla renkli kabuklarla yabani kabak formlarından farklıdır [8]. *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae) meyveleri sayısız şekil, boyut ve renk varyasyonuna sahiptir. Yüzlerce ve belki de birkaç bin farklı adlandırılmış çeşidi yetiştirilir. *Cucurbita pepo* L. ssp. *pepo* üyesi olan kabak, meyve şekli açısından çok çeşitlidir. Mevcut çeşitler meyve şekline göre yuvarlak, uzun dikdörtgenimsi, silindirik ve çok uzun tip olmak üzere dört farklı grupta sınıflandırılmıştır [9]. Tüketim bakımından ise çoğunlukla olgun meyveleri için tüketilen kışlık kabaklar ve taze meyveleri tüketilen yazlık kabaklar olmak üzere iki gruba ayrılır [10]. *Cucurbita* cinsi, tropik, subtropik bölgeler başta olmak üzere dünyanın birçok yerinde önemli bir bitkisel besin ürünüdür. Bu sebze grubunun olgunlaşmış meyveleri, yüksek oranda su, karbonhidrat, protein, yağ, lif, mineraller ve vitaminler, özellikle de C ve B vitamini içerir. *Cucurbita* türlerinin tohumlarının çerez olarak ilk kez Amerikalılar tarafından kullanıldığı bildirilmiştir [11, 12, 13]. Bazı özel *Cucurbita* türleri, özellikle Japonya, Kore, Orta Doğu, Akdeniz bölgesi ve Güney Avrupa'da, karpuz ve diğer bazı kabakgil türlerine anaç olarak da kullanılmaktadır [14].

Türkiye’de çekirdek kabağı yetiştiriciliği, Orta Anadolu’nun Doğu kesimleri (Nevşehir, Aksaray ve Kayseri), Ankara’nın Polatlı İlçesi ve Trakya’da yoğunlaşmıştır [15]. Türkiye’de tarımı yapılmakta olan çerezlik kabakların büyük bir çoğunluğu *Cucurbita pepo* L. türüne dahil olmakla birlikte az miktarda da olsa *Cucurbita moschata* türüne giren bal kabağı tohumları da çerez olarak kullanılmaktadır. Çerezlik kabaklar tohum kabuklarının yapısına göre kabuklu tipler ve kabuksuz veya zar gibi kabuklu tipler olarak 2’ye ayrılmaktadır [16, 17]. Ülkemizde kabuklu tohumların üretimi kabuksuz tohumların üretiminden, veriminin daha yüksek olması ve üretimindeki bazı avantajlarından dolayı daha yaygındır. Kabuksuzluğu kontrol eden karakterdeki açılma nedeniyle kabuksuz tohumların meyvelerinde kabuklu tohumlarında ortaya çıktığı görülmektedir. Türkiye’nin farklı bölgelerinde, farklı tipte kabak çekirdeklerine istek olmaktadır. Örneğin; Edirne ve Sakarya yörelerinde yuvarlak ve dolgun tip tohumlar tercih edilirken, İç Anadolu Bölgesi’nde kabak çekirdeği olarak iri ve uzun tip tohumlar, Ege Bölgesi’nde ise çoğunlukla yuvarlakça olan bal kabağı çekirdekleri tercih edilmektedir [16]. Üreticiler tohumluk temininde çerezlik kabak yetiştiriciliğin yoğun olarak yapıldığı yörelerden getirilen popülasyon niteliğinde olan tohumları kullanırken bir kısım üreticiler ise daha homojen ve verimli olduğunu düşündüğü çerezlik kabak tarlalarından topladıkları meyvelerinden tohum almakta ve bunları yetiştiricilikte tohumluk olarak kullanmaktadır. Bundan dolayı elde edilen ürünün kalitesi buna bağlı olarak da pazar değerinde kayıplar yaşanmaktadır. Günümüzde çerezlik kabak yetiştiriciliğinde çeşitlerden ziyade değişik çekirdek tiplerini içerisinde barındıran popülasyon isimleri bulunmaktadır [18]. Yapılan bir çalışmada Kayseri ilinde çerezlik kabak yetiştiricilerinin %60’nın tohumluklarını kendilerinin ürettiği, %21’ini diğer üreticilerden aldıkları, %19’u ise tohumluk satan kişilerden tedarik ettikleri belirlenmiştir.

Türkiye’de yayınlanan resmî istatistikler dikkate alınarak Tüm Kuruyemiş Sanayicileri ve İş Adamları Derneği (TÜKSİAD) tarafından 2013 yılında yapılan çalışmaya göre 2013 yılı kuruyemiş sektörü iç pazar büyüklüğü 617.000 ton olup bu miktar içinde 25.000 ton ile kabak çekirdeği %4.04’lük paya sahiptir (Tablo 1) [19]. Yapılan çalışma göz önüne alındığında çerezlik kabak yetiştiriciliği payının çok yüksek olduğu görülmektedir. Kültürümüzün bir parçası olan kuruyemiş tüketimi özellikle insanların bir araya geldiği ortamlarda (Bayram, düğün ve gezi gibi) yaygındır. Kuruyemiş olarak tüketilen ürünlerin içerisinde çerezlik kabak çekirdeği önemli bir paya sahiptir.

Tablo 1. Kuruyemiş sektörü iç pazar büyüklüğü [19].

	Miktar (kg)	Ciro (TL)
Ay çekirdeği	100.000.000	500.000.000,00
Yer fıstığı	90.000.000	450.000.000,00
Fındık	65.000.000	975.000.000,00
Leblebi	50.000.000	300.000.000,00
Ceviz	45.000.000	1.125.000.000,00
Antep fıstığı	45.000.000	900.000.000,00
Kuru kayısı	40.000.000	320.000.000,00
Badem	35.000.000	875.000.000,00
Hurma	30.000.000	360.000.000,00
Kuru üzüm	30.000.000	210.000.000,00
Kabak çekirdeği	25.000.000	300.000.000,00
Kuru incir	15.000.000	105.000.000,00
Patlak mısır	15.000.000	30.000.000,00
Kaju	10.000.000	180.000.000,00
Soslu mısır	7.000.000	35.000.000,00
Diğer	15.000.000	150.000.000,00
Toplam	617.000.000	6.815.000.000,00

Çerezlik kabak temininde ve yetiştiriciliğinde karşılaşılan en büyük sorunlar arasında; saf ve kaliteli toprak yapısı ile farklı iklimsel koşullara uygun çeşitlerin bulunmamasıdır. Verim düşüklüğünde yine önemli bir diğer sorundur. Ülkemizde az sayıda çerezlik çeşit tescil edilmiştir, fakat yetiştiricilikte bu çeşitler yer almamıştır. Günümüzde çerezlik kabak yetiştiriciliğinde büyük oranda karışmış (içerisinde değişik tipler barındıran) popülasyonlar tohumluk olarak kullanılmaktadır [20, 21]. Kabakgil sebze türlerinin önemli sorunlarından bir diğeri ise; verim ve kalite kaybına yol açan 200'den fazla hastalık bulunmasıdır. Kabakgil bitkilerinde hastalıklara neden olan etmenler arasında, virüslerin ön sırada olduğu bildirilmiştir [22]. Kabakgillerin pek çok virüs hastalığına konukçuluk etmekte olduğu ve bu ürünlerde önemli düzeylerde kayıplara neden olmaktadır [23]. Bitkilerde gelişme geriliğine, ayrıca şiddetli enfeksiyonlar sonucu anormal meyve ve yeşil aksam oluşumuna neden olan virüslerin, bazı durumlarda meyve verimini tamamen durdurduğu bildirilmiştir [24]. *C. pepo*'nun yetiştirilmesini engelleyen en az sekiz farklı virüs içeren geniş bir patojen yelpazesinin mevcut olduğu bildirilmiştir. [25]. Bu virüsler arasında Papaya Halkalı Leke Virüsü (PRSV) ve Kabak Sarı Mozaik Virüsü (ZYMV), yaygınlığı ve hasar derecesi nedeniyle en önemlileri olup, bitki ve meyve kalitesini düşürmektedir [26].

Tüm bitki türlerinde olduğu gibi kabakta da agronomik karakterleri belirlenmiş ve saflaştırılmış yeni çeşitlerin geliştirilmesi için, ıslah çalışmaları yürütülmektedir [21]. Islah çalışmalarında hastalıklara dayanıklılık genlerinin kültürü yapılan bitkilere aktarılmasında yaygın olarak yabancı türlerden yararlanılmaktadır. Özellikle *Cucurbita ecuadorensis* ve *Cucurbita foetidissima* virüslere dayanıklılık genleri bulundurdıklarından kültürü yapılan kabakgillere bu dayanıklılık genlerinin aktarılması oldukça önemlidir. Kabakta diğer önemli yabancı türler ise; *Cucurbita lundelliana*, *Cucurbita okeechobeensis*, *Cucurbita radicans*, *Cucurbita pedatifolia* ve *Cucurbita digitata complex* bulunmaktadır.

Günümüzde kullanımı gün geçtikçe artan bitki genetik mühendisliği teknikleriyle, orijinal bitkinin istenen karakterlerini değiştirmeden bir ya da birkaç gen, yeni özellikler kazandırmak amacıyla hedef bitkiye aktarılabilmektedir. Genetik mühendisliği, viral hastalıklara dirençli bitkiler elde etmek için bir alternatif olarak sunulmuştur. Bu yaklaşımın kabakgil ıslahında yaygın olarak uygulanmaktadır [27, 28, 29]. Genetik transformasyonun gerçekleştirilebilmesi için etkili bir *in vitro* rejenerasyon sistemi gerekmekte olduğu bildirilmektedir [30, 31]. Cucurbitaceae'nin ekonomik açıdan önemli üyelerinin *in vitro* rejenerasyonuna ilişkin çalışmalar mevcuttur [32, 33, 34, 35, 36, 37]. Aynı türe ait farklı genotiplerin değişik eksplantlarının, farklı besin ortamlarına karşı, farklı düzeyde rejenere olmaları, rejenerasyon protokollerinin her genotip için optimize edilip geliştirilmesini gerektirmektedir.

Çerezlik kabakta (*Cucurbita pepo* L.) *in vitro* bitki rejenerasyonu konulu bu çalışmada direk organogenesis yoluyla sürgün rejenerasyon sisteminin, farklı eksplant tipleri ve besin ortamları çalışılmıştır. Eksplantlar için kullanılan fidelerin elde edilmesinde, en uygun ortamın belirlenmesi amacıyla farklı MS konsantrasyonları içeren ortamlarda çimlendirme yapılmıştır. *In vitro* fidelerden elde edilen eksplantlar sürgün rejenerasyonu için farklı büyüme düzenleyicileri içeren ortamlarda kültüre alınıp rejenerasyon verimliliği incelenmiştir. Elde edilen sürgünlerin köklendirilmesinde farklı oksin hormonlarının etkisine bakılmıştır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Kabak Hakkında Genel Bilgiler

1.1.1. Kabağın Bilimsel Sınıflandırması

Kabaklar (*Cucurbita spp.*) botanik sınıflandırmada Dicotyledoneae sınıfı, Cucurbitales takımı, Cucurbitaceae familyasına dahildir. Bu familyaya dahil olan türler “Cucurbit”ler olarak adlandırılan tropik kökenli sıcak iklim bitkileridir [2]. Kabakgil genetik çeşitliliği yönünden önemli bir yere sahip olan Türkiye’de [38], *Cucurbita* cinsi içerisinde bulunan kabaklar meyve şekli, boyu, iç ve dış meyve rengi yönünden önemli farklılıklar barındırmaktadır. Bu çeşitlilikten dolayı farklı şekilde sınıflandırmalar mevcuttur. Kabakgillerin sınıflandırması aşağıdaki gibi sıralanabilir:

Alem: Plantae

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Takım: Cucurbitales

Familya: Cucurbitaceae

Cins: *Cucurbita* L.

Türler: *Cucurbita pepo* (Yazlık Kabaklar)

Cucurbita moschata (Bal Kabakları)

Cucurbita mixta (Kışlık Kabaklar)

Cucurbita maxima (Kestane Kabağı)

Luffa cylindrica (Lif Kabakları)

Lagenaria sicareria (Su Kabakları)

Momordica charantia

Sechium edule

Benincasa hispida

Cucurbita turbanformis

Kabaklar yazlık, kışlık ve süs kabakları olmak üzere üç grupta incelenmektedir. Bu çalışmanın konusu olan çerezlik kabak *Cucurbita pepo* L. botanik sınıfı içinde yer almakta olup, yaygın yetiştirilen sakız kabağı veya Zucchini tipindeki ince ve uzun kabaklar ile birlikte yazlık kabak grubu içine girmektedir [16]. Ülkemizde bunlara ek olarak az miktarda da bal kabağı (*C. moschata* Pour.) ve kestane kabağı (*C. maxima* Duch.) tohumları çerezlik olarak kullanılmaktadır [39]. Bu türlerinin birbirinden ayırt edilmesinde bazı özellikler kullanılmaktadır. Bu kriterler Tablo 1.1’de verilmiştir. *Cucurbita* cinsi içerisinde ekonomik açıdan önemli üç tür bulunmaktadır: *C. Pepo*, *C. maxima* ve *C. moschata* [40].

***Cucurbita pepo*:** Meyvesi silindirik, etli kısım beyazımsı renktedir. Anadolu’da sebze olarak yemeklerde kullanılan sakız kabakları bu türe ait olup yetiştiriciliği çok yaygındır. Çekirdekleri beyaz ve sert kabuklu, oval biçimli tanelerdir. Sıcak ve ılıman iklimlerde yetiştirilmekte olup ülkemizde yaygın olarak sebze, tatlı ve turşu olarak yetiştirilmekte ve tüketilmektedir [41].

***Cucurbita maxima*:** Helvacı kabağı olarak adlandırılan *Cucurbita maxima* kabakgiller familyasından bir kabak türü olup meyve şekli küremsi ya da basık küremsidir. Üzeri dilimli, pürüklü veya düz, kirli sarı ya da kırmızımsı renklidir. Meyve eti sarı-turuncu renktedir. Genellikle tatlı yapılarak tüketilir [42].

***Cucurbita moschata*:** Bal kabağı olarak adlandırılır. Türk mutfağında en yaygın kullanım şekli kabak tatlısıdır. Bol miktarda potasyum, demir, fosfor, sodyum, kalsiyum içeren, lifi bol bir meyvedir. Meyvesi kalın ve silindir biçiminde olan bu türün üzeri genellikle düzgün, etli kısım sarı-turuncu renklidir. Toprak yapısı çok ağır ve kumlu ise yetiştirilmesi güçtür ayrıca kumlu topraklarda gübrenmesi şarttır. *pH* derecesi 6 ile 7 olan, derin, geçirgen, su tutma kabiliyeti yüksek, organik ve mineraller bakımından zengin olan topraklarda iyi mahsul alınır. Bal kabağının erkek çiçekleri sarı renkli düz ve kapalı olurken, dişi bal kabağı çiçeği karanfile benzer [43].

Tablo 1.1. Cucurbita cinsi içerisinde giren önemli türlerin tanımlama anahtarı [44].

Özellik	<i>C. pepo</i>	<i>C. maxima</i>	<i>C. moschata</i>
Tohum Rengi	Beyaz	Beyaz	Beyaz
Yaprak Şekli	Üç parçalı, Çok çıkıntılı (loblu)	Yuvarlak, Az çıkıntılı	Üç parçalı, Az çıkıntılı
Yaprakta benek	Var	Az	Var
Meyve sapı kesiti	Açılı (5 açılı)	Yuvarlak	Açılı (5 açılı)
Sapın meyve bağlantısı	Meyveye devamlı	Daralan	Genişleyen
Meyve kabuğu	Parlak	Parlak	Mat
Tüylülük biçimi	Dikensi sert tüylü	Az tüylü	Tüylü
Meyve kabuğu	Parlak	Parlak	Mat

1.1.2. Kabağın Orijini ve Tarihçesi

Cucurbitaceae, dünya çapında önemli bir bitki ailesi olup 120'den fazla cinsi içerisinde bulunduruyor [1]. *Cucurbita*, Amerika kıtasının tarım tarihinde önemli bir yere sahiptir. Arkeolojik kayıtlar, *Cucurbita* türlerinin milattan önce 5.000 yıllarında tarımı yapıldığını göstermektedir [45, 46]. *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita mixta* ve *Cucurbita maxima*'nın Amerika kıtasının güneybatısı, Meksika ve Güney Amerika'nın kuzeyinde yetiştirildiğine dair arkeolojik bulgular vardır [3]. Geçmişte ıslah etmek amacıyla, daha iri tohumların seçilmesi sonucunda muhtemelen büyük meyvelerin seleksiyonu gerçekleşmiştir. İnsanlar tarafından beslenmek için olgunlaşmamış meyvelerin hasat edilmesinin sonucu olarak da acı olmayan ete sahip mutantlarla karşılaşmıştır. Kabağın olgun meyvelerinin tohumları için kesilmesi sonucu acı olmayan, nişastalı ete sahip mutant tohumların tüketim amaçlı kazandırılmasını ve korunmasını sağlamıştır [47]. Kabak bitkisinin ilk kültürü yapıldığında meyvelerinin zehirli ve acı olabilmesinden dolayı, besleyici ve daha az acı olan tohumları için kültürü yapılmaya başlandığı Robinson [48] ve Paris [49] tarafından bildirilmektedir. Amerika kıtasının keşfiyle birlikte kabağın diğer ülkelere yayılması deniz yoluyla olup, yayıldığı ülkelerde de çeşitliliğe uğrayıp yeni tipler meydana gelmiş ve bunun sonucu olarak insanlar tarafından sevilmiş ve değerli bir sebze haline gelmiştir [50]. *Cucurbitaceae* ailesine dahil olan kabakgil türlerinin büyük bir oranının ülkemizde yetiştiriciliği yapılabilmektedir. Bazı kabakgil türlerinin orjin merkezi veya sınırları içerisinde yer alan ülkemizin sahip olduğu zengin iklimsel çeşitlilik sayesinde, kabakgil türlerinin büyük bir kısmı sorunsuz bir şekilde yetiştirilebilmektedir.

1.1.3. Kabağın Besin Değeri

Yetiştiriciliği yapılan bölgelerde kuruyemiş olarak tüketilen kabak çekirdeği, özellikle de Orta Amerika’da popüler bir besin kaynağı olarak tüketilmektedir. Amerika’da kaliteli bitkisel yağ olarak tüketilen kabak çekirdeği, kuruyemiş olarak ve yemeklerde kullanılmak üzere hazırlanan soslarda önemli bir besin olarak tüketilmektedir. Önemli bir protein ve enerji kaynağı olarak gelişmekte olan ülkelerde konsantre besin kaynağı şeklinde tüketimi yaygındır. Slovenya, Avusturya ve Macaristan gibi gelişmekte olan ülkelerde kabak çekirdeği yağı, nitelikli bir salata yağı olarak yüksek fiyatlarda satılmaktadır [51]. Kabak çekirdeği ülkemizde daha çok kuruyemiş sektöründe önemli bir yere sahiptir. Kültürümüzde önemli bir yere sahip olan ve sevilerek tüketilen kabak çekirdeği, yetiştiricilikte gün geçtikçe yayılıp önem kazansa da kabak çekirdeği yağı olarak pek tüketilmemektedir.

İnsan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan kabak, içeriği ile zengin bir besin kaynağıdır. Kabaktaki kuru madde oranı %6-10 ve su oranı %90-94 seviyelerindedir. Kuru maddenin büyük çoğunluğunu şekerler oluşturur ve şeker oranı %2-4 seviyelerindedir. Azotlu maddeler %2-4, kül %0,09’dur. Kül içinde %0,03 potasyum, %0,02 kalsiyum, %0,1 magnezyum, %0,01 fosfor içermektedir. Yağ oranı meyvede %0,4-1 civarındadır. Çekirdeklerdeki yağ oranı ortalama %10-20 civarındadır, fakat bazı çeşitlerin çekirdekleri, yukarıda da belirtildiği gibi %30-40 kadar yağ bulundurabilir. Kabaklarda fazla miktarda A, B ve C vitamini bulunur. 100 g kabakta 1000-16000 I.Ü A vitamini, 0,18-0,16 mg B₁, 0,2-0,3 mg B₂, 5,0-2,0 mg Niacin, 28-75 mg C vitamini bulunmaktadır [52].

