

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**PATLICANDA (*SOLANUM MELONGENA* L.) HAPLOİD BİTKİ ELDE ETME
AMACIYLA ANTER VE SHED-MİKROSPOR KÜLTÜRLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Gülsün Elif VURAL

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

HAZİRAN 2019

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PATLICANDA (*SOLANUM MELONGENA* L.) HAPLOİD BİTKİ ELDE ETME
AMACIYLA ANTER VE SHED-MİKROSPOR KÜLTÜRLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

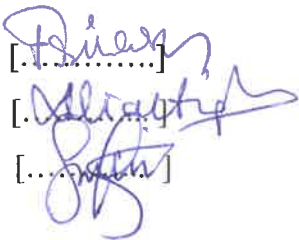
Gülsün Elif VURAL
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 24/06./2019. tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Esin ARI (Danışman)

Prof. Dr. Şeküre Şebnem ELLİALTIOĞLU

Prof. Dr. Serpil GÖK TANGOLAR


[.....]
[.....]
[.....]

ÖZET

PATLICANDA (*SOLANUM MELONGENA* L.) HAPLOİD BİTKİ ELDE ETME AMACIYLA ANTER VE SHED-MİKROSPOR KÜLTÜRLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Gülsün Elif VURAL

Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr. Esin ARI

Haziran 2019; 96 sayfa

Tez çalışmasında patlıcanda (*Solanum melongena* L.) haploid embriyo ve bitkicik verimini arttırmaya yönelik olarak katı ve sıvı anter kültürleri ile shed-mikrospor kültürünün etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Çalışma ilkbahar ve sonbahar yetiştiricilik sezonlarında, A117 F₁, Anamur F₁ ve Darko F₁ patlıcan çeşitleri kullanılarak yapılmıştır. Anterler kültüre alınmadan önce uygun aşamadaki mikrospor safhaları DAPI boyama yöntemi ile belirlenmiş ve belirli aralıklarla tekrarlanmıştır. Üç farklı besin ortamı tipi olarak kullanılan katı, sıvı ve çift fazlı (shed-mikrospor) ortamlarda; temel besin ortamı olarak DDV-C ve DDV-R ortamları kullanılmış, bu ortamlardaki 2,4-D ve Kinetin den oluşan bitki gelişim düzenleyicilerinin konsantrasyonları, ortamların aslına uygun olarak sabit tutulmuştur. Ortamlarda karbonhidrat kaynağı olarak kullanılan sakkaroz ve maltozun farklı oranlardaki etkinlikleri, bunlara ilave edilen farklı konsantrasyonlardaki gümüş nitrat ve aktif kömürün etkileri ile birlikte araştırılmıştır. Çalışmada oluşturulan çok sayıdaki besin ortamının etkinlikleri; anter gelişimi (%), anter kallusu (%), embriyo (adet/100 anter), bitkicik (adet/100 anter) ve aklimatize edilen bitki (adet/100 anter) özellikleri üzerinde incelenmiştir.

İlkbahar döneminde yapılan çalışmaların sonuçları sonbahar dönemi çalışmalarına ışık tutmuştur. İlkbahar dönemi çalışmaları sonucu maltozun etkinliği dikkat çekici bulunduğu için sonbahar döneminde farklı dozların da etkisi araştırılmıştır. İlkbahar döneminde katı, sıvı ve çift-fazlı anter kültürü ortamlarında üç genotipe ait toplam 10.800 anter kültüre alınmıştır. Bunlardan katı ortamda kültüre alınan 3.600 anterden; 64 embriyo, 45 bitkicik ve 45 adet aklimatize bitki elde edilmiştir. Sonbahar döneminde ise katı ve sıvı anter kültürü ortamlarında toplam 14.400 adet anterin ekimi yapılmıştır. Bunlardan katı ortamlarda kültüre alınan iki çeşide ait 9.600 anterden toplam 3.543 embriyo, 1.604 bitkicik ve 1.445 adet aklimatize bitki elde edilmiştir.

Bu çalışmada ayrıca, patlıcanda ilk defa sonbahardaki sıvı anter kültürü denemelerinden embriyo ve bitkicik elde edilerek, rejenere olan bitkiler dış koşullara aktarılmıştır. Patlıcanda için bu öncü sonuçlar bir ön çalışma niteliğindedir ve optimize edilmesi ile çok daha yüksek embriyo ve bitkicik verimi oluşturma potansiyeli taşımaktadır.

Sonuç olarak çalışmada; sezon yönünden sonbahar döneminde yetiştirilen donör bitkilerin, genotipik etki yönünden A117 F₁ çeşidinin, farklı tipteki ortamlar yönünden ise katı kültürlerin patlıcanda anter kültürüne daha yüksek oranda cevap verdiği belirlenmiştir. Yine patlıcan anter kültürleri için çarpıcı bir sonuç olarak; katı ortam tipinde, maltoz, aktif kömür ve gümüş nitratın uygun dozlarda kullanılmasının, embriyo ve bitkicik oluşumu üzerine olumlu sinerjistik etkide bulunduğu tespit edilmiştir. Bu etki sayesinde patlıcan anter kültüründe embriyo verimi 320 embriyo / 100 anter oranına kadar yükseltilmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Aktif Kömür, Anter Kültürü, Gümüş Nitrat, Haploid, Maltoz, Patlıcan, Shed-Mikrospor Kültürü, *Solanum Melongena* L.

JÜRİ: Doç. Dr. Esin ARI

Prof. Dr. Şeküre Şebnem ELLİALTIOĞLU

Prof. Dr. Serpil GÖK TANGOLAR

ABSTRACT

COMPARISON OF ANTHER AND SHED-MICROSPORE CULTURES TO OBTAIN HAPLOID PLANT IN EGGPLANT (*SOLANUM MELONGENA* L.)

Gülsün Elif VURAL

MSc Thesis in Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Esin ARI

June 2019; 96 page

The efficiencies of solid and liquid anther cultures and shed-microspore culture were compared in order to increase the yield of haploid embryo and plantlet in eggplant (*Solanum melongena* L.). A117 F₁, Anamur F₁ and Darko F₁ cultivars were used in the spring and autumn growing seasons. Before the anthers were cultured, the appropriate microspore stages were determined by DAPI staining method and repeated at certain intervals. In solid, liquid and double-layered (shed-microspore) cultures; DDV-C and DDV-R were used as the main nutrient medium, and the concentrations of plant growth regulators consisting of 2,4-D and Kinetin were kept constant in accordance with the original DDV media. The efficiencies of sucrose and maltose as the carbohydrate sources in the media were investigated together with the effects of silver nitrate and activated charcoal in different concentrations. The efficacy of the numerous nutrient media prepared in the study were examined on the parameters of anther growth (%), anther callus (%), embryo (pcs / 100 anther), plantlet (pcs / 100 anther) and acclimatized plant (pcs / 100 anther).