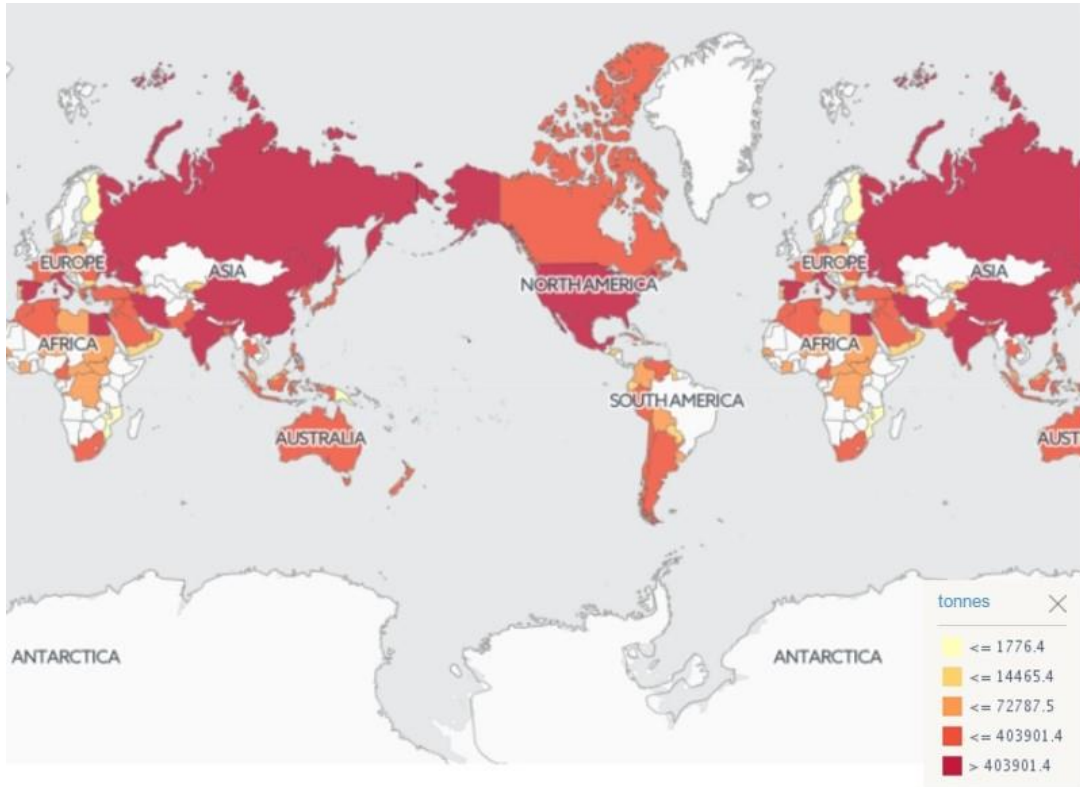
Soğuk presleme tekniğiyle kabak çekirdeğinden elde edilen sabit yağ; E vitamini (tokoferol), selenyum, çinko, magnezyum ve bakır mineralleri bakımından zengindir. Son yıllarda sabit yağın antioksidan etkisi ile antiinflamatuvar etkisinin ortaya konmasıyla birlikte önem kazanmıştır. Sabit yağ içeriğinin %64’ünü doymamış yağ asitlerinden linoleik asit (Omega 6) oluşturuyor. Yağın bileşimindeki karotenoidler, serbest oksijen radikallerinin yakalanmasında rol almaktadır. Toksinlerin atılmasına katkıda bulunan kabak çekirdeği yağı, antioksidan etki göstermesi nedeniyle hem haricen (dermatolojide) hem de dahilen kullanıma uygundur. Kabak çekirdeği yağındaki yağ asitleri kompozisyonu Tablo 1.2 verilmiştir.

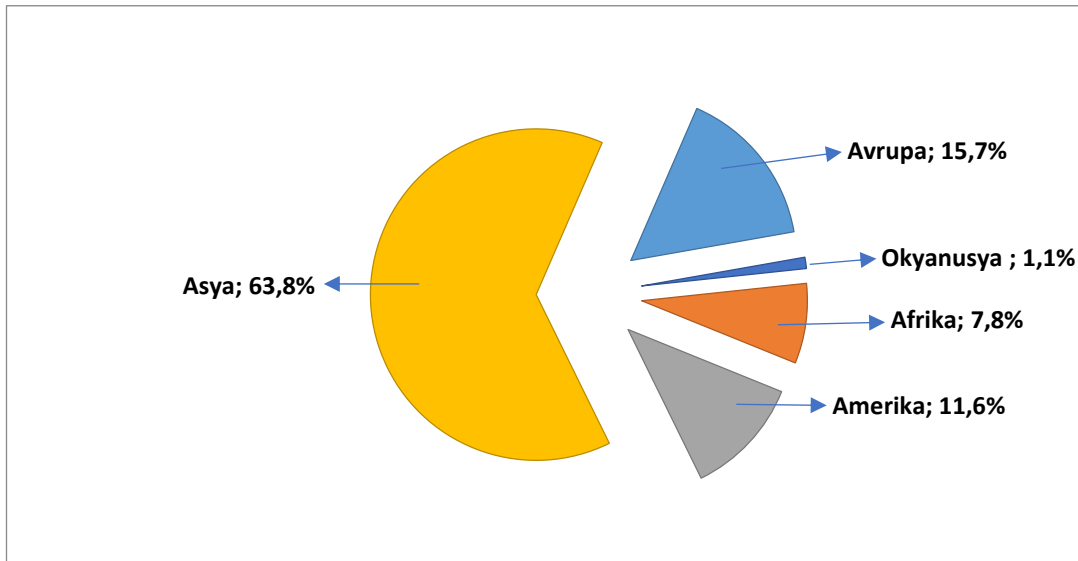
Tablo 1.2. Kabak çekirdeği yağında yağ asitleri kompozisyonu (%) [53].

Doymuş Yağ Asitleri (%)		Doymamış Yağ Asitleri (%)	
Miristik Asit	0,12	Oleik Asit (Omega 9)	33,64
Palmitik Asit	11,77	Linoleik Asit (Omega 6)	46,51
Margarik Asit	0,09	Linolenik Asit (Omega 3)	0,18
Stearik Asit	6,89	Araşidik Asit	0,46
		Ekosenoik Asit	0,11
		Behenik Asit	0,12

1.1.4. Dünya’da ve Türkiye’de Kabağın Önemi

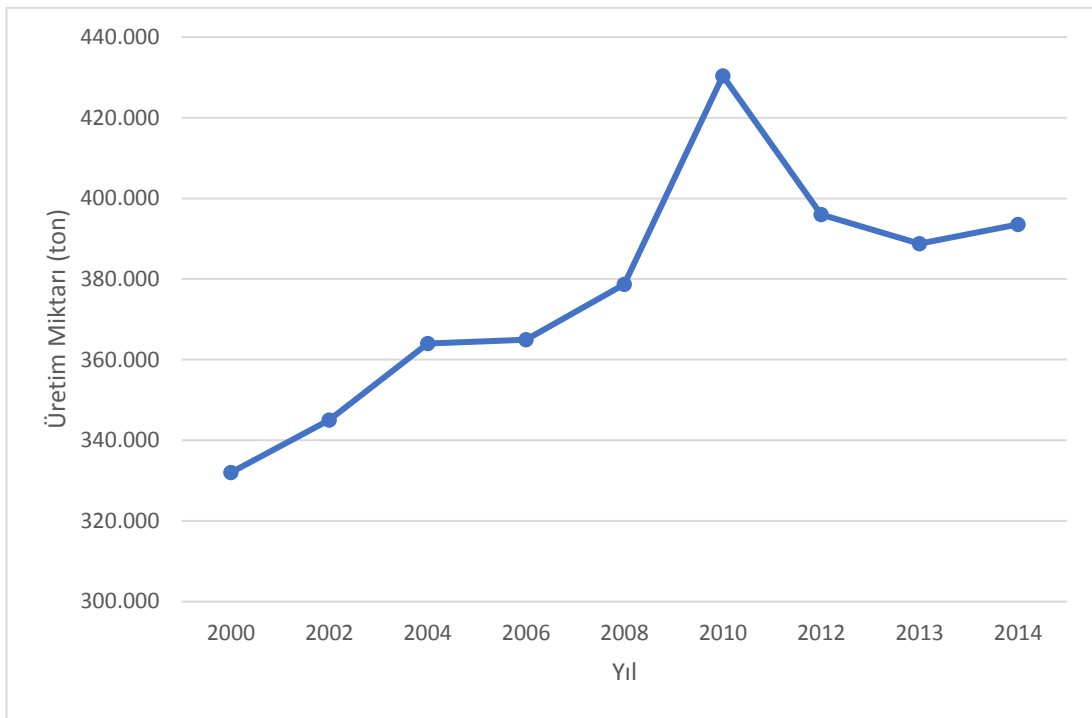
Cucurbita pepo L. türünün anavatanı olarak bilinen ABD ve Meksika en fazla üretim miktarına sahip iken, Akdeniz ülkelerinden Türkiye, İtalya ve Mısır; Dünya kabak üretiminin üçte birini karşılamaktadır [7]. Bölgelere göre Dünya kabak üretiminde en yüksek pay %63,8 ile Asya kıtasına aittir (Şekil 1.2). Türkiye kabak üretiminde Dünya ülkeleri arasında önemli bir yere sahiptir (Şekil 1.1 ve Tablo 1.4).

**Şekil 1.1.** Kabak yetiştiriciliği yapılan ülkelerin üretim yoğunluğu [54].



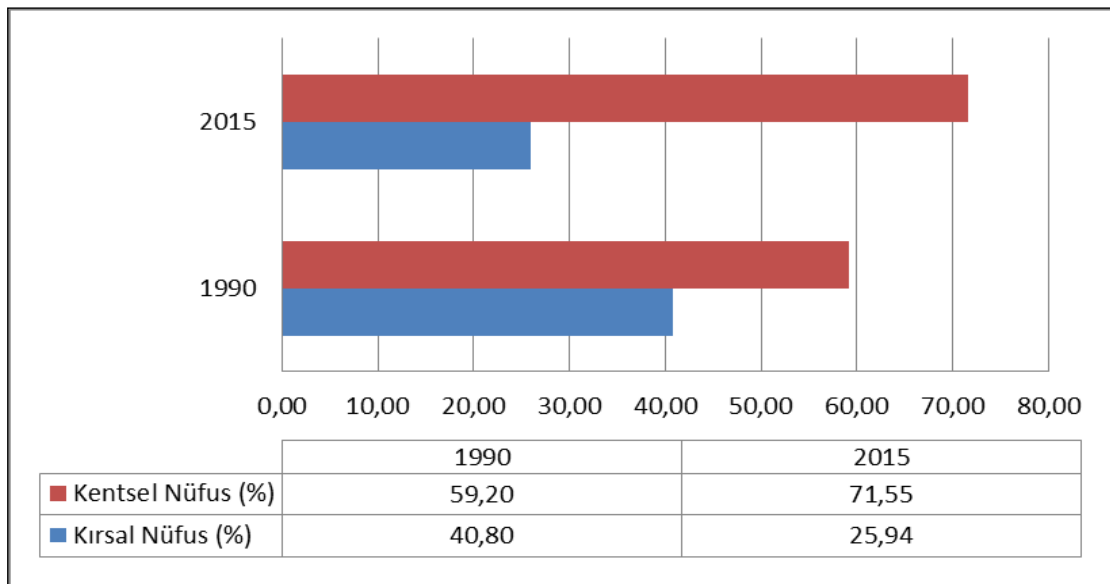
Şekil 1.2. Kıtalara göre dünya kabak üretim payı [54].

Ülkemizde çerezlik kabak yetiştiriciliğinin diğer sebze türlerine karşı sahip olduğu bazı avantajlardan dolayı yıllar içerisinde hem üretimde hem de verimde önemli oranda artış gösterdiği görülmektedir (Şekil 1.3 ve Tablo 1.3). Özellikle iç bölgelerde üretim miktarı bakımından diğer bölgelerimize kıyaslandığında, önemli bir farka sahip olduğu görülmektedir (Tablo 1.5). Sahip olduğu bazı avantajlar yetiştiricilikte tercih edilmesinde önemli birer etken olmaktadır. Yemeklik kabak yetiştiriciliğinin çerezlik kabağa göre tarımının yapılması, ekonomik olmamakla birlikte ve yetiştiricilikte rutin olarak yapılması gereken bakım işlemlerinin fazla olmasından dolayı özellikle iç bölgelerde fazla tercih edilmemektedir. Hasat zamanı piyasada yemeklik kabağın fazla olmasından dolayı fiyatların düşmesi, fazla verim almak için yetiştiricilikte fazla sulama gereksinimi ve sık sık hasat yapma ihtiyacının doğmasına paralel olarak fazla iş yükü meydana getirmesi ve hasat edilen ürünün uzun süreli depolamaya uygun olmamasından kaynaklı olarak kısa süre sonra satışının gerçekleştirilme zorunluluğundan ve çerezlik kabağa oranla daha düşük fiyata satışının yapılmasından kaynaklı dezavantajları sıralanabilir.



Şekil 1.3. Türkiye’de yıllara göre kabak üretim miktarı (ton) [54].

Ülkemizde çerezlik kabak üretimi genel olarak küçük tarım arazilerinde yapılmaktadır. Kırsal nüfusun giderek azalması şehir nüfusunun ise hızla artmasından dolayı (Şekil 1.4) çiftçiler özellikle hem maliyeti düşük hem de az iş gücüne ihtiyaç duyulduğu için özellikle iç bölgelerimizde çerezlik kabak yetiştiriciliğini tercih etmektedir (Tablo 1.5)



Şekil 1.4. 1990 ile 2015 yılları arasında Türkiye’de Kırsal nüfus ile Kentsel nüfusun değişimi (%) [54].

Cucurbitaceae familyasının içine dâhil olan kabakgil türlerinin önemli bir bölümü Türkiye’de yetiştirilebilmektedir. Ülkemizin içinde bulunduğu iklimsel çeşitlilik, kabakgil türlerinin çoğunun ülkemizde sorunsuz olarak tarımı yapılmasına olanak sağlamaktadır. FAO’nun son birkaç yıllık verileri incelendiğinde dünyadaki toplam kabak üretiminin önemli oranda artış gösterdiği görülmekte olup 2014 yılında bu üretim 25.196.723 tona ulaşmıştır. Türkiye üretimi ise 393.530 tondur. Türkiye bu üretimini 22.300 hektar alanda gerçekleştirmektedir. Kabak üretiminde ortalama verim incelendiğinde dünya ortalaması FAO’nun 2014 verilerine göre 1,25 ton/da iken, Türkiye 1,76 ton/da ile dünya ortalamasının üzerindedir. Türkiye, dünya kabak üretiminde Çin, Hindistan, Rusya Federasyonu, Ukrayna Amerika Birleşik Devletleri ve İran’dan sonra 13. sırada gelmektedir. Üretim alanı bakımından ise dünyada Hindistan, Çin, Umman, Kamerun ve Rusya Federasyonu’ndan sonra toplam 22.300 ha değeriyle 15. sırada yer almaktadır (Tablo 1.3 ve Tablo 1.4).

Tablo 1.3. Dünya’da ve Türkiye’de yıllara göre çerezlik kabak üretim alanı (ha), miktarı (ton) ve verim (ton/da) [54].

Yıl	Türkiye			Dünya		
	Verim (ton/da)	Alan (ha)	Üretim Miktarı (ton)	Verim (ton/da)	Alan (ha)	Üretim Miktarı (ton)
2000	1,50	22.000	332.000	1,23	1.442.788	17.777.333
2002	1,72	20.000	345.000	1,29	1.505.728	19.561.168
2004	1,69	21.479	364.000	1,28	1.669.802	21.513.085
2006	1,69	21.497	364.968	1,33	1.600.949	21.429.680
2008	1,72	22.000	378.706	1,33	1.661.201	22.204.654
2010	1,79	24.000	430.402	1,33	1.746.293	23.261.071
2012	1,79	22.000	395.986	1,36	1.778.499	24.289.960
2013	1,79	21.600	388.785	1,37	1.814.337	24.941.869
2014	1,76	22.300	393.530	1,25	2.004.058	25.196.723

Tablo 1.4. Önemli bazı kabak üreticisi ülkelerin yıllara göre üretim miktarları ve alanları [54].

Sıralama	Ülke	Üretim Miktarı (milyon ton)	Ülke	Üretim Alanı (1000 hektar)
1.	Çin	7,24	Hindistan	519,00
2.	Hindistan	4,98	Çin	392,00
3.	Rusya	1,23	Umman	177,66
4.	Ukrayna	1,10	Kamerun	148,99
5.	ABD	0,86	Rusya	60,13
6.	İran	0,60	Ukrayna	54,10
7.	Meksika	0,56	Ruanda	53,89
8.	İtalya	0,56	Küba	52,76
9.	Küba	0,49	İran	44,83
10.	İspanya	0,46	Bangladeş	43,30
11.	Mısır	0,44	ABD	35,79
12.	Bangladeş	0,42	Meksika	33,31
13.	Türkiye	0,39	Pakistan	25,84
14.	Endonezya	0,35	Mısır	25,05
15.	Kore	0,34	Türkiye	22,30

Ülkemizde 848 bin hektar alanda üretilen toplam sebze üretimi 29,5 milyon tondur. Bu değer 7,8 milyon tonu olan %26,55’lık bir bölümünü Kabakgiller familyasına ait türler (karpuz, kavun, kabak vd.) oluşturmaktadır. Bu üretim miktarı içerisinde yetiştiriciliğindeki önemli bazı avantajlarından dolayı çerezlik kabak üretimi 2005 yılında 172.580 dekar alanda 11.500 ton iken, geçtiğimiz son on yıl içerisinde büyük bir artış gösterip, yetiştiricilik, depolamadaki kolaylık ve pazar gibi nedenlerden dolayı 2015 üretim yılında 615.119 dekar alanda 41.612 tona yükselmiştir (Tablo 1.6). Kabak üretim değerlerini tiplerine göre ayırdığımızda, sakız kabağının 312.923 ton, bal kabağının 95.363 ton, çerezlik kabağın ise 41.612 ton olarak istatistiklerde yer aldığını görmekteyiz [55].

Tablo 1.5 İncelendiğinde 2015 verilerine göre Orta Anadolu bölgesi 533.916 da alanda 32.956 ton üretimle bölgeler bazında en yüksek verimi gerçekleştirirken 42.808 da alanda 4.738 ton verimle Batı Anadolu ve 22.936 da alanda 2.420 ton üretimle Doğu Marmara bölgesi izlemektedir.

Tablo 1.5. Türkiye’de bölgelere göre çerezlik kabak üretim alan (da) ve miktarı (ton) [55].

YIL	2012		2013		2014		2015	
Bölge	Ekilen Alan (da)	Üreti m (ton)	Ekilen Alan (da)	Üreti m (ton)	Ekilen Alan (da)	Üreti m (ton)	Ekilen Alan (da)	Üreti m (ton)
Kuzeydoğu Anadolu	280	30	280	30	260	29	240	27
Ortadoğu Anadolu	41	3	36	3	17	2	17	2
Güneydoğu Anadolu	51	3	10	-	10	-	10	-
Batı Marmara	11.986	1.039	11.034	955	10.917	952	11.185	1.004
Ege	2.858	350	2.646	323	2.457	295	2.707	333
Doğu Marmara	15.532	1.751	16.526	1.892	23.653	2.504	22.936	2.420
Batı Anadolu	24.991	2.408	27.790	2.886	28.682	3.192	42.808	4.738
Akdeniz	220	44	220	44	220	40	220	44
Orta Anadolu	444.328	26.469	456.756	29.408	485.932	29.269	533.916	32.956
Batı Karadeniz	520	47	510	45	500	48	1.080	88

Tablo 1.6 ve Tablo 1.7 incelendiğinde 308.756 da üretim alanından elde edilen 15.669 ton çerezlik kabak üretimiyle illerimiz arasından en fazla üretimi gerçekleştiren Kayseri ili ilk sırada yer alırken, bunu Nevşehir, Aksaray, Konya ve Eskişehir illeri takip ettiği görülmektedir. %37,65’lik payla en yüksek üretim miktarına sahip olan Kayseri’de üretilen 15.669 ton kabak tohumunun %38,29’u Develi, %33,30’u Tomarza, %10,53’ü Yeşilhisar, %14,82’si ise Talas ilçesinde üretilmiştir [56].

Tablo 1.6. Türkiye’de yıllara ve illere göre çerezlik kabak üretim alan (da) ve miktarı (ton) [55].

İller	2015		2014		2013		2012	
	Ekilen alan (da)	Üretim (ton)	Ekilen alan (da)	Üretim (ton)	Ekilen alan (da)	Üretim (ton)	Ekilen alan (da)	Üretim (ton)
Kayseri	308.756	15.669	269.731	13.071	246.557	13.761	249.517	12.356
Nevşehir	167.426	12.746	159.686	11.752	160.614	11.810	145.129	10.423
Aksaray	44.150	3.676	44.770	3.765	38.870	3.216	38.135	2.977
Konya	29.195	3.804	17.194	2.236	12.965	1.642	9.166	1.149
Eskişehir	19.436	1.961	19.408	1.941	11.300	1.175	10.556	1.068
Ankara	9.275	397	7.150	448	8.875	548	10.075	576
Edirne	9.274	761	9.281	756	9.309	758	9.640	783
Niğde	8.750	508	8.570	457	7.900	420	7.330	386
Karaman	4.338	537	4.338	508	5.950	696	5.750	683
Sakarya	3.470	454	4.215	558	5.195	712	4.945	678
Afyon	2.610	320	2.395	289	2.634	321	2.646	324
Sivas	2.171	173	420	36	445	33	2.289	181
Kırşehir	1.913	133	1.810	127	1.725	122	1.408	101
Tekirdağ	1.353	177	1.068	129	1.087	121	1.045	116
Yozgat	730	49	675	34	475	29	200	13
Çorum	700	53	-	-	-	-	-	-
Çankırı	380	35	500	48	510	45	520	47
Erzincan	240	27	260	29	280	30	280	30
Kırklareli	238	25	238	25	218	24	866	85
K.maraş	220	44	220	40	220	44	220	44
Balıkesir	200	29	210	30	290	39	300	41
Çanakkale	120	12	120	12	130	13	135	14
Kütahya	72	11	12	2	12	2	12	2
Kocaeli	30	5	30	5	31	5	31	5
Uşak	25	2	50	4	-	-	-	-
Kırıkkale	20	2	270	27	170	17	320	32
Elazığ	17	2	17	2	20	2	20	2
Gaziantep	10	-	10	-	10	-	42	1
Kilis	-	-	-	-	-	-	9	2
Malatya	-	-	-	-	16	1	21	1
Manisa	-	-	-	-	-	-	200	24
Toplam	615.119	41.612	552.648	36.331	515.808	35.586	500.807	32.144

Tablo 1.7. Kayseri’de ilçelere göre çerezlik kabak üretim alan (da) ve miktarı (ton) [55].

İlçe Adı	Ekilen Alan (da)	Üretim (ton)
Kocasinan	1.800	162
Melikgazi	280	28
Bünyan	2.400	240
Develi	100.000	6.000
Hacılar	16	1
İncesu	400	20
Özvatan	35	3
Sarıoğlu	150	15
Talas	58.075	2.323
Tomarza	130.480	5.219
Yahyalı	120	8
Yeşilhisar	15.000	1.650
Toplam	308.756	15.669

1.2. Literatür Çalışması

Ananthakrishnan vd. [36], True French, Ma'yanand Goldy ticari kabak çeşitlerinden elde ettikleri fidelerin kotiledon eksplantlarını kullanmışlardır. *In vitro* koşullarda 1,0 mg/l BAP ilave edilen MS ortamında bitkilerden rejenerasyon sağlayabilmişlerdir. Kültürden 4 hafta sonra, en çok kotiledonun proksimal kısmından küçük sürgünler ve tomurcuklar elde etmişlerdir. Rejenerasyonda elde edilen sürgünlerin büyütülmesinde sitokinin miktarını azaltarak 0,1 mg/l BAP ve buna ilaveten 1,0 mg/l GA₃ kullanmışlardır. Yaptıkları alt kültür sonucunda, taze sürgünler elde ederek sürgün sayısını artırmaya çalışmışlardır. En yüksek sürgün üretkenliği, alt kültürün üçüncü devresinde elde edildiği ve beşinci alt kültürden sonra sürgün üretiminin durduğunu rapor etmişlerdir. GA₃ takviye edilen büyüme ortamı kültürünün, (toplam sürgün üretimine göre) GA₃ içermeyen ortamdan (%3) daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada eksplant başına toplam 22 sürgün elde ederek hem ışık hem de karanlık koşullar altında rejenerasyon sağlayabilmişlerdir.

Metwally vd. [56], kabak çekirdeğinde döllememiş ovüller ile *in vitro* kültür ortamında haploid bitki üretimi için yaptıkları çalışmada, kabak bitkilerinin çiçeklerini açılmadan bir gün önce toplamışlar ve 0-2-4 ve 8 gün boyunca soğuğa (4 °C) maruz bırakmışlardır.

Çalışmada; ovülleri 30 g/l şeker ve 8 g/l agar ilaveli ortamda 2,4-D'nin dört farklı kombinasyonunu (0,1-1,0-5 ve 10 mg/l) içeren ortamda, 4 hafta boyunca 25 ± 1 °C altında 16 saat fotoperiyotta kültüre almışlardır. Çalışma sonucunda; soğuğa maruz bırakılmamış ovüllerden 1 ve 5 mg/l 2,4-D içeren MS ortamında daha iyi sonuç elde etmişlerdir. Yaptıkları sitolojik incelemede, incelenen bitkilerin üçte birinin haploid ($2n = x = 20$) ve diğerlerinin diploid ($2n = 2x = 40$) olduklarını bildirmişlerdir.

Pal vd. [57], Bulum ve Rumbo yazlık kabak çeşitlerini kullanarak dolaylı organogenesis çalışmışlar ve etkin bitki rejenerasyon protokolü oluşturmaya çalışmışlardır. Eksplant olarak hipokotil ve kotiledonları kullanmışlardır. Çalışmada kullandıkları tohumları, %0,1 HgCl₂ içinde 5 dakika boyunca yüzey sterilizasyonuna tabi tutmuşlar ve bitki büyüme düzenleyicileri içermeyen MS ortamında *in vitro* koşullarda çimlendirmişlerdir. Morfolojik olarak en fazla kallus oranının (%86) 2,5 mg/l 2,4-D ilave edilen MS ortamında (hipokotil eksplantlarında) gözlemişlerdir. Kallus büyüklüğü ve ağırlığı alt kültür yapıldıktan sonra önemli ölçüde artışlar izlemişlerdir. Kültür başına en yüksek sürgün rejenerasyonu yüzdesi (%85) ve en yüksek sürgün sayısı (6,89) 0,5mg/l Tidiazuron (TDZ) ile elde etmişlerdir. Hipokotil eksplantları, kallus oluşumu ve daha sonra bitki rejenerasyonu açısından, kotiledon eksplantlarına göre daha iyi olduğunu gözlemlemişlerdir. Rejenere olmuş bitkileri 1,0 mg/l IBA ilave edilmiş MS ortamında köklendirdikten sonra bitkilerin yaklaşık %70'inin büyüdüğünü rapor etmişlerdir.

Chee [58], kabak çekirdeğinde doku kültürü yoluyla somatik embriyogenesis ve bitki rejenerasyonu elde etmek amacıyla yaptığı çalışmada, 1,2 mg/l 2,4,5-T, 0,8 mg/l BAP ve 0,1 mg/l kinetin ilaveli MS ortamına aktarılan tepe sürgünlerinden kallus elde etmiş ve bu kalluslardan somatik embriyogenesis elde ettiğini bildirmiştir.

Stipp vd. [30], Caserta kabak çeşidinde yapılan *in vitro* rejenerasyon protokolünde eksplant olarak hipokotilli kotiledonları kullanmışlardır. En uygun eksplant yaşını belirlemek için, çimlendikten sonra 4 ile 6 günlük bitkilerden elde ettikleri eksplantları 27°C'de 16 saatlik bir ışık periyodu altında BAP (0-1,1-2,2-3,3-4,5 veya 5,5 µM/l) ile desteklenmiş MS ortamında kültüre almışlardır. En etkili *in vitro* organogenesis, 4,5 µM/l BAP ilaveli MS besi ortamında kültüre alınmış 4 günlük fidelerden toplanan eksplantlardan elde etmişlerdir. 4 hafta inkübasyondan sonra, kotiledon/hipokotil birleşim yerinde adventif sürgünlerin gelişimini gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

Kabir vd. [59], iki kabak çeşidinde meristem kültürü vasıtasıyla patojenlerden arınmış bitkileri geliştirmek için etkin bir *in vitro* protokol oluşturmaya çalışmışlardır. İlk olarak 25-30 günlük *in vitro* koşullarda yetiştirilen bitkilerdeki sürgünlerden izole edilmiş yaklaşık 0,3-0,5 mm boyutlarındaki meristemleri 2,0 mg/l KIN ve 0,5 mg/l GA₃ ile desteklenmiş sıvı MS ortamına aktarmışlardır. İçerisinde 2,0 mg/l BAP içeren yarı katı MS ortamının, her iki çeşitte de meristem sürgün gelişiminde en etkili ortam olduğunu bildirmişlerdir. Sürgünlerde en iyi kök oluşumunu 1,0 mg/l IBA bulunan ortamdan elde etmişlerdir. Bitkilerde virüs varlığını, DAS-ELISA testi ile test etmişler ve araştırılan virüsler bakımından %68-81 oranında bitkilerin virüssüz olduğunu kanıtlamışlardır.

Kintzios vd. [60], kabak (*Cucurbita pepo* L.) ve kavun (*Cucumis melo* L.) yaprakları kullanılarak somatik embriyogenesi geliştirmek üzerine yapılan çalışmada yaprak eksplantları başlangıçta 113,1-226,2 ve 452.4 µM/l 2,4-D ile 46,5-93 ve 186 µM/l kinetinle, bu konsantrasyonların her ikisinin bir kombinasyonu ile 6-24 veya 48 saat boyunca muamele etmişler ve ön işlemden sonra, eksplantlar, büyüme düzenleyicileri içermeyen ortamlara aktarmışlardır. Kabak eksplantları 186 µM/l kinetin ve kavun eksplantları (48 saat boyunca) 226,2 µM/l 2,4-D ile başlangıçta ön işlem yapmışlar, torpido şeklindeki aşamaya gelen somatik embriyoların oluşumunu önemli ölçüde teşvik ettiği bildirilmiştir. Bu koşullar altında, eksplant yüzeyinin santimetrekare başına en az dört bitki rejenerasyonuna edilmiştir. Böylece sırasıyla kabak ve kavun için %143 ve %130 ön muamele edilmeyen kültürlere kıyasla bir artış elde edildiği rapor edilmiştir.

Sarowar vd. [14], etkili bir *in vitro* mikro çoğaltım protokolü geliştirmek için, hibrit kabak çeşitlerinin (5 günlük eksplantlar) sürgün uçlarını kullanarak doğrudan sürgün geliştirmeye yönelik bir çalışma yapmışlardır. Kesilen sürgün uçlarını, sürgün elde etmek için (çeşitli kombinasyonlar ve konsantrasyonlarda) iki bitki büyüme düzenleyicisi (6-benziladenin ve naftalinasetik asit) içeren Murashige ve Skoog (MS) ortamında kültüre almışlardır. Sürgün büyümesi için en iyi ortam, MS ortamında 3 mg/l BAP içeren ortamda tespit ettiklerini, 30 günlük kültürden sonra %84 oranında sürgün rejenerasyonu ve eksplant başına 5 adet sürgün elde ettiklerini bildirmişlerdir. Sürgünler (1-1,5 cm uzunluğunda) 1mg/l IBA içeren MS ortamında köklendirmeye almışlar ve %93 oranında köklenme sağlandıktan sonra bitkileri toprağa aktarmışlardır.

Abrie ve Staden [61], Cucurbitaceae familyasında beş çeşit için bir sürgün geliştirme protokolü geliştirilmeye çalışılmıştır. Yaptıkları çalışmada, Tohum kabuğu etanol ön-muamelesi ile farklı tohum kaynakları, NaOCl konsantrasyonları ve muamele sürelerinin bulaşıklıklığı önleme üzerine etkilerini araştırmışlardır. Kültür ortamında BA, kinetin, iP ve TDZ ile IAA'nın kombinasyonlarında kotiledon eksplantların sürgün rejenerasyonu üzerindeki etkilerini test etmişlerdir. *Cucurbita maxima* cv. A-line, *C. maxima* cv. Chicago Warded ve *C. pepo* cv. Rolet, çeşitlerinde muamelelerin hiçbirinde sürgün oluşturmadığı, ancak *C. maxima* cv. Chicago Warded eksplantları üzerinde somatik embriyolar oluşturduğunu bildirmişlerdir. Hales Best 36 çeşidinde sitokinin içeren tüm muamelelerde oldukça iyi rejenerasyon sağlandığını ve sürgün elde edildiğini bildirmişlerdir. BA içeren ortamlarda, test edilen diğer sitokininlere göre daha yüksek sürgün rejenerasyonu olduğunu gözlemlemişlerdir. *Cucumis sativus* cv. Ashley çeşidinin ise sürgün rejenerasyonuna olumsuz tepki verdiğini, sürgün gelişimini BA ve iP içeren ortamlarda gözlemlemişlerdir.

Lee ve Chung [62], kabakta yaptıkları çalışmada Kore ve Japon kışlık kabaklarını (*Cucurbita maxima* L.) rejenerasyon çalışmasında kullanmışlardır. Ekplant olarak kotiledonu kullandıkları bu çalışmada, 4 günlük fidelerden elde edilen kotiledonların proksimal kısımlarını kültüre almışlar ve en yüksek rejenerasyonu 1 mg/l BA içeren MS ortamında tespit etmişlerdir. Rejenerasyon için eksplantlar hormon ortamına aktarıldıktan 3 hafta sonra Kore kabaklarında %82, Japon kabaklarında ise %86 sürgün oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Oluşan sürgünleri büyütme ortamı olarak 0,1 mg/l BA içeren MS ortamında kültüre aldıklarını ve belli bir büyüklüğe gelen sürgünleri hiçbir bitki düzenleyici içermeyen MS besi ortamında köklendirdiklerini bildirmişlerdir.

Chee [63], yaptığı bu çalışmada yazlık kabakta doku kültürü tekniğiyle bitki rejenerasyonu elde etmeye çalışmıştır. Embriyonik kallus dokularına başlangıçta olgun tohumların kotiledonlarından kesmiş ve 22,7 μ M/l 2,4-D veya 4,7 μ M/l 2,4,5-T, 4 μ M/l BA ve 0,5 μ M/l kinetin kombinasyonu ilaveli Murashige ve Skoog (MS) ortamlarında kültüre almıştır. Kallus dokusunda somatik embriyoları tespit etmiştir. Bu somatik embriyoların olgunlaşmasını, embriyogenik kallus dokularının, 0,5 μ M/l NAA ve 0,25 μ M/l kinetin ile ilave edilmiş MS besi ortamına aktararak gerçekleştirmiştir. Rejenere olmuş olgun bitkilerin morfolojik olarak normal olduğunu bildirmiştir.

Lee vd. [64], kestane kabağı (*Cucurbita maxima* Duch.)’ında organogenesis yoluyla etkili bitki rejenerasyonu protokolü oluşturmaya çalıştıkları çalışmada, *in vitro* koşullarda çimlendirilen fidelerden kesilen kotiledon eksplantlarını kullanmışlardır. İki kestane kabağı (*C. maxima* Duch.) çeşidi için organogenesis yoluyla verimli bitki rejenerasyonu protokolünü oluşturmuşlardır. Sürgün oluşumunda en uygun koşulları oluşturmak için, farklı yaştaki fidelerden çeşitli eksplantlar hazırlamışlar ve bunları farklı konsantrasyonlarda BA içeren ortam kullanılarak kültüre almışlardır. Her iki çeşit için de bitki rejenerasyonu, 4 günlük fidelerdeki kotiledonların proksimal kısımları, 1 mg/l BA ilave edilmiş MS ortamında kültüre alındıktan sonra elde etmişlerdir. Ortama alınan eksplantlar 3 haftalık kültürden sonra, iki çeşitten elde edilen eksplantlardan %82 ve %92 oranında sürgün rejenerasyonu elde ettiklerini ve elde edilen sürgünleri, 0,1 mg/l BA ilave edilmiş MS ortamına aktararak sürgünleri büyötmeye çalışmışlardır. Elde edilen bitkicikleri MS besi ortamında bitki büyüme düzenleyicileri olmaksızın 2 hafta içinde başarıyla köklendirdiklerini ve Flow sitometrik analizde, rejenerasyona uğramış bitkilerin çoğunun diploid olduğunu rapor etmişlerdir.

Usman vd. [65], ticari hıyar çeşitlerinde bitki büyüme düzenleyicilerini kullanarak somatik dokulardan embriyogenesis ve bitki rejenerasyonu elde etmeye çalışmışlardır. Sırasıyla 2,4-D (2 mg/l), NAA ve BAP (her biri 1,5 mg/l) ilave ettikleri MS besi ortamında, yaprak disk eksplantlarından maksimum kallus oluşumunu %94,16 ve %76 oranında gözlemlemişlerdir. Tohum ve kotiledon eksplantlarından maksimum kallus oranını (%77) 4,0 mg/l BAP + 0,75 mg/l NAA içeren ortamlardan sağlamışlardır. 2,4-D (5 mg/l)’nın en yüksek seviyesi üzerinde kallus oluşumu sağlanan yaprak diskinde, en yüksek (%23) embriyo oluşumunu sağlamışlardır. BAP ve BAP + NAA (5 + 1 mg/l) üzerinde kültüre aldıkları kalluslardan sırasıyla %14 ve %12 oranında rejenere sürgünler elde etmişlerdir. Bu sürgünleri MS ortamında köklendirdikten sonra, saksılara aktarmışlardır.

Han vd. [66], su kabağında kotiledon eksplantlarından etkili bir bitki rejenerasyon protokolu oluşturuldukları çalışmalarında, *in vitro* koşullarda çimlendirilen fidelerden kesilen kotiledon eksplantlarını kullanmışlardır. Maksimum sürgün rejenerasyonunu, 4 günlük fidelerden alınan kotiledon eksplantlarının proksimal parçaları 16 saatlik bir ışık periyodunda 3 mg/l BA ve 0,5 mg/l AgNO₃ ile destekledikleri MS besi ortamından elde etmişlerdir. Çalışmada kullanılan eksplantlardan %21,9-80,7 oranında sürgün

rejenerasyonu sağlamışlardır. Rejenere sürgünleri, 2-3 hafta boyunca 0,1 mg/l IAA içeren yarı MS ortamında başarıyla köklendirmişlerdir. Flow sitometrik analizi ile kültür ortamında AgNO_3 kullanarak ürettikleri bitkilerin çoğunun diploid olduğunu bildirmişlerdir.

Thiruvengadam vd. [67], kudret narında (*Momordica charantia* L.) yaprak eksplantlarından organogenesis yoluyla yüksek frekanslı sürgün rejenerasyonu sağlamaya çalışmışlardır. Çok önemli bir sebze ve tıbbi bitki olan *Momordica charantia*'nın olgunlaşmamış yaprakları ve olgun yaprak eksplantlarını kullanarak *in vitro* organogenesis için etkili bir protokol geliştirmişlerdir. *In vitro* koşullarda 15 günlük fidelardan elde edilen olgunlaşmamış yaprak eksplantları ve 45 günlük *in vivo* olgun yaprak eksplantlarını kullanmışlardır. Kullanılan eksplantları B5 vitaminli MS ortamında (ilaveten 30 g/l seker, 2,2 g/l Gelrite, 7,7 μM /l NAA ile 2,2 μM /l TDZ) kültüre almışlardır. Sonrasında elde ettikleri kallustan adventif sürgün rejenerasyonu (eksplant başına 30-40 sürgün) 5,5 μM /l TDZ, 2,2 μM /l NAA ve 3,3 μM /l gümüş nitrat (AgNO_3) içeren MS ortamından elde etmişlerdir. Sürgünleri (1,0 cm uzunluk) kallustan keserek 3,5 μM /l gibberellik asit (GA_3) içeren MS ortamında büyütmüşlerdir. Sonrasında ise 4,0 μM /l IBA ilave ettikleri MS ortamında köklendirmişler ve köklenen bitkileri sera koşullarında dış koşullara alıştırarak toprağa aktarmışlardır. Toprağa aktardıkları bitkilerin %90' ını büyütebilmişlerdir.

Kim vd. [68], Cucurbitaceae familyasında bir anaç olarak kullanılan *Cucurbita ficifolia* Bouché kotiledon eksplantlardan *in vitro* rejenerasyon protokolü geliştirmeye çalışmışlardır. Protokol çeşitli ortam ve kotiledonların farklı kombinasyonlarını içeren kültür çalışmalarından elde edilen sonuçlara dayanmıştır. Kotiledon eksplantlarının kültürü, sürgün rejenerasyon sıklığının artırılması için önemlidir. Plumuladan kesilen kotiledonun alt kısımlarının, diğer kotiledon bölgelerine kıyasla belirgin şekilde adventif sürgün üretimini artırdığını gözlemlemişlerdir. Gümüş nitrat katkılı MS ortamındaki kültür, sürgün rejenerasyonu ve kök rejenerasyonu için etkili bulmamışlardır. Etkili sürgün rejenerasyonu 1,0 mg/l zeatin ve 0,1 mg/l IAA içeren MS ortamında elde edilmiş. Rejenerasyondan elde edilen bitkiler büyütüldükten sonra 0,1mg/l NAA içeren MS ortamında 10-15 günlük alt kültürden sonra başarılı bir şekilde köklendirerek dış ortama alıştırmışlardır.

Dong vd. [69], karpuz (*Citrullus vulgaris*) bitkisinin kotiledonlarından etkili bitki rejenerasyonu protokolü oluşturmaya çalışmışlardır. Sekiz karpuz çeşidinin fidelerinden farklı yaştaki kotiledonları alarak ve farklı kombinasyonlarda bitki hormonlarını kullanmışlar ve MS besi ortamında kültüre almışlardır. En yüksek sürgün rejenerasyonunu (%60-92) 5,0 mg/l BA ve 0,5 mg/l IAA içeren MS ortamında kültüre alınan 5 günlük kotiledon eksplantlardan elde etmişlerdir. 0,2 mg/l kinetin içeren MS ortamında hem sürgünlerin uzatılması ve tomurcuk sayısını artırmışlar hem de eksplant başına 5-10 sürgün elde etmişlerdir. Uzatılan sürgünler 0,1 mg/l NAA içeren MS ortamında köklendirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan 5 günlük fidelerden alınan kotiledonlar sürgün rejenerasyonuna karşı daha duyarlı olduğu ortaya konmuş

Akasaka vd. [70], iki kavun çeşidinde (*Cucumis melo* L., var. *cantalupensis* ve *C. melo* L., var. *reticulatus*) somatik embriyogenesis yoluyla bitki rejenerasyonu ve *Agrobacterium* aracılığıyla transformasyon çalışmışlardır. Eksplant olarak, kotiledon ve hipokotil dahil olmak üzere olgun tohumlardan 1-4 mm²'lik kesitleri kullanmışlardır. Embriyo oluşumunu teşvik etmek için eksplantları, 2 mg/l 2,4-D ve 0,1 mg/l BA içeren sıvı MS besi ortamında kültüre almışlardır. Dört haftalık kültürden sonra tohum başına ortalama 116,7 ve 148,6 (sırasıyla Vedrantais ve Earl's Favourite Fuyu A çeşitlerinden) embriyo elde ettiklerini bildirmiştir. Tohumları sıvı MS ortamına transfer ettikten iki hafta sonra çimlenme sıklığı Vedrantais'de %80, Earl's Favourite Fuyu A.'da %35 olarak tespit etmişlerdir. Rejenerasyondan elde edilen bitkilerin %60'ından fazlası diploid olduğu ve fenotip olarak normal bir büyüme gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Bu protokolu kullanarak Vedrantais'de *Agrobacterium* aracılığıyla transformasyon yapmışlardır.

Jelaska [71], kabak eksplantlarında embriyogenesis ve organogenesis adlı çalışmasında embriyogenik kalluslar, 30 g/l glukoz ve büyüme maddelerinden veya bunların kombinasyonlarının ilavesi (IBA, 2,4-D, IAA, NAA, adenin (doğal) ve kinetin) ile MS besi ortamında, kabak hipokotil eksplantlarını kültüre alarak çok sayıda embriyo ve adventif tomurcuklar elde etmiştir. Ayrıca yapılan çalışmada embriyonik kallus oluşumunun her bir bitkinin genetik yapısına bağlı olduğunu bildirmiştir.

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu araştırma, 2014 yılında Erciyes Üniversitesi Betül-Ziya EREN Genom ve Kök Hücre Merkezi Bitki Biyoteknoloji Birimi Doku Kültürü Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

2.1. Materyal

Araştırmada Kayseri ve çevresinde tarımı yapılan yerel kabak popülasyonundan temin edilen çerezlik kabak tohumları kullanılmıştır ve deneme beş aşamalı olarak yürütülmüştür.

Birinci aşama: Kabak tohumları için uygun *in vitro* çimlenme ortamı belirlenmeye çalışılmıştır. Bunun için farklı MS ve şeker konsantrasyonları içeren *in vitro* çimlenme ortamlarında deneme kurulmuş ve en iyi ortama karar verilmeye çalışılmıştır.

İkinci aşama: Organogenesis (adventif rejenerasyon) için uygun büyümeyi düzenleyici ve dozunun belirlenmesi için bazı sitokinin ve oksin hormonlarının birbiriyle olan kombinasyonları hazırlanmış ve rejenerasyona en iyi sonucu veren kültür ortamı belirlenmeye çalışılmıştır.

Üçüncü aşama: Rejenere olan bitkilerin mikro çoğaltımını sağlayacak uygun büyümeyi düzenleyici kombinasyon ve dozu belirlenmeye çalışılmıştır.

Dördüncü aşama: Mikro çoğaltım sonucu çoğaltılan bitkicikler için optimum kök oluşturacak büyümeyi düzenleyici kombinasyon ve dozu belirlenmeye çalışılmıştır.

Beşinci aşama: Çalışmadan elde edilen veriler bilgisayarda “The SAS for Windows” programı ile tesadüf parselleri faktöriyel deneme desenine göre varyans analizine tabi tutulmuştur. Muamele ortalamaları “Duncan” testi ile karşılaştırılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. *İn Vitro* Çalışmalarında İzlenen Yöntem

2.2.1.1. Tohumların Yüzey Dezenfeksiyonu

Tohum kabuğu çıtlatılan kabak tohumları soyulup, steril kabin içerisinde yüzey sterilizasyonu için öncelikle %70'lik etil alkolde 1 dakika kadar çalkalanıp, daha sonra alkolü uzaklaştırmak için tohumlar 1 defa steril su ile 5 dakika durulanmıştır. Etkili bir tohum dezenfeksiyonu için, en ideal sodyum hipoklorit (NaClO) konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla %1, %2 ve %3'lük NaClO içerisinde 20 dakika tutularak (Şekil 2.1) steril saf su ile tohumlar 5 defa durulanmıştır. Steril filtre kağıtları üzerinde kurutulan tohumlar farklı MS ve şeker konsantrasyonları içeren ortamlarda çimlendirmek için ekilmiştir.



Şekil 2.1. Kabak tohumlarının sterilizasyon aşamaları

2.2.1.2. Besin Ortamı ve Bitki Büyüme Düzenleyicilerin Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Çalışma için hazırlanan MS besin ortamı otoklavda 1.5 atmosfer basınç altında 120 °C’de 20 dk. tutularak sterilize edilmiştir. Bu süre ortam hacmine bağlı olarak değişebilir. Aynı hacimdeki bir ortam daha uzun sürede otoklavlandığı zaman karamelize olabilir.

Bazı bitki büyüme düzenleyici stok solüsyonları otoklavlama sırasında yüksek sıcaklıktan olumsuz etkilenebildikleri için filtre sterilizasyonu kullanılıp, MS besin ortamına otoklavlama sonrasında ilave edilmesi gerektiği için çalışmada kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerin ne şekilde çözülüp stok solusyon hazırlandığı ve sterilize edildiği Tablo 2.1’de gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan TDZ, IAA ve IBA yüksek sıcaklıktan olumsuz etkilenebildikleri için filtre sterilizasyonu kullanılıp, MS besin ortamına otoklavlama sonrasında ilave edilmiştir. NAA ve BAP ise besin ortamına otoklavlanmadan önce ilave edilmiş ve besin ortamıyla birlikte sterilizasyonu sağlanmıştır.

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerin sterilizasyon yöntemi ve kullanılan çözücü

Tip	Bitki Büyüme Düzenleyici	Sterilizasyon Yöntemi	Çözücü	Açıklama
Oksinler	NAA	Otoklav	1N NaOH	
	IAA	Otoklav/Filtre	Etanol / 1N NaOH	Otoklavlama sırasında etkinliği bir miktar azalabilir.
	IBA	Otoklav/Filtre	Etanol / 1N NaOH	Otoklavlama sırasında etkinliği bir miktar azalabilir.
	GA ₃	Filtre	Etanol	Otoklavlama sırasında etkinliği bir miktar azalabilir
Sitokininler	BAP	Otoklav/Filtre	1N NaOH	Otoklavlama sırasında etkinliği bir miktar azalabilir.
Sitokinin benzeri aktivite gösteren	TDZ	Otoklav/Filtre	Etanol	Otoklavlama sırasında etkinliği bir miktar azalabilir.

Çalışmada kullanılan bitki büyüme düzenleyici stok solüsyonları 10 mg olarak Tablo 2.1’de belirtildiği şekilde 1N NaOH veya Etanol ile çözüldükten sonra son hacmi 10 ml steril saf su ile tamamlanıp son konsantrasyon 1mg/ml olarak hazırlanmıştır.

2.2.1.3. Çimlendirilme Çalışmaları

Steril kabinde dezenfekte edilen tohumlar, kurutma kağıtları üzerinde yaklaşık 2 dakika kadar kurumaya bırakıldıktan sonra çimlendirme ortamı olarak farklı MS temel besi ortamına ait olan makro ve mikro elementleri, vitaminleri ve FeNaEDTA içerikleri (Tablo 2.2) ile 30 g/l sukroz ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan çimlenme ortamlarına steril koşullarda her kavanoza 6-7 kabak tohumu ekimi yapıp 25°C’de 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta sahip büyütme odasında çimlendirilip en ideal çimlenme ortamı belirlenmeye çalışılmıştır (Şekil 2.2).

➤ Kabak tohumları için uygun çimlenme ortamının belirlenmesi için;

1. 2 kat MS mineral tuz ve vitaminleri ile 30 g/l sukroz içeren ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan 2MS besin ortamında,
2. Tam MS ile 30 g/l sukroz içeren ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan 1MS besin ortamında,
3. Yarım MS ile 30 g/l sukroz içeren ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan ½MS besin ortamında,
4. 30 g/l sukroz içeren ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan 0MS besin ortamında,
5. Sukroz içermeyen ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan Agar besin ortamında tohumların ekimi yapıp, çimlenme oranları belirlenip, morfolojik gözlemler yapılmıştır.

Tablo 2.2. *İn vitro* rejenerasyon sırasında kullanılan MS ortamı [72].

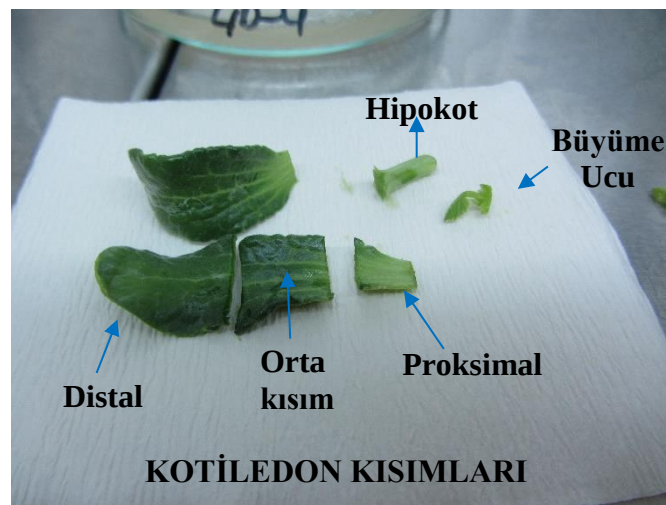
Bileşikler	Konsantrasyon (mg/l)
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
CaC ₂ .H ₂ O	440
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
KI	0,83
H ₃ BO ₃	6,2
MnSO ₄ .H ₂ O	15,6
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
CoCl ₂ .H ₂ O	0,025
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
Fe-NaEDTA	37,3
Vitaminler	
Thiamine	1
Nicotinic-acit	0,5
Prydoxine	0,5
Glycine	2
Organik maddeler	
<i>Myo-inositol</i>	100,0

**Şekil 2.2.** Kabak tohumlarının kültür ortamına sivri kısım aşağı gelecek şekilde ekimi

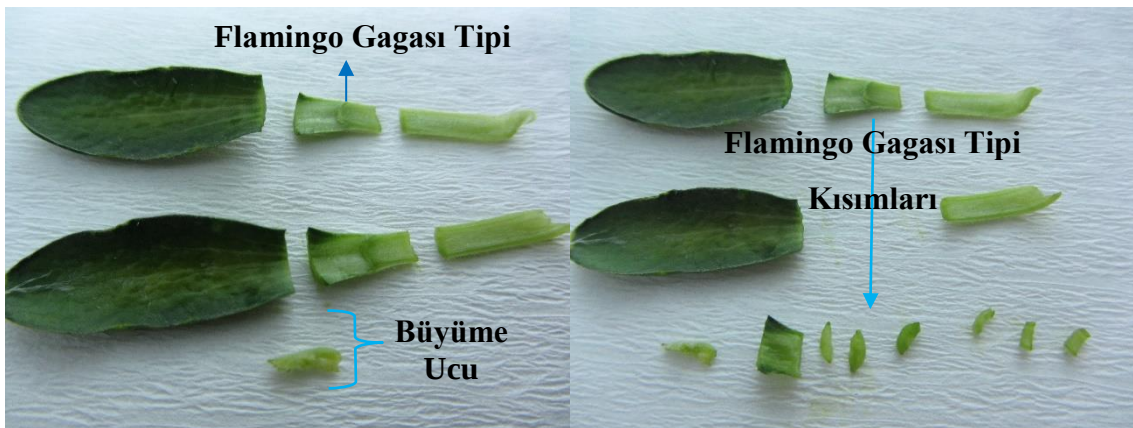
2.2.1.4. Eksplant Tipleri

Çimlenen tohumlardan elde edilen 4-6 günlük fidelerin büyüme ucu uzaklaştırılıp kotiledonunun hipokotile bağlanan (proksimal) kısımları, orta kısmı ve uç kısımlarından (distal) olmak üzere 3 tip eksplant (Şekil 2.3), hipokotil ve Flamingo gagası tipi Eksplant [73] (Şekil 2.4) olmak üzere 5 farklı eksplant tipi elde edilip rejenerasyonda eksplant

tiplerinin etkisine bakılmıştır. İzole edilen eksplantlar farklı oranlarda BAP'ın yalnız ve BAP+NAA, BAP+IAA ve BAP+TDZ ile olan kombinasyonları ile TDZ'nin yalnız ve TDZ'nin TDZ+IAA, TDZ+NAA ile olan kombinasyonları içeren MS besin ortamında ön çalışmada kullanılıp rejenerasyona en iyi cevap veren eksplant tipi ve bitki büyüme düzenleyici kombinasyonu üzerinden deneme kurulmuştur (Tablo 2.3). Belirlenen eksplant tipi ve bitki büyüme düzenleyici kombinasyonları ile MS besi ortamlarına 4 tekerrürlü olarak deneme kurulmuştur.



Şekil 2.3. Kotiledon ve hipokotil eksplantların hazırlanması



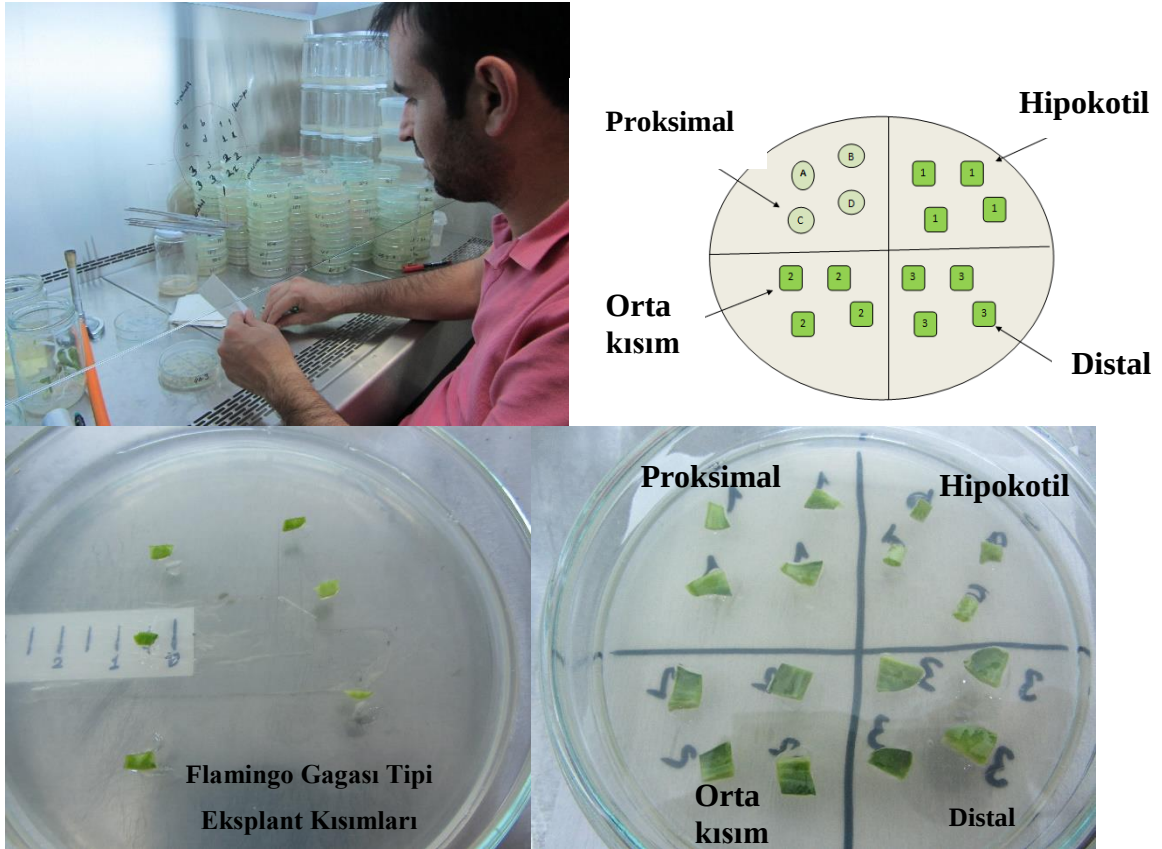
Şekil 2.4. Flamingo gagası tipi eksplantların hazırlanması [73].

Tablo 2.3. *İn vitro* rejenerasyon sırasında kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyonları

BAP (mg/l)	BAP+NAA (mg/l)	BAP+IAA (mg/l)	BAP+TDZ (mg/l)	TDZ (mg/l)	TDZ+NAA (mg/l)	TDZ+IAA (mg/l)
0,5	0,5+0,25	0,5+0,25	1,0+0,25	0,5	0,5+0,25	0,5+0,25
1,0	0,5+0,5	0,5+0,5	1,0+0,5	1,0	0,5+0,5	0,5+0,5
2,0	1,0+0,25	1,0+0,25	2,0+0,25	2,0	1,0+0,25	1,0+0,25
3,0	1,0+0,5	1,0+0,5	2,0+0,5	3,0	1,0+0,5	1,0+0,5
	2,0+0,25	2,0+0,25	3,0+0,25		2,0+0,25	2,0+0,25
	2,0+0,5	2,0+0,5	3,0+0,5		2,0+0,5	2,0+0,5
	3,0+0,25	3,0+0,25			3,0+0,25	3,0+0,25
	3,0+0,5	3,0+0,5			3,0+0,5	3,0+0,5

2.2.1.5. Eksplantların Rejenerasyon Ortamına Yerleştirilmesi

Kotiledonun hipokotile bağlanan (proksimal) kısımlarından, uç kısımlarından (distal) ve orta kısımlarından elde edilen eksplant tipleri, hipokotil ve Flamingo gagası tipi eksplantları dikime uygun olacak şekilde kesildikten sonra ön çalışma için hazırlanmış olan bitki büyüme düzenleyicileri (Tablo 2.3) içeren petrilere aktarılmış (Şekil 2.5) ve rejenerasyon için en iyi eksplant tipi belirlenmiştir. En iyi sonuç veren eksplant tipi üzerinden belirlenen bitki büyüme düzenleyici kombinasyonlarını içeren MS besi ortamlarına 4 tekerrürlü olarak deneme kurulmuştur. Elde edilen eksplantların adaksiyal kısmı (dış yüzey) besin ortamına temas edecek şekilde MS besin ortamına yerleştirilmiştir. İçerisinde rejenerasyon ortamı bulunan 8 cm çapındaki cam petrilere, eksplantlar yerleştirilip, 25 °C sıcaklığa ayarlı, 8 saat karanlık ve 16 saat aydınlık ışıklandırma koşullarına sahip büyütme odasına aktarılmıştır.



Şekil 2.5. Rejenerasyonda eksplant tiplerinin etkisini belirlemek için kotiledon, hipokotil ve Flamingo gagası tipi eksplantların besin ortamına ekilmesi

2.2.1.6. Ortamların Bileşimi

Uygun rejenerasyon ortamının belirlenmesi amacıyla farklı konsantrasyonlardaki BAP'ın yalnız ve BAP+NAA, BAP+IAA ve BAP+TDZ ile olan kombinasyonları ile TDZ'nin yalnız ve TDZ'nin TDZ+IAA, TDZ+NAA ile olan kombinasyonları içeren MS besi ortamında deneme kurulmuştur. Besin ortamlarına 30 g/l sakkaroz, %0,75 agar ilave edilip pH 5,7'e ayarlandıktan sonra 1,5 atm. basınçta 121 °C'de sterilize edilmiştir.

2.2.1.7. *İn vitro* Sürgünlerin Mikro Çoğaltım Çalışmaları

Rejenere olan sürgünler 1-3 cm uzunluğa ulaştığı zaman farklı besi ortamı içerikleri içeren MS besin ortamlarında mikro çoğaltım amaçlı alt kültüre alınmıştır. Bu besin ortamları şunlardır;

- MS mineral tuz ve vitaminleri ile 30 g/l sukroz içeren ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan ortam
- 0,01 mg/l BAP ilaveli MS mineral tuz ve vitaminleri ile 30 g/l sukroz içeren ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan ortam
- 0,1 mg/l BAP ilaveli MS mineral tuz ve vitaminleri ile 30 g/l sukroz içeren ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan ortam,
- 0,1 mg/l BAP+1 mg/l GA₃ ilaveli MS mineral tuz ve vitaminleri ile 30 g/l sukroz içeren ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan ortam

2.2.1.8. *İn vitro* Sürgünlerin Köklendirilmesi Çalışmaları

Mikro çoğaltım sonucu elde edilen sürgünler 3-5 cm uzunluğa ulaştığı zaman farklı oranlarda IBA (Indol-3-bütirik asit), IAA ve NAA içeren MS besin ortamı ile ½MS ve 1MS ortamında köklenmeye alınıp köklenme kabiliyetleri incelenmiştir. Kullanılan tüm besin ortamların pH'sı 1 N NaOH ya da 1 N HCl kullanılarak 5.7'ye ayarlandıktan sonra 1,2 atmosfer basınç altında ve 121 °C'de 20 dakika tutularak steril edilmiştir. Tohum sterilizasyonu ve tüm doku kültürü işlemleri steril kabin içinde yürütülmüştür. Kaplar, saf su, petri kutuları ve kavanozların sterilizasyonunda 1.2 atmosfer, 121°C ve 20 dakikaya ayarlı otoklav kullanılmıştır.

2.2.1.9. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi:

Rejenerasyon denemeleri 4 tekerrürlü olarak Tesadüf Blokları Deneme Desenine göre kurulmuştur. Her tekerrürde 6 eksplantın kültüre alındığı 100x15 mm'lik petri kutuları kullanılmıştır. Çalışmadan elde edilen veriler bilgisayarda "The SAS for Windows" programı ile varyans analizine tabi tutulmuştur. Muamele ortalamaları "Duncan" testinde %5'lik önem seviyesine göre karşılaştırılmıştır. Yüzde değerler istatistik analizi yapılmadan önce "arcsin transformasyon"una tabi tutulmuş ve transformasyon değerleri ile ilgili tabloda parantez içeriğinde verilmiştir.

3. BÖLÜM

BULGULAR

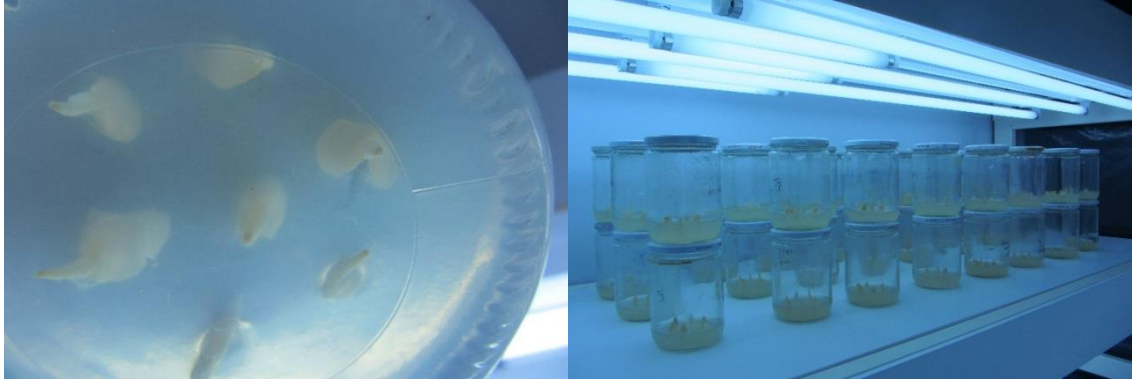
3.1. Tohumların Yüzey Dezenfeksiyonu Çalışmaları

Her bitki tohumunun yapısı farklı olabildiği gibi bu tohumların barındırdığı patojenler de farklı olabilir. Bu patojenlerden tohumların tamamen arındırılması için farklı dezenfektanlar mevcut ve bu dezenfektanların uygulanma sürelerinde farklılıklar olabiliyor. *İn vitro* çalışmalarda en yaygın kullanılan dezenfektanlardan biri de sodyum hipoklorit (NaClO)'tir. Yaptığımız çalışmada tohum kabuğu soyulan kabak tohumları, steril kabin içerisinde yüzey sterilizasyonu için öncelikle %70'lik etil alkolde 1 dakika kadar çalkalanmış, daha sonra alkolü uzaklaştırmak için tohumlar 1 defa steril su ile 5 dakika kadar durulanmıştır. Dezenfeksiyon için sodyum hipoklorit kullanılmıştır. En ideal sodyum hipoklorit konsantrasyonunu belirlemek için %1, %2 ve %3'lük NaClO içerisinde 20 dakika tutulan kabak tohumları steril saf su ile 5 kez durulandıktan sonra steril filtre kağıtları üzerinde kurutup farklı MS ve şeker konsantrasyonları içeren ortamlarda ön çimlendirmede kullanılmıştır. Yapılan gözlemler sonucunda sodyum hipoklorit konsantrasyonunun çimlendirmeye herhangi olumsuz bir etkiye neden olmayıp uygulanan tüm sodyum hipoklorit kombinasyonlarında tohum dezenfeksiyonu sağlanmıştır. Daha sonra yapılan rejenerasyon çalışmalarında %1'lik sodyum hipoklorit tercih edilmiştir (Şekil 2.1).

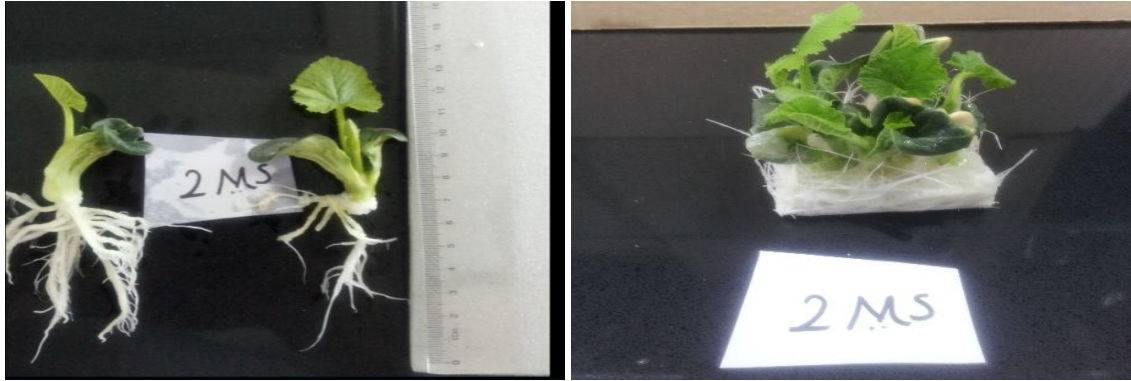
3.2. Çimlendirilme Çalışmaları

Steril kabinde %1'lik sodyum hipoklorit ile steril edilen tohumlar, çimlendirme ortamı olarak farklı konsantrasyonlarında MS temel besi ortamlarında çimlendirme yapılmıştır. Bunun için her kavanoza 6-7 kabak tohumu ekimi yapıp 25°C'de 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta sahip büyütme odasında çimlendirildikten 5 gün sonraki çimlenme oranları tespit edilip en ideal çimlenme ortamı belirlenmiştir. Çalışma sonunda çimlenme yüzdesi olarak incelendiğinde %100'lük çimlenme oranıyla en yüksek çimlenme 2MS ortamında olmuştur. Bunu sırasıyla %98,18 ile ½MS ve %96,82 ile 1MS takip etmiştir

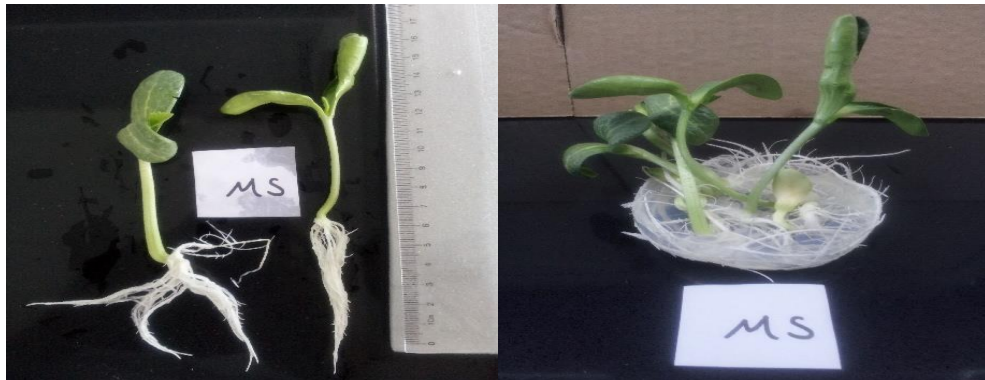
(Tablo 3.1). Yapılan morfolojik gözlemlerde (Şekil 3.1, 3.2, 3.3., 3.4, 3.5, 3.6 ve 3.7) sadece çimlenme oranının yeterli olmadığı, aynı zamanda sağlıklı bir büyüklüğe gelmiş kotiledon, hipokotil ve Flamingo gagası tipi eksplantların da elde edilmesi önemli olduğu için burada en ideal eksplantların temin edildiği tam MS, 30 g/l sukroz içeren ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan 1MS besin ortamı (Şekil 3.3) en uygun çimlendirme ortamı olarak kabul edilmiştir.



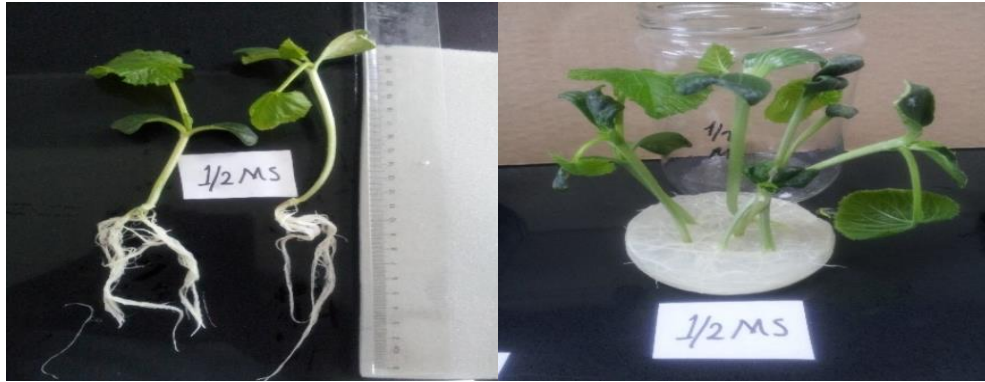
Şekil 3.1. Kabak tohumlarında ilk çimlenme gözlemleri



Şekil 3.2. 2 kat MS, %3 sukroz ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan 2MS besin ortamında çimlenmiş bitkiler



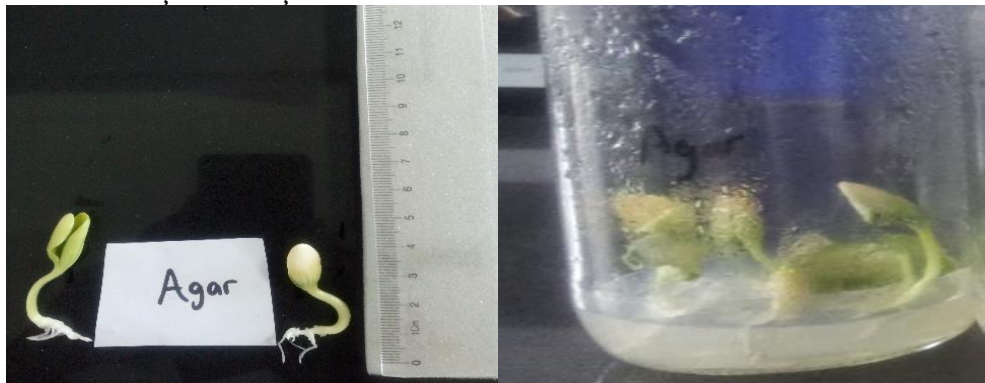
Şekil 3.3. Tam MS, 30 g/l sukroz ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan 1MS besin ortamında çimlenmiş bitkiler



Şekil 3.4. Yarım MS, 30 g/l sukroz ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan 1/2MS besin ortamında çimlenmiş bitkiler



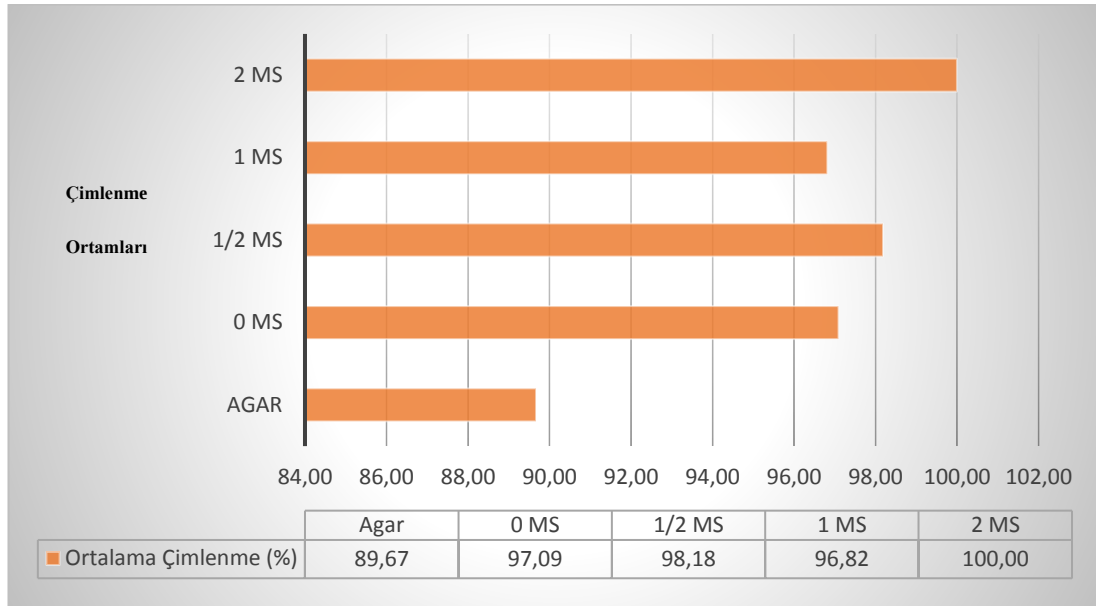
Şekil 3.5. 30 g/l sukroz ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan 0MS besin ortamında çimlenmiş bitkiler



Şekil 3.6. Sukroz içermeyen ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan 0MS besin ortamında çimlendirme



Şekil 3.7. Farklı MS konsantrasyonlarında çimlendirme sonrası morfolojik gözlemler

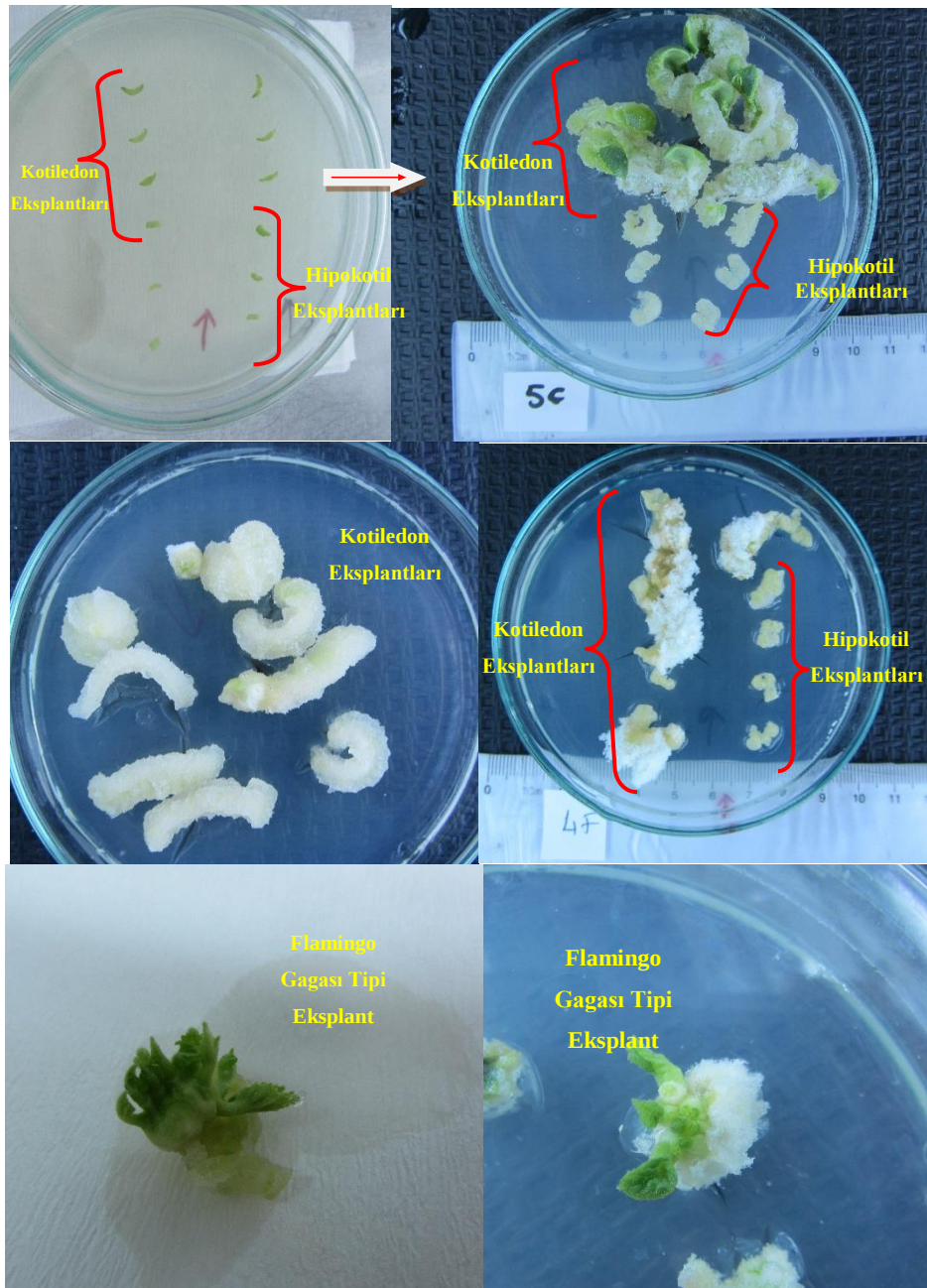


Şekil 3.8. Farklı MS konsantrasyonlarında çimlendirme karşılaştırmaları

3.3. Rejenerasyon Denemeleri Bulguları

3.3.1. Rejenerasyonda Eksplant Tiplerinin Etkisi

Rejenerasyonda kullanılmak üzere eksplant olarak 4-6 günlük fidelerin büyüme ucu uzaklaştırılıp kotiledonunun proksimal, distal ve orta kısmı ile hipokotil ve Flamingo gagası tipi Eksplant (Şekil 2.3 ve Şekil 2.4) olmak üzere 5 farklı eksplant tipi kullanılmıştır. İzole edilen eksplantlar farklı oranlarda BAP'ın yalnız ve BAP+NAA, BAP+IAA ve BAP+TDZ ile olan kombinasyonları ile TDZ'nin yalnız ve TDZ'nin TDZ+IAA ve TDZ+NAA ile olan kombinasyonları içeren MS besin ortamında ön çalışmada kullanılıp rejenerasyona en iyi cevap veren eksplant tipi incelenmiştir. Yapılan gözlemler sonucunda kotiledonunun proksimal, distal ve orta kısmı ile hipokotil bölgelerinden elde edilen eksplantlarda sadece irileşme ve kallus oluşumu gözlenmiştir. Herhangi bir rejenerasyon elde edilmemiştir. Flamingo gagası tipi eksplantlarda sürgün rejenerasyonları gözlenmiştir. Rejenerasyon için farklı büyüme düzenleyicileri içeren MS ortamlarında Flamingo gagası tipi eksplantlar kullanılmıştır.

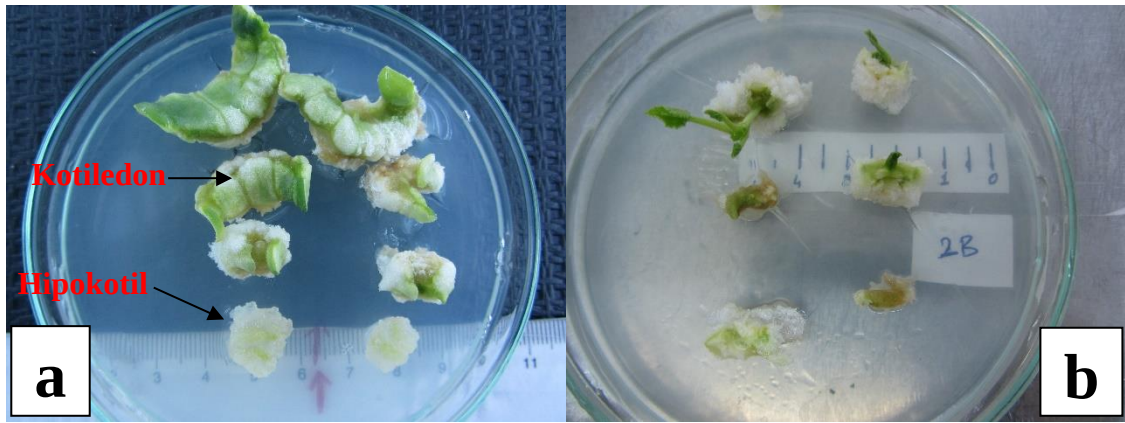


Şekil 3.9. Rejenerasyon için uygun eksplant tipinin belirlenmesinde ön çalışma

3.3.2. Rejenerasyonda Ortam Bileşiminin Etkisi

Kabakta (*Cucurbita pepo* L.) en uygun *in vitro* bitki rejenerasyon ortamının belirlenmesi amacıyla farklı konsantrasyonlardaki BAP'ın yalnız ve BAP+NAA, BAP+IAA ve BAP+TDZ ile olan kombinasyonları ile TDZ'nin yalnız ve TDZ'nin TDZ+IAA, TDZ+NAA ile olan kombinasyonları (Tablo 2.3) içeren MS besi ortamında deneme kurulmuştur. Besin ortamlarına 30 g/l sakkaroz, %0,75 agar ilave edilip pH 5,7'e ayarlandıktan sonra 1,5 atm. basınçta 121 °C'de sterilize edilmiştir. Çalışmada ilk yapılan

denemelerde kotiledon, hipokotil ve Flamingo gagası tipi eksplantları kullanılarak denenmiştir. Fakat kotiledon ve hipokotil eksplantların hiçbirinde rejenerasyon elde edilmemiştir. Sadece dokularda kallus oluşumu ve irileşme meydana gelmiştir (Şekil 3.10a). Flamingo gagası tipi eksplantlarda adventif sürgün rejenerasyonu elde edilmiş (Şekil 3.10b) ve bu bulgular doğrultusunda denemede eksplant olarak Flamingo gagası tipi eksplant olarak kullanılmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3.10. Rejenerasyon için uygun eksplant tipinin belirlenmesi için ön çalışma
a; Kotiledon ve Hipokotil içeren ortamda kallus oluşumu ve irileşme
b; Flamingo gagası tipi Eksplant içeren ortamda rejenerasyon

3.3.2.1. Farklı BAP, BAP+NAA ve BAP+IAA Konsantrasyonları ve Kombinasyonları İçeren MS Ortamlarının Sürgün Rejenerasyonuna Etkisi

Kabak tohumlarında en uygun *in vitro* bitki rejenerasyon ortamının belirlenmesi amacıyla Flamingo gagası tipi eksplantları farklı konsantrasyonlardaki BAP'ın yalnız ve BAP+NAA ile BAP+IAA kombinasyonlarını (Tablo 2.3) içeren MS besi ortamlarında adventif sürgün rejenerasyonuna etkisi araştırılmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda BAP'ın yalnız, NAA ve IAA ile bitki büyüme düzenleyicilerinin kabağın beş günlük fidelerinden elde edilen Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplant yüzdesine ait varyans analizi sonuçları Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Farklı BAP, NAA ve IAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlara ait varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi		
		Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri
Genel	59	18344,696		
Ortam	14	6622,534	473,038	1.82
Hata	45	11722,161	260,492	

Tablo 3.2. Farklı BAP, NAA ve IAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlar

Ortamlar (mg/l)			Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi		
BAP	NAA	IAA			
0,5			45,83	(42,19)	ab
1,0			33,33	(34,51)	ab
2,0			41,66	(39,75)	ab
0,5	0,25		70,83	(57,87)	a
0,5	0,5		20,83	(26,84)	b
1,0	0,25		37,50	(37,31)	ab
1,0	0,5		20,83	(26,84)	b
2,0	0,25		50,00	(48,43)	ab
2,0	0,5		37,50	(37,30)	ab
0,5		0,25	25,00	(25,70)	b
0,5		0,5	41,67	(39,76)	ab
1,0		0,25	66,66	(58,52)	a
1,0		0,5	41,67	(40,12)	ab
2,0		0,25	20,83	(23,63)	b
2,0		0,5	29,17	(28,87)	b

Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0,05$ düzeyinde önemlidir.

Transformasyon değerleri tabloda parantez içerisinde verilmiştir.

Tablo 3.1. incelendiğinde yapılan varyans analizi sonucunda Flamingo gagası tipi eksplantın kullanıldığı ortamların sürgün oluşturan eksplant yüzdesine etkisi önemsiz bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan sonuçları Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.3. Farklı BAP, NAA ve IAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Sürgün Veren Eksplant Başına Sürgün Sayısı		
		Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri
Genel	59	185,510		
Ortam	14	66,696	939,215	1,80*
Hata	45	118,814	4,764	

*:%5 düzeyinde önemli

Tablo 3.4. Farklı BAP, NAA ve IAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı

Ortamlar (mg/l)			Sürgün Veren Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
BAP	NAA	IAA	
0,5			1,62 b
1,0			2,50 b
2,0			1,62 b
0,5	0,25		1,36 b
0,5	0,5		1,58 b
1,0	0,25		1,12 b
1,0	0,5		2,37 b
2,0	0,25		2,62 b
2,0	0,5		1,70 b
0,5		0,25	1,18 b
0,5		0,5	1,25 b
1,0		0,25	1,87 b
1,0		0,5	5,33 a
2,0		0,25	3,37 ab
2,0		0,5	1,79 b

Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0,05$ düzeyinde önemlidir.

Farklı BAP, NAA ve IAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplant yüzdesi en yüksek %70,83 ile 0,5 mg/l BAP ve 0,25 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir (Şekil 3.11a). Diğer ortalamalar ise %66,66 ile %20,83 arasında değişiklik göstermiştir.

Sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı ile ilgili varyans analizi Tablo 3.3’de verilmiştir. Varyans analizi sonucuna göre sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı %5 düzeyinde önemli bulunmuştur. Sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı ortalamaları

değerlendirildiğinde en fazla sürgün sayısı 5,33 adet ile 1 mg/l BAP ile 0,5 mg/l IAA içeren besin ortamından elde edilmiştir (Tablo 3.4).

3.3.2.2. Farklı BAP ve BAP+TDZ Konsantrasyonları ve Kombinasyonları İçeren MS Ortamlarının Sürgün Rejenerasyonuna Etkisi

Kabakta en yüksek *in vitro* bitki rejenerasyon ortamının belirlenmesi amacıyla Flamingo gagası tipi eksplantları farklı konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda BAP ve BAP+TDZ bitki büyüme düzenleyicilerinin MS besi ortamlarında adventif sürgün rejenerasyonuna etkisinin araştırıldığı çalışmada beş günlük fidelerinden elde edilen Flamingo gagası tipi eksplantları kullanılmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda büyüme düzenleyicilerinin Flamingo gagası tipi eksplantında sürgün oluşturan eksplant yüzdesine ait varyans analizi sonuçları Tablo 3.5’da verilmiştir.

Tablo 3.5. Farklı BAP ve BAP+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlara ait varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi		
		Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri
Genel	35	11914,509		
Ortam	8	6522,185	815,273	4,08*
Hata	27	5392,323	199,715	

*:%5 düzeyinde önemli

Tablo 3.5 İncelendiğinde Flamingo gagası tipi eksplantın kullanıldığı ortamların sürgün oluşturan eksplant yüzdesine etkisi %5 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Tablo 3.6’da verilmiştir.

Tablo 3.6. Farklı BAP ve BAP+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlar

Ortamlar (mg/l)		Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi
BAP	TDZ	
1,00		33,33 (34,50) a
2,00		41,66 (39,74) a
3,00		25,00 (29,64) ab
1,00	0,25	8,33 (8,81) bc
1,00	0,5	29,17 (28,51) abc
2,00	0,25	16,66 (24,04) abc
2,00	0,5	45,83 (42,54) a
3,00	0,25	4,17 (6,01) c
3,00	0,5	4,17 (6,01) c

Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0,05$ düzeyinde önemlidir.

Transformasyon değerleri tabloda parantez içerisinde verilmiştir.

Farklı BAP ve BAP+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplant yüzdesi en yüksek %45,83 ve 41,66 ile 2,0 mg/l BAP ve 0,5 mg/l TDZ ile 2,0 mg/l BAP içeren besin ortamlarından elde edilmiştir (Şekil 3.11b).

Sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı ile ilgili varyans analizi Tablo 3.7’de, sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı ortalamaları ile ilgili Duncan testi değerlendirme sonuçları ise Tablo 3.8’de verilmiştir.

Tablo 3.7. Farklı BAP ve BAP+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Sürgün Veren Eksplant Başına Sürgün Sayısı		
		Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri
Genel	35	105,404		
Ortam	8	54,558	6,819	3,62**
Hata	27	50,846	1,883	

** : %1 düzeyinde önemli

Varyans analizi sonucuna göre sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı %1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Tablo 3.8 incelendiğinde 9 ortamda da adventif sürgün rejenerasyonu elde edilmiştir. Sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı ortalamaları ile ilgili değerlendirme sonucunda en fazla sürgün sayısı 4,5 adet ile 3 mg/l BAP içeren besin ortamından elde edilmiş olup (Şekil 3.11c), diğer besin ortalamalarında ise sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı 0,25 ile 2,50 adet arasında değişiklik göstermiş ve bu ortamlar arasındaki fark önemsiz olup, istatistiksel olarak aynı gruba girmiştir.

Tablo 3.8. Farklı BAP ve BAP+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı

Ortamlar (mg/l)		Sürgün Veren Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
BAP	TDZ	
1,00		2,50 b
2,00		1,62 b
3,00		4,50 a
1,00	0,25	0,62 b
1,00	0,5	1,58 b
2,00	0,25	1,00 b
2,00	0,5	2,40 b
3,00	0,25	0,75 b
3,00	0,5	0,25 b

Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0,05$ düzeyinde önemlidir.

3.3.2.3. Farklı IAA+BAP ve IAA+TDZ Konsantrasyonları ve Kombinasyonları İçeren MS Ortamlarının Sürgün Rejenerasyonuna Etkisi

IAA'ın farklı konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda BAP ve TDZ içeren MS ortamlarında en yüksek adventif sürgün rejenerasyonu belirlemek için Flamingo gagası tipi eksplantları kullanılmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda büyüme düzenleyicilerinin Flamingo gagası tipi eksplantında sürgün oluşturan eksplant yüzdesine ait varyans analizi sonuçları Tablo 3.9'da verilmiştir.

Tablo 3.9. Farklı IAA+BAP ve IAA+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlara ait varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi		
		Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri
Genel	47	19302,828		
Ortam	11	7318,047	665,277	2,00
Hata	36	11984,781	332,910	

Tablo 3.9 incelendiğinde yapılan varyans analizi sonucunda Flamingo gagası tipi eksplantların kullanıldığı ortamlarda Sürgün oluşturan eksplant yüzdesine etkisi önemsiz bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan sonuçları ise Tablo 3.10’de verilmiştir.

Tablo 3.10. Farklı IAA+BAP ve IAA+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlar

Ortamlar (mg/l)			Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi		
IAA	BAP	TDZ			
0,25	0,50		25.00	(25,70)	b
0,5	0,50		41.67	(39,76)	ab
0,25	1,00		66.66	(58,52)	a
0,5	1,00		41.67	(40,12)	ab
0,25	2,00		20.83	(23,63)	b
0,5	2,00		29.17	(28,87)	b
0,25		0,50	16.66	(20,83)	b
0,5		0,50	8.33	(12,02)	b
0,25		1,00	50.00	(41,75)	ab
0,5		1,00	20.83	(23,63)	b
0,25		2,00	16.67	(17,26)	b
0,5		2,00	20.83	(26,84)	b

Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0,05$ düzeyinde önemlidir. Transformasyon değerleri tabloda parantez içerisinde verilmiştir.

Farklı IAA+BAP ve IAA+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplant yüzdesi en yüksek %66,66 ile 0,25 mg/l IAA ve 1,0 mg/l BAP içeren MS ortamından elde edilmiştir (Şekil 3.11d).

Sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı ile ilgili varyans analizi Tablo 3.11’de, sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı ortalamaları ile ilgili Duncan testi değerlendirme sonuçları ise Tablo 3.12’de verilmiştir.

Tablo 3.11. Farklı IAA+BAP ve IAA+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonların Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Sürgün Veren Eksplant Başına Sürgün Sayısı		
		Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri
Genel	47	157,058		
Ortam	11	86,960	7,905	4,06**
Hata	36	70,097	1,947	

** : %1 düzeyinde önemli

Varyans analizi sonucuna göre sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı %1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Tablo 3.12 incelendiğinde 12 ortamda da adventif sürgün rejenerasyonu elde edilmiştir. Sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı ortalamaları ile ilgili değerlendirme sonucunda en fazla sürgün sayısı 5,33 adet ile 0,5 mg/l IAA ile 1,0 mg/l BAP içeren besin ortamından elde edilmiştir (Şekil 3.11e).

Tablo 3.12. Farklı IAA+BAP ve IAA+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı

Ortamlar (mg/l)			Sürgün Veren Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
IAA	BAP	TDZ	
0,25	0,50		1,18 bc
0,5	0,50		1,25 bc
0,25	1,00		1,87 bc
0,5	1,00		5,33 a
0,25	2,00		3,37 ab
0,5	2,00		1,79 bc
0,25		0,50	0,62 c
0,5		0,50	0,25 c
0,25		1,00	1,25 bc
0,5		1,00	0,75 c
0,25		2,00	1,25 bc
0,5		2,00	0,87 c

Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0,05$ düzeyinde önemlidir.

3.3.2.4. Farklı TDZ, TDZ+IAA ve TDZ+NAA Konsantrasyonları ve Kombinasyonları İçeren MS Ortamlarının Sürgün Rejenerasyonuna Etkisi

Farklı konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda TDZ'nin yalnız ve IAA ile NAA bitki büyüme düzenleyicilerinin kabağın beş günlük fidelerinden elde edilen Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplant yüzdesine ait varyans analizi sonuçları Tablo 3.13'de verilmiştir.

Tablo 3.13. Farklı TDZ, IAA ve NAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlara ait varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi		
		Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri
Genel	59	18675,066		
Ortam	14	12151,543	867,967	5,99**
Hata	45	6523,523	144,967	

**: %1 düzeyinde önemli

Tablo 3.13 incelendiğinde, Flamingo gagası tipi eksplantın kullanıldığı ortamların sürgün oluşturan eksplant yüzdesine etkisi %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Tablo 3.14'te verilmiştir.

Tablo 3.14. Farklı TDZ, IAA ve NAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplantlar

Ortamlar (mg/l)			Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi		
TDZ	IAA	NAA			
0,5			33,33	(35,240)	ab
1,0			0,00	(0,000)	d
2,0			0,00	(0,000)	d
0,5	0,25		16,66	(20,830)	bc
0,5	0,5		8,33	(12,020)	dc
1,0	0,25		49,99	(41,750)	a
1,0	0,5		20,83	(23,630)	abc
2,0	0,25		16,66	(17,260)	bcd
2,0	0,5		20,82	(26,840)	abc
0,5		0,25	0,00	(0,000)	d
0,5		0,5	0,00	(0,000)	d
1,0		0,25	0,00	(0,000)	d
1,0		0,5	0,00	(0,000)	d
2,0		0,25	0,00	(0,000)	d
2,0		0,5	0,00	(0,000)	d

Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0,05$ düzeyinde önemlidir. Transformasyon değerleri tabloda parantez içerisinde verilmiştir.

TDZ'nin farklı konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda IAA ve NAA içeren MS ortamlarında en yüksek adventif sürgün rejenerasyonu belirlemek için Flamingo gagası tipi eksplantları kullanılmış olup sürgün oluşturan eksplant yüzdesi en yüksek %49,99 oran ile 1 mg/l TDZ ve 0,25 mg/l IAA içeren besin ortamından elde edilmiştir (Şekil 3.11f). Diğer ortamlar ise %33,33 ile 0,00 oranları arasında değişiklik göstermiştir. TDZ'nin 1,0 mg/l ve 2,0 mg/l ile TDZ+NAA konsantrasyonlarını ve kombinasyonlarını içeren ortamları aynı grupta yer almıştır. Ancak bu ortamlarda hiç sürgün elde edilememiştir.

Sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı ile ilgili varyans analizi Tablo 3.15'de, sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı ortalamaları ile ilgili Duncan testi değerlendirme sonuçları ise Tablo 3.16'de verilmiştir.

Tablo 3.15. Farklı TDZ, IAA ve NAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Sürgün Veren Eksplant Başına Sürgün Sayısı		
		Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri
Genel	59	76,712		
Ortam	14	36,150	2,582	2,86**
Hata	45	40,562	0,901	

** : %1 düzeyinde önemli

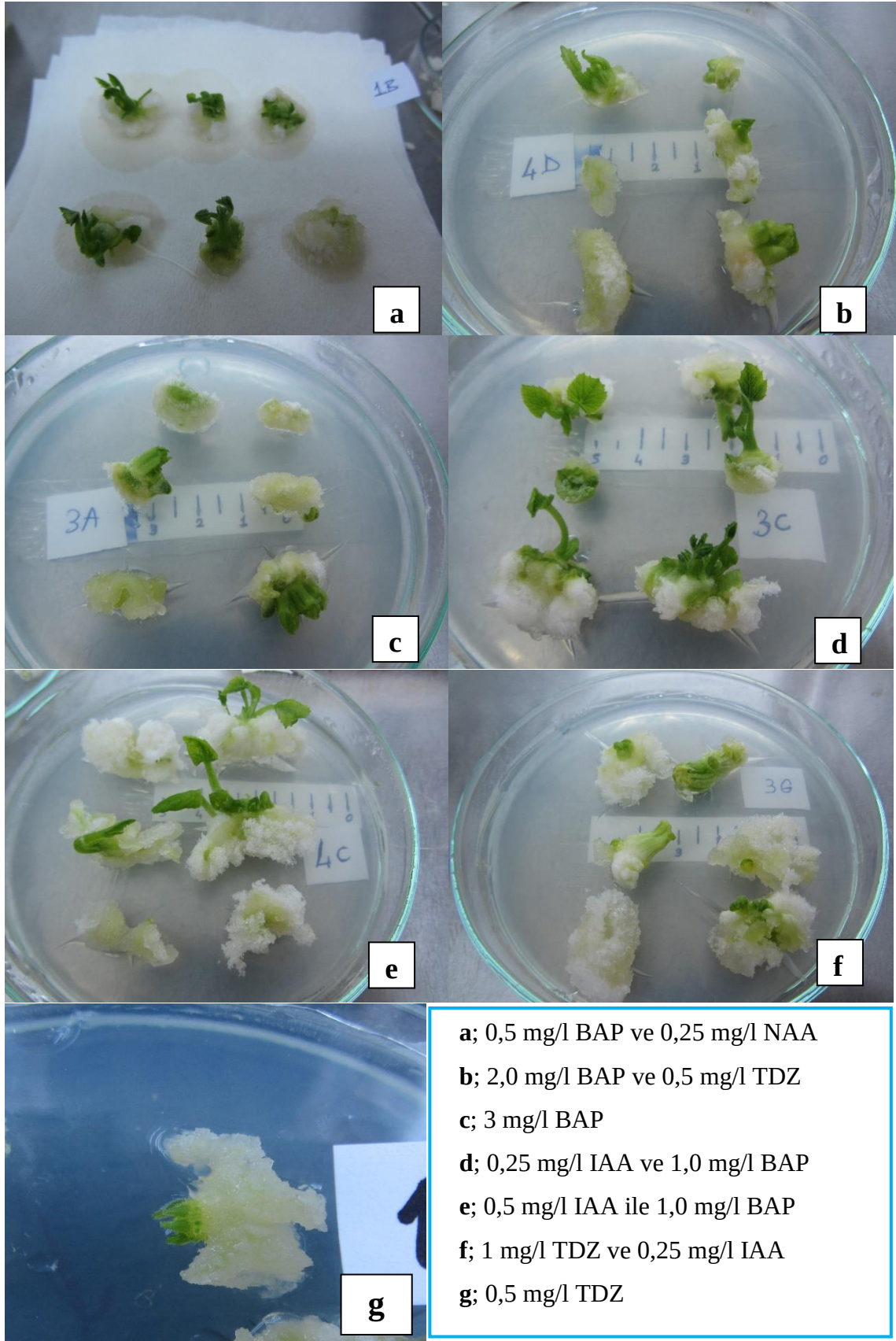
Varyans analizi sonucuna göre sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı %1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

TDZ'nin farklı konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda IAA ve NAA içeren 15 MS ortamında adventif sürgün rejenerasyonu incelenmiş olup, sadece TDZ'nin 1,0 mg/l ve 2,0 mg/l ile TDZ+NAA konsantrasyonlarını ve kombinasyonlarını içeren ortamlarında sürgün rejenerasyonu elde edilmemiştir. Sürgün veren eksplant başına en fazla sürgün sayısı 2,87 adet ile 0,5 mg/l TDZ içeren besin ortamından elde edilmiş olup (Şekil 3.11 g), diğer besin ortalamalarında ise sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı 1,25 ile 0.00 adet arasında değişiklik göstermiş ve bu ortamlar arasındaki fark önemsiz olup, istatistiksel olarak aynı gruba girmiştir (Tablo 3.16).

Tablo 3.16. Farklı TDZ, IAA ve NAA konsantrasyonları ve kombinasyonlarının Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı

Ortamlar (mg/l)			Sürgün Veren Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
TDZ	IAA	NAA	
0,5			2,87 a
1,0			0,00 b
2,0			0,00 b
0,5	0,25		0,62 b
0,5	0,5		0,25 b
1,0	0,25		1,25 b
1,0	0,5		0,75 b
2,0	0,25		1,25 b
2,0	0,5		0,87 b
0,5		0,25	0,00 b
0,5		0,5	0,00 b
1,0		0,25	0,00 b
1,0		0,5	0,00 b
2,0		0,25	0,00 b
2,0		0,5	0,00 b

Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0,05$ düzeyinde önemlidir.



Şekil 3.11. Farklı büyüme düzenleyiciler içeren MS ortamlarında Rejenerasyon başlangıcı

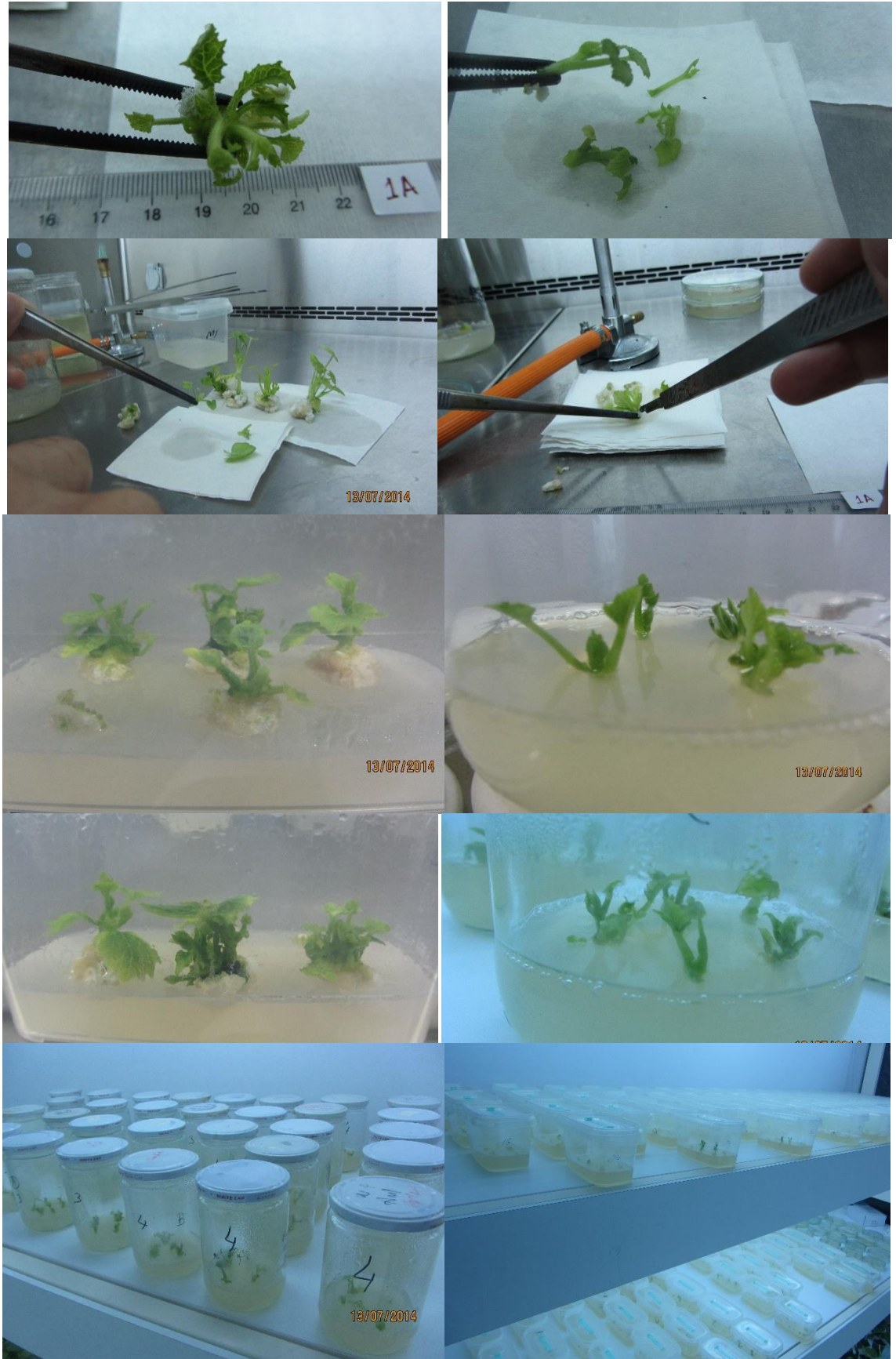
3.4. *İn vitro* Sürgünlerin Mikro Çoğaltım Çalışmaları

İn vitro tekniklerin kullanılmasıyla birçok bitki türünde mikro çoğaltıma imkân vermektedir [74]. Mikro çoğaltım tekniğiyle birçok bitki türünde çoğaltılması istenen sağlıklı genotipler kısa sürede istenilen sayıda üretilebilmektedir. Bu çalışmanın sonunda rejenerasyondan elde ettiğimiz sürgünler 1-3 cm uzunluğa ulaştığı zaman farklı besi ortamı içerikleri içeren MS besin ortamlarında mikro çoğaltım amaçlı alt kültüre alınmıştır (Şekil 3.12, 3.13). Uygulanan tüm ortamlarda hem mikro çoğaltım başarılı bir şekilde gözlenmiş hem de bu mikro çoğaltım ortamlarındaki bitkilerde alt kültür sonrası köklenme gözlenmiştir (şekil 3.14). Kullanılan çoğaltma ortamları aşağıda verilmiştir.

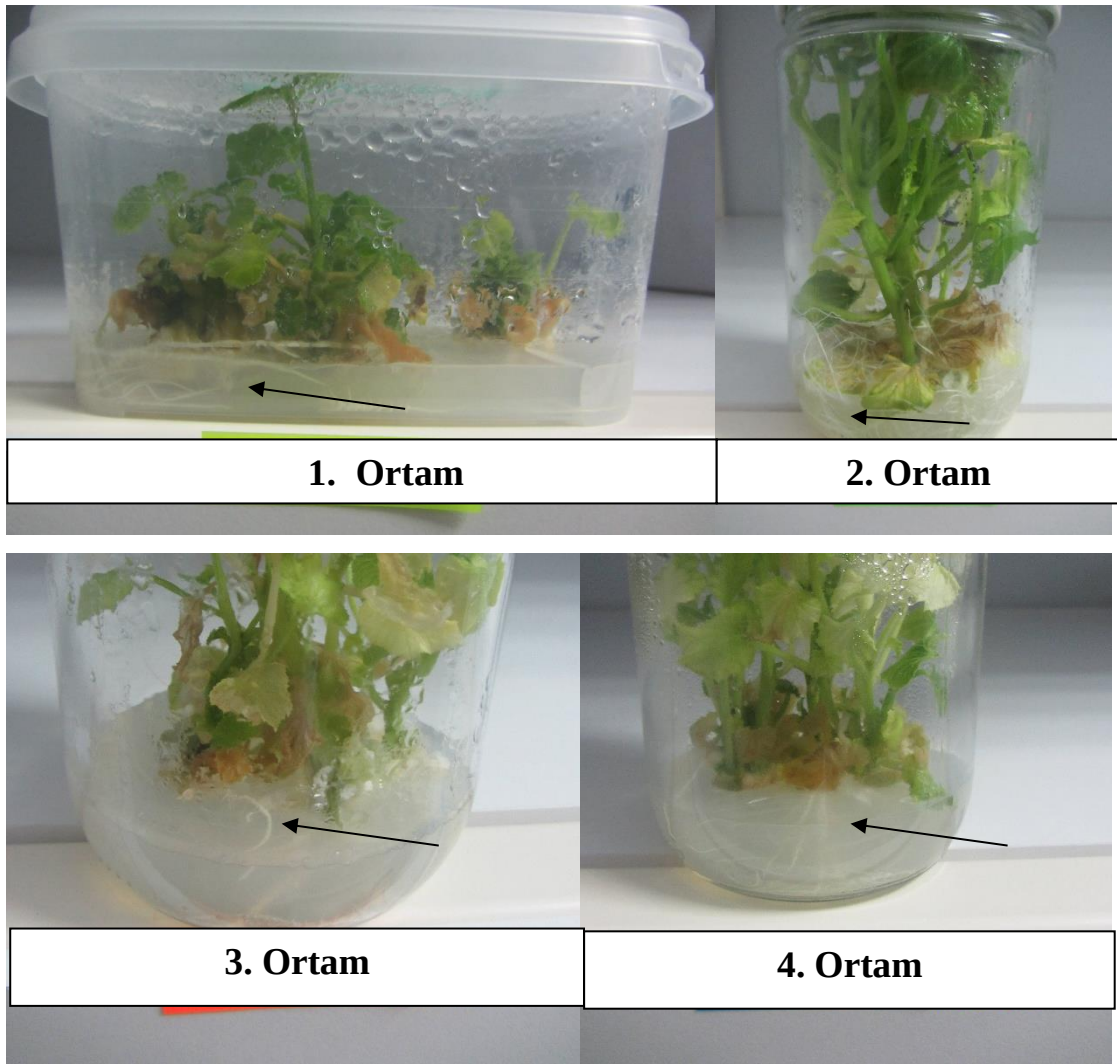
- 1. Ortam** MS mineral tuz ve vitaminleri ile 30 g/l sukroz içeren ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan ortam
- 2. Ortam** 0,01 mg/l BA ilaveli MS mineral tuz ve vitaminleri ile 30 g/l sukroz içeren ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan ortam
- 3. Ortam** 0,1 mg/l BA ilaveli MS mineral tuz ve vitaminleri ile 30 g/l sukroz içeren ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan ortam,
- 4. Ortam** 0,1 mg/l BA+1 mg/l GA₃ ilaveli MS mineral tuz ve vitaminleri ile 30 g/l sukroz içeren ve %0,75'lik agar ile katılaştırılan ortam



Şekil 3.12. Rejenerasyon sonucu elde edilen bitkilerin mikro çoğaltımda kullanılması



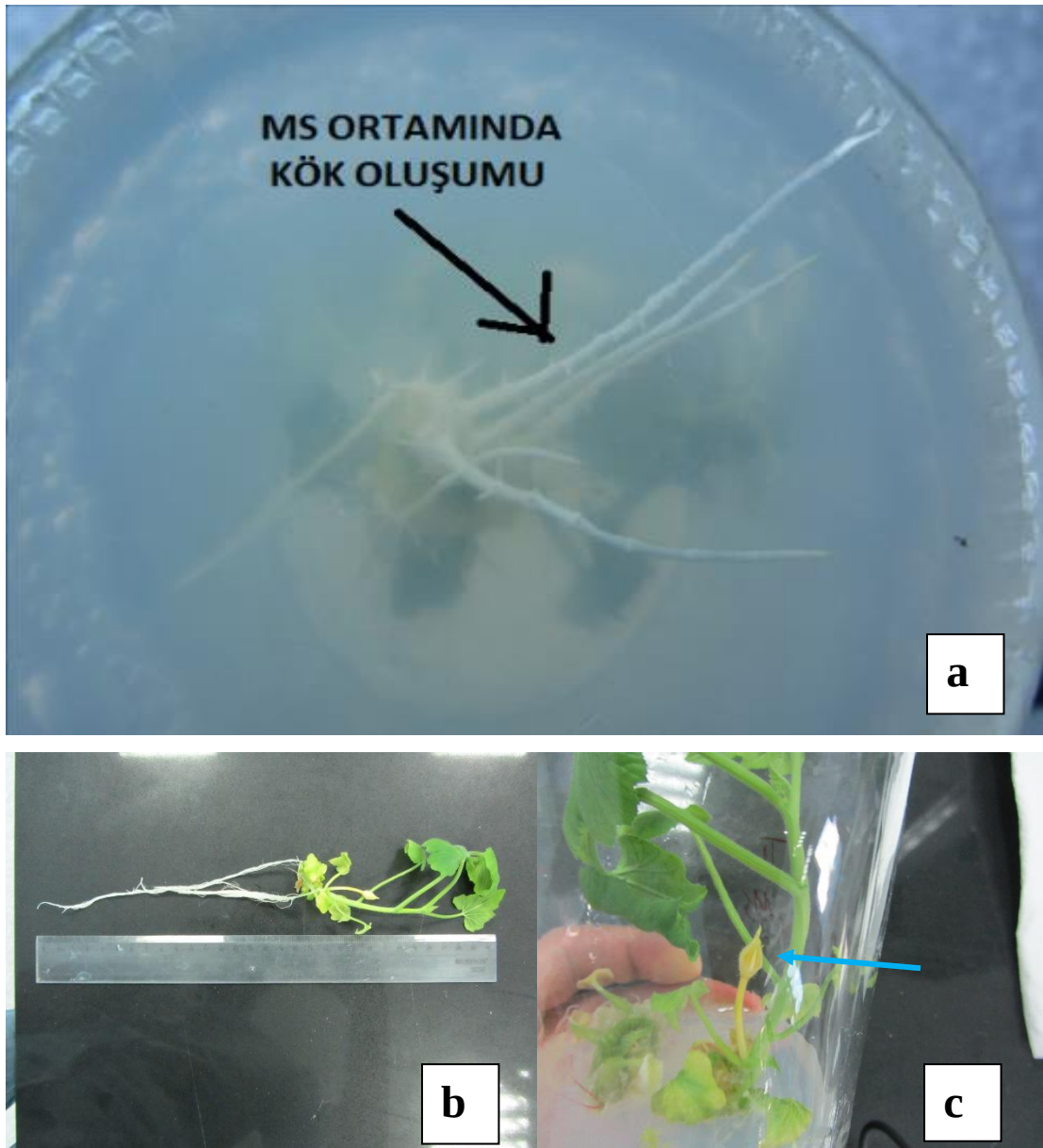
Şekil 3.13. *İn vitro* rejenerasyon sonucu oluşan sürgünlerin mikro çoğaltımı



Şekil 3.14. *İn vitro* sürgünlerin mikro çoğaltım sonrası köklenmeleri

3.5. *İn vitro* Sürgünlerin Köklendirilmesi Çalışmaları

İn vitro sürgünlerin mikro çoğaltım çalışmaları sonrası elde edilen sürgünler 3-5 cm uzunluğa ulaştığı zaman farklı oranlarda IBA, IAA ve NAA oksinlerini içeren MS besin ortamı ile ½MS ve 1MS ortamında köklenmeye alınıp köklenme kabiliyetleri incelenmiştir. Kullanılan bütün besin ortamların pH'sı 1N NaOH ya da 1N HCl kullanılarak 5,7'ye ayarlandıktan sonra 1,2 atmosfer basınç altında ve 121 °C'de 20 dakika tutularak steril edilmiştir. Mikro çoğaltımdan elde edilen bitkiler bitki büyüme düzenleyici bulunan ve bulunmayan MS besin ortamlarında hiçbir sorun olmadan büyük oranda köklenme gözlenmiştir (Şekil 3.15a, 3.15b). Mikro çoğaltım sonrası elde edilen bitkilerde MS ortamında 2-3 alt kültür yapıldıktan sonra çiçeklenme gözlenmiştir (Şekil 3.15c).



Şekil 3.15. *In vitro* Sürgünlerin mikro çoğaltım sonrası köklendirme çalışması
a, b; MS ortamında köklenmenin sağlanması,
c; 2-3 Alt kültür sonrası bitkilerde çiçeklenme oluşumu

4. BÖLÜM

TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Çerezlik kabakta (*Cucurbita pepo* L.) *in vitro* bitki rejenerasyonu konulu bu çalışmada direk organogenesis yoluyla sürgün rejenerasyon sisteminin geliştirilmesi amacıyla uygun eksplant tipi belirlenmeye çalışılmış ve bu eksplant tipinde rejenerasyon sağlayacak en iyi besin ortamı optimize edilmeye çalışılmıştır. Eksplantlar için kullanılan fidelerin elde edilmesinde en verimli ortamın belirlenmesi için farklı MS konsantrasyonları içeren ortamlarda çimlendirme yapılmıştır. 4-6 günlük fidelerden elde edilen eksplantlar sürgün rejenerasyonu için farklı büyüme düzenleyicileri içeren ortamlarda kültüre alınmış ve rejenerasyon verimliliği incelenmiştir. Elde edilen sürgünlerin köklendirilmesinde farklı oksin hormonlarının ve MS besin ortamının etkinliği belirlenmeye çalışılmıştır.

Çerezlik kabakta tohumlarının yüzey sterilizasyonunda tohum kabuğu soyulup, öncelikle %70'lik etil alkolde 1 dakika kadar çalkalanmış, daha sonra alkolü uzaklaştırmak için tohumlar 1 defa steril su ile 5 dakika kadar durulanmıştır. En ideal sodyum hipoklorit konsantrasyonunu belirlemek için %1, %2 ve %3'lük NaClO içerisinde 20 dakika tutulan kabak tohumları steril saf su ile 5 kez durulanmıştır. Yapılan gözlemler sonucunda sodyum hipoklorit konsantrasyonlarının çimlendirme sırasında herhangi kontaminasyona neden olmayıp uygulanan tüm sodyum hipoklorit kombinasyonlarında tohum dezenfeksiyonu sağlanmıştır. Daha sonra yapılan rejenerasyon çalışmalarında %1'lik sodyum hipoklorit tercih edilmiştir.

Çalışmada çimlenme yüzdesi olarak incelendiğinde %100'lük çimlenme oranıyla en yüksek çimlenme 2MS ortamında gözlenmiştir. Bunu sırasıyla %98,18 ile ½MS ve %96,82 ile 1MS takip etmiştir. Yapılan morfolojik gözlemlerde sadece çimlenme oranının yeterli olmadığı, aynı zamanda normal bir büyüklüğe gelmiş kotiledon, hipokotil ve

Flamingo gagası tipi eksplantların da elde edilmesi önemli olduğundan burada en ideal eksplantların temin edildiği Tam MS, 30 g/l sukroz içeren ve 7,5 g/l agar ile katılaştırılan 1MS besin ortamı en uygun çimlendirme ortamı olarak kabul edilmiştir.

Rejenerasyonda kullanılmak üzere eksplant olarak kotiledonunun proksimal, distal ve orta kısmı ile hipokotil ve Flamingo gagası tipi Eksplant olmak üzere 5 farklı eksplant tipi ön çalışmada kullanılıp rejenerasyona en iyi cevap veren eksplant tipi belirlenmiştir. Yapılan gözlemler sonucunda kotiledonunun proksimal, distal ve orta kısmı ile hipokotil bölgelerinden elde edilen eksplantlarda sadece irileşme ve kallus oluşumu gözlenmiş olup herhangi bir rejenerasyon elde edilmemiştir. Flamingo gagası tipi eksplantlarda sürgün rejenerasyonları gözlenmiştir. Cucurbitaceae familyası türlerinde yapılan rejenerasyon çalışmalarında genel olarak eksplant tipi olarak kotiledonlar ya da kotiledonların distal veya proksimal parçaları kullanılmıştır. Kavunda [35, 75, 76], hıyarda [77] ve karpuzda [78] yapılan çalışmalarda kotiledonlardan doğrudan organogenesisin meydana geldiği bildirilmiştir. Ancak, kabaklarda yapılan bazı çalışmalarda hipokotil eksplantlarından rejenerasyonda olumlu sonuç alınmadığı da bildirilmiştir [79, 64, 36]. *Cucurbita pepo*'da yapılan çalışmada, üzerinde kotiledon ya da kotiledonun proximal kısmı bulunan hipokotil eksplantları kullanıldığında %65'in üzerinde rejenerasyon oranı sağlandığı bildirilmiştir. Uygun eksplant tipinin belirlenmesi amacıyla yaptığımız ön çalışmada eksplant tipi olarak Flamingo gagası tipi, diğer adıyla kotiledonun proximal kısmı bulunan hipokotil eksplantları rejenerasyona en iyi sonucu veren eksplant olarak belirlenmiş ve bu eksplant tipi Ananthakrishnan vd. [36]'nın yaptığı çalışmada en yüksek rejenerasyonun elde edildiği eksplant tipi ile benzerdir. Flamingo gagası tipi eksplantlar elde edilirken birleşme yerlerindeki büyüme uçları uzaklaştırılarak (Şekil 2.3 ve Şekil 2.4) bu bölgedeki uyur gözlerden oluşabilecek sürgünlerin rejenerasyon oranını etkilemesi önlenmiştir.

Farklı BAP, NAA ve IAA konsantrasyonları ve kombinasyonları kullanıldığı besin ortamında kabak çekirdeğinin beş günlük fidelerinden elde edilen Flamingo gagası tipi eksplantlarında sürgün oluşturan eksplant yüzdesi ve sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı belirlenmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda ortamların sürgün oluşturan eksplant yüzdesine etkisi önemsiz bulunmuş ve sürgün oluşturan eksplant yüzdesi en yüksek %70,83 ile 0,5 mg/l BAP ve 0,25 mg/l NAA içeren besin ortamından elde

edilmiştir. Sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı ise en fazla 5,33 adet ile 1 mg/l BAP ile 0,5 mg/l IAA içeren besin ortamında tespit edilmiştir.

BAP ve BAP+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının kullanıldığı ortamların sürgün oluşturan eksplant yüzdesine etkisi %5 düzeyinde önemli bulunmuş ve sürgün oluşturan eksplant yüzdesi en yüksek %45,83 ile 2 mg/l BAP ve 0,5 mg/l TDZ içeren besin ortamında tespit edilmiş olup, bu ortam 2 mg/l BAP ile 1 mg/l BAP içeren ortam ile istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır. Sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı en fazla 4,5 adet ile 3 mg/l BAP içeren besin ortamından elde edilmiştir. Kathiravan vd. [80] kabakta yaptıkları *in vitro* rejenerasyon çalışmasında 1 mg/l BA içeren ortamda sürgün elde etmişler ve bu ortamlarda eksplant başına 1,2-1,6 oranında sürgün oluşumu tespit etmişler. BA'nın eksplant başına sürgün sayısını artırmaya etkisi bulduğumuz sonuç ile benzerlik göstermesi bakımından önemli olmaktadır. Lee ve Chung [62] ve Ananthakrishnan vd. [36]'nın kabakta yaptıkları rejenerasyon çalışmasında 1 mg/l BA içeren MS ortamında optimum seviyede rejenerasyon sağladıklarını ortaya koyarak BA'nın rejenerasyonda olumlu sonuç vermesi, ayrıca Stipp vd. [30]'ın en iyi *in vitro* organogenesis ortamı olarak 4,5 µM/l (1,01 mg/l) BAP ilaveli ortamda kotiledon ve hipokotillerde tespit etmişler. Sarover vd. [81]'in kabakta yaptıkları çalışmada sürgün gelişimi için en iyi ortamın 3 mg/l BA içeren MS ortamı olduğunu ve eksplant başına ortalama 5 sürgün elde ettiklerini bildirmeleri çalışmamızda bulduğumuz sonuç ile benzerlik göstermesi bakımından önemlidir.

IAA+BAP ve IAA+TDZ konsantrasyonları ve kombinasyonlarının sürgün oluşturan eksplant yüzdesine etkisi önemsiz bulunmuş olup en yüksek %66,66 ile 0,25 mg/l IAA ve 1 mg/l BAP içeren MS ortamından elde edilmiştir. Sürgün veren eksplant başına sürgün sayısı en fazla 5,33 adet ile 0,5 mg/l IAA ve 1 mg/l BAP içeren besin ortamından elde edilmiştir. Yalçın-Mendi vd. [82]'nin karpuzda en iyi rejenerasyon protokollerinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada litrede 10 µM BA + 0.5 µM IAA (2,25 mg + 0,35 mg) içeren rejenerasyon ortamında %75 ve %78 oranlarında direkt organogenesis yoluyla rejenerasyonun sağlandığı bildirilmiştir.

TDZ'nin farklı konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda IAA ve NAA içeren MS ortamlarının sürgün oluşturan eksplant yüzdesine etkisi %1 düzeyinde önemli bulunmuş olup en yüksek sürgün yüzdesi %49,99 oran ile 1 mg/l TDZ ve 0,25 mg/l IAA içeren

besin ortamından elde edilmiştir. Sürgün veren eksplant başına en fazla sürgün sayısı 2,87 adet ile 0,5 mg/l TDZ içeren besin ortamından elde edilmiştir.

Rejenerasyondan elde edilen sürgünler 1-3 cm uzunluğa ulaştığı zaman MS mineral tuz ve vitaminlerinin yalnız besin ortamı olarak kullanıldığı 0,01 mg/l BA-0,1 mg/l BA ve 0,1 mg/l BA+1 mg/l GA₃ ile birlikte kullanıldığı besin ortamlarında mikro çoğaltım amaçlı alt kültüre alınmıştır. Uygulanan tüm besin ortamlarında başarılı bir şekilde bitkilerde büyüme gözlenmiş ve bu mikro çoğaltım ortamlarındaki bitkilerde alt kültür sonrası köklenmelerin oluştuğu gözlenmiştir. Köklenmenin mikro çoğaltım sonrası yapılan alt kültür sonucu elde edilmesi, ayrıca köklendirme çalışmasına gerek duyulmamasını sağlamıştır. Lee ve Chung [62]'ın kışlık kabakta yaptıkları rejenerasyon çalışması sonrası elde ettikleri sürgünleri 0,1 mg/l BA içeren MS sürgün geliştirme ortamında alt kültüre alınıp mikro çoğaltım sağlanması yönünden benzer sonuç vermiştir.

In vitro sürgünlerin mikro çoğaltım çalışmaları sonrası elde edilen sürgünler 3-5 cm uzunluğa ulaştığı zaman farklı oranlarda IBA, IAA ve NAA oksinlerini içeren MS besin ortamı ile ½MS ve 1MS ortamına köklenme amaçlı alınmıştır. Yapılan Gözlemler sonucunda büyüme düzenleyici bulunan ve bulunmayan MS besin ortamların hepsinde hiçbir sorun olmadan büyük oranda köklenme sağlanmıştır. Lee ve Chung [62]'ın kışlık kabakta yaptıkları rejenerasyon çalışmasında elde ettikleri bitkileri büyüme düzenleyici içermeyen MS ortamına transfer ederek köklendirme sağlamaları bulduğumuz sonuç ile benzerlik göstermektedir. Pal vd. [57]'nin yaptıkları kabakta indirekt organogenesis çalışmalarında rejenerasyon sonrası elde edilen sürgünler 1 mg/l IBA ilaveli MS ortamında köklendirme sağlamışlar.

KAYNAKLAR

1. Teppner, H., 2004. Notes on lagenaria and cucurbita (Cucurbitaceae)-Review and New contributions. **Phyton**, **44**: 245-308.
2. Chadha, M. L., Lal, T., Chadha, K. L., Kalloo, G., 1993. Improvement of cucurbits. **Advances in horticulture: vegetable crops**, **5**: 137-179.
3. Bassett., M.J., 1986. Breeding vegetable crops. **The Avi Pupliching Company Inc**, Vegetable Cropc Departmet University of Florida Gainesville, Florida.
4. Trumbull, J. H., 1876. Vegetables cultivated by the American Indians. **Bull. Torrey Bot. Club**, **6**: 69-71.
5. Whitaker, T.W., 1947. American origin of the cultivated cucurbits. **Ann. Missouri Bot. Gard.** **34**: 101-111.
6. Cutler, H. C., Whitaker, T. W., 1961. History and distribution of the cultivated cucurbits in the Americas. **Amer. Antiquity**, **26**:469--485.
7. Paris, H.S., 1996. Summer Squash. History, Diversity, and Distribution Angelina Ginzburg of NeweYa'ar For Expert Technical Tion, **Hort. Technology**, **6**: 6-13.
8. Whitaker, T.W., Bemis, W. P., 1964. Evolution in the genus Cucurbita. **Evolution**, **18**:553-559
9. Paris, H.S., 1986. A proposed subspecific classification for Cucurbita pepo. **Phytologia**, **61**: 133-138.
10. Nerson, H., Paris, H.S., Paris, E.P., 2000. Fruit shape, size and seed yield in Cucurbita pepo. **Acta Hort**, **510**: 227-230.
11. Whitaker, T. W., 1960. Breeding squash and pumpkins. **Handb. Pflanzenziicht**, **6**:331-350.
12. Whitaker, T.W. Bemis, W. P., 1975. Origin and evolution of the cultivated Cucurbita. **Bull. Torrey Bot. Club**, **102**:362-368.
13. Herklots, G. A.C., 1986. Cucurbita. **Plantsman** **8(2)**:86-102.

14. Sarowar, S., Oh, H. Y., Hyung, N. I., Min, B. W., Harn, C. H., vd., 2003. In vitro micropropagation of a Cucurbita interspecific hybrid cultivar – a root stock plant. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, **75(2)**: 179–182.
15. İnan, N., 2008. Çekirdek Kabaklarında Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyon. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 83 s.
16. Yanmaz, R., Düzeltir, B., 2003. Çekirdek Kabağı Yetiştiriciliği. **Ekin Dergisi**, **26**: 22-24s
17. Murkovic M., Hillebrand, A., Winkler, J., Pfunnhauser, W., 1996. Variability of Vitamin E Content in Pumpkin Seeds (*Cucurbita pepo* L.), **Z. Lebezom Unters Forsch**, **202**: 275-278
18. Fidan, S., 2014. Türkiye’de Çerezlik Kabak Yetiştiriciliği, s58-68, Çerezlik Kabak Çalıştayı, 26-27-Kasım 2014, Kayseri.
19. TÜKSIAD., 2013. Tüm kuruyemiş sanayici ve iş adamları derneği kayıtları. (Web sayfası: <http://www.tuksiad.org/index.php>), (Erişim tarihi: Ocak 2017).
20. Sevensör, Ş., 2010. Kabakta (*Cucurbita pepo* L.) Tuz Stresine Toleransın Belirlenmesinde Antioksidant Enzim Aktivitelerinin *in vitro* ve *in vivo* Olarak İncelenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 173 s.
21. Zitter, T.A., 1996. Cucurbit Diseases. Compendium of Cucurbit Diseases. Edit. By T.A.
22. Yılmaz, M. A., Çığsar, İ., 2006. Viroloji. Çukurova Üniversitesi Basımevi, Adana, 281 s.
23. Zitter, T. A., Hopkins, D. L., Thomas, C. E., 1996. Compendium of Cucurbit Diseases, APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 87 pp.
24. Yeşil, S., 2014. Çerezlik Kabak Üretiminde Sorun Olan Virüsler. S99-118, Çerezlik Kabak Çalıştayı, 26-27-Kasım 2014, Kayseri.
25. Kurozawa, C., Pavan, M. A., Rezende, J. A. M., 1997. Doença das cucurbitáceas. **Kımatı, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A, 2**: 325-337.

26. Gaba, V., Zelcer, A., Gal-On, A., 2004. Cucurbit biotechnology- the importance of virus resistance. ***In Vitro Cellular and Developmental Biology***, **40**: 346-358.
27. Tricoli, D. M., Carney, K. J., Russel, P. F., McMaster, J. R., Groff, D.W., Hadden. K. C., Himmel, P. T., Habbard, J. P., Boeshore, M. L., Reynolds, J. F., Quemada, H. D., 1995. Field evaluation of transgenic squash containing single or multiple virus coat protein gene constructs for resistance to cucumber mosaic virus, watermelon mosaic virus. ***Nature Biotechnology***, **13**: 1458-1465.
28. Compton, M. E., 2000. Interaction between explant size and cultivar impacts shoot organogenic competence of watermelon cotyledons. ***Hortscience***, **35**: 749-750.
29. Klas, F. E., Fuchs, M., Gonsalves, D., 2006. Comparative spatial spread overtime of Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) and Watermelon mosaic virus (WMV) in fields of transgenic squash expressing the coat protein genes of ZYMV and WMV, and in fields of nontransgenic squash. ***Transgenic Research***, **15**: 527-541.
30. Stipp, L. C. L., Monteiro-hara, A. C. B. A., & Mendes, B. M. J. 2012. In vitro organogenesis of zucchini squash cv. Caserta. ***Horticultura Brasileira***.
31. Jelaska, S., Magnus, V., Serentin, M., Lacan, G., 1985. Induction of embryogenic callus in *Cucurbita pepo* hypocotyl explants by indole-3-ethanol and sugar conjugates. ***Physiologia Plantarum***, **64**: 237-242.
32. Kathal R., Bhatnagar S.P., Bhojwani S.S., 1988. Regeneration of plants from leaf explants of *Cucumis melo* cv. Pusa Shar- bati. ***Plant Cell Rep***, **7**: 449–451.
33. Moreno V., Garcia-Sogo M., Granell B., Garcia-Sogo B., Roig L.A., 1985. Plant regeneration from calli of melon (*Cucumis melo* L., cv. Amarillo Oro). ***Plant Cell, Tissue Org Cult***, **5**: 139– 146.
34. Trulson A.J., Shahin E.A., 1986. *In vitro* plant regeneration in the genus *Cucumis*. ***Plant Sci.***, **47**: 35–43.
35. Niedz R.P., Smith S.S., Dunbar K.B., Stephens C.T., Murakishi H. H., 1989. Factors influencing shoot regeneration from cotyle-donary explants of *Cucumis melo*. ***Plant Cell, Tissue Org Cult.***, **18**: 313–319.

36. Ananthakrishnan, G., Xia, X., Elman, C., Singer, S., Gal-On, A., Gaba, V., 2003. Shoot production in squash (*Cucurbita pepo*) by in vitro organogenesis. **Plant Cell Reports**, **21**: 739-746.
37. Özcan, S., Özgen, M. 1996. Bitki Genetik Mühendisliği. **Kükem Dergisi**, **1**: 69-95.
38. Sarı, N., Tan, A., Yanmaz, R., Yetisir, H., Balkaya, A., Solmaz, I., Aykas, L., 2008. 2008. General status of cucurbit genetic resources in Turkey, pp. 21-32. Cucurbitaceae 2008, Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae, May 21-24, 2008, Avignon (France).
39. Yanmaz, R., Tuncer, B., Eydurhan, E., 2008. Çekirdek kabaklarında (*Cucurbita pepo* L.) meyve şekli ve ağırlığı ile tohum verimi ilişkisi. Türkiye III. Tohumculuk Kongresi, s 47- 51, Nevşehir.
40. Paris, H. S., 2005. The genes of pumpkin and squash. **Hortscience** **40**:1620-1630.
41. Anonim, 2017a. (Web sayfası: https://tr.wikipedia.org/wiki/Sak%C4%B1z_kaba%C4%9F%C4%B1), (Erişim tarihi: Ocak 2017).
42. Anonim, 2017b. (Web sayfası: https://tr.wikipedia.org/wiki/Helvac%C4%B1_kaba%C4%9F%C4%B1), (Erişim tarihi: Ocak 2017).
43. Anonim, 2017c. (Web sayfası: <http://www.kabak.gen.tr/bal-kabagi-yetistiriciligi.html>), (Erişim tarihi: Ocak 2017).
44. Blancard, D., Lecoq, H., Pitrat, M., 1995. Kabakgiller Hastalıkları. **Hasad Yayıncılık**, 292 s.
45. Whitaker, T. W., Cutler, H. C., MacNeish, R. S., 1957. Cucurbit materials from three caves near Ocampo, Tamaulipas. *American Antiquity*, 22(4): 352-358.
46. Cutler, H. C., Whitaker, T. W., 1967. Cucurbits from the Tehuacan Caves. In Pre-history of the Tehuacan Valley. **Environment and Subsistence**, **1**:212-219. University
47. Paris, H. S., 1989. Historical records, origins and development of the edible cultivar groups of *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). **Economic Botany**, **43(4)**: 423-443.
48. Robinson, R.W., 2005. Squash and pumpkin. Horticultural Sciences Department New York State Agricultural Experiment Station, Geneva, New York.

49. Paris, H., 2001. History of the cultivar- groups of *Cucurbita pepo*. **Horticultural Reviews**, **25**: 71- 90
50. Paris, H. S., Daunay, M.C., Pitrat, M., Janick, J., 2006. First known image *Cucurbita* in Europe, 1505-1508. **Annals of Botany**, **98**: 41-47.
51. Loy, J.B., 1990. Hull-less seeded pumpkins: a New edible snackseed crop, In: Janick
52. Anonim, 2017d. (Web sayfası: <http://www.bahcesel.net/forumsel/genel-ve-ozel-sebzecilik-profdratila-gunay/18798-kabak-beslenme-ve-insan-sagligi-bakimindan/>), (Erişim tarihi: Ocak 2017).
53. Zeybek, U. 2017. (Web sayfası: <http://www.bukas.com.tr/tr/uzman-gorusu/kabak-cekirdegi-yagi/>), (Erişim tarihi: Ocak 2017)
54. FAO. 2014. Pumpkin, Squash, Gourds, FAO Bulletin of Statistics, (Web sayfası: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>), (Erişim tarihi: Ocak 2017)
55. TÜİK. 2015. Sebze üretim istatistikleri, (Web sayfası: <http://www.tuik.gov.tr>), (Erişim tarihi: Ocak 2017)
56. Metwally, E. I. I., Moustafa, S. A. A., El-Sawy, B. I. I., Haroun, S. A. A., Shalaby, T. A. A., 1998. Production of haploid plants from in vitro culture of unpollinated ovules of *Cucurbita pepo*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, **52(3)**: 117–121.
57. Pal, S. P., Alam, I., Anisuzzaman, M., Sarker, K. K., Sharmin, S. A., 2007. Indirect organogenesis in summer squash (*Cucurbita pepo* L.). **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, **31(1)**: 63–70.
58. Chee, P. P., 1991. Somatic embryogenesis and plant regeneration of squash *Cucurbita pepo* L cv. YC60. **Plant Cell Reports**, **9(11)**: 620–622.
59. Kabir, A. H., Pal, S. P., Sarker, K. K., Sharmin, S. A., Alam, M. F., 2010. Virus elimination and pathogen-free plantlets regeneration in *Cucurbita pepo* L. **Archives Of Phytopathology And Plant Protection**, **43(6)**: 527–537.
60. Kintzios, S., Sereti, E., Bluchos, P., Drossopoulos, J. B., Kitsaki, C. K., 2002. Growth regulator pretreatment improves somatic embryogenesis from leaves of squash (*Cucurbita pepo* L.) and melon (*Cucumis melo* L.). **Plant Cell Reports**, **21(1)**: 1–8.

61. Abrie, A. L. L., Van Staden, J., 2001. Development of regeneration protocols for selected cucurbit cultivars. **Plant Growth Regulation**, **35(3)**: 263–267.
62. Lee, Y.K., Chung, W. I., 2002. Plant Regeneration Via Organogenesis in the Korean and Japanese Winter Squash (*Cucurbita maxima*). Proc. 2nd IS on Cucurbits. **Acta Hort.**, 588.
63. Chee, P. P., 1991. Initiation and Maturation of Somatic Embryos of Squash (*Cucurbita pepo*), 1–2.
64. Lee, Y.K., Chung, W.I., Ezura, H., 2003. Efficient plant regeneration via organogenesis in winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.). **Plant Science**, **164(3)**: 413–418.
65. Usman, M., Hussain, Z., Fatima, B., Fatima, A. B., 2011. Somatic embryogenesis and shoot regeneration induced in cucumber leaves. **Pakistan Journal of Botany**, **43(2)**: 1283–1293.
66. Han, J.-S. S., Oh, D.-G. G., Mok, I.-G. G., Park, H.-G. G., Kim, C. K., 2004. Efficient plant regeneration from cotyledon explants of bottle gourd (*Lagenaria siceraria* Standl.). **Plant Cell Reports**, **23(5)**: 291–296.
67. Thiruvengadam, M., Rekha, K. T., Yang, C.-H. H., Jayabalan, N., Chung, I.-M. M., 2010. High-frequency shoot regeneration from leaf explants through organogenesis in bitter melon (*Momordica charantia* L.). **Plant Biotechnology Reports**, **4(4)**: 321–328.
68. Kim, K.-M. M., Kim, C. K., Han, J.-S. S., 2010. *In vitro* regeneration from cotyledon explants in figleaf gourd (*Cucurbita ficifolia* Bouch??), a rootstock for Cucurbitaceae. **Plant Biotechnology Reports**, **4(2)**: 101–107.
69. Dong, J. Z., Jia, S. R., Vasil, I. K., 1991. High efficiency plant regeneration from cotyledons of watermelon (*Citrullus vulgaris* Schrad.). **Plant Cell Reports**, **9**: 559–562.
70. Akasaka-Kennedy, Y., Tomita, K., Ezura, H., 2004. Efficient plant regeneration and Agrobacterium-mediated transformation via somatic embryogenesis in melon (*Cucumis melo* L.). **Plant Science**, **166(3)**: 763–769.

71. Jelaska, S., 1974. Embryogenesis and Organogenesis in Pumpkin Explants. **Physiologia Plantarum**, **31(4)**: 257–261.
72. Murashige, T., Skoog, F., 1962. A resived medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarium**, **84 (15)**: 473–497.
73. Pozueta-Romea, J., Houlne, G., Canas, L., Schantz, R., Chamarro, J., 2001. Enhanced Regeneration of Tomato and Pepper Seddling Explants for Agrobacterium-Mediated Transformation. **Plant Cell Tissue and Organ Cult.**, **67**: 173-180.
74. Oblesbay, RP., 1978. Tissue culture of ornemantals and flowers: Problems and perspectives. In propagation of higher plants through Tissue culture, Hughes, K.W.S., Henke, R. and constain, M. 8eds), U.S. Dept. Energy, Washington, D.C.
75. Ezura, H., Amagi, H., Yoshioka, K., Oosawa, K., 1992. Highlyfrequent Appearance of Tetraploidy in Regenerated Plants, a Universal Phenomenon in Tissue-Cultured Melon (*Cucumis melo* L.). **Plant Science**, **85**: 209-213.
76. Gaba, V., Schlarman, E., Elman, C., Sagee, O., Watad, A.A., Gray, D.J., 1999. *In Vitro* Studies on the Anatomy and Morphology of Bud Regeneration in Melon Cotyledons. **In Vitro Cell. Dev. Biol.- Plant**, **35**:1-7.
77. Colijn-Hooymans, C.M., Hakkert, J.C., Jansen, J., Custers, J.M.B., 1994. Competence for Regeneration of Cucumber Cotyledons is Restricted to Specific Developmenttal Stages. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, **39**: 211-217.
78. Compton, M.E., Gray, D.J., Elmstrom, G.W., 1996. Identification of Tetraploid Regenerants from Cotyledons of Diploid Watermelon Cultured In Vitro. **Euphytica**, **87**:165-172.
79. Abrie, A.L., Van Staden, J., 2001. Development of Regeneration Protocols for Selected Cucurbit Cultivars. **Plant Growth Regulation**, **35**: 263-267.
80. Kathiravan, K., Vengedesan, G., Singer, S., Steinitz, B., Paris, H. S., Gaba, V., 2006. Adventitious regeneration in vitro occurs across a wide spectrum of squash (*Cucurbita pepo*) genotypes. **Plant cell, tissue and organ culture**, **85(3)**: 285-295.
81. Sarover, S., Oh, H.Y., Hyung, N.I., Min, B.W., Harn, C.H ., Yang, S.K ., Ok, S.H., Shin, J.S., 2003. *In Vitro* Micropropagation of a Cucurbita interspecific Hybrid

Cultivar- A Root Stock Plant. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 75:179-182.

82. Yalçın-Mendi, N.Y., İpek, M., Kaçan, H., Çürük, Sarı, N., Çetiner, S., Gaba, V., 2003. A Histological Analysis of Regeneration in Watermelon, J. **Plant Biochemistry & Biotechnology**, 12: 147-150.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Ahmet SAY

Uyruğu : Türkiye (TC)

Doğum Yeri : Ş. URFA

e-mail : ahmetsay@erciyes.edu.tr

Adres : Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi, 38039, Melikgazi
KAYSERİ/TÜRKİYE

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	ERÜ Fen Bilimler Enstitüsü	2017
Lisans	ERÜ Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü	2012

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2014-Halen	ERÜ Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, KAYSERİ	Araştırma Görevlisi

YABANCI DİL

İngilizce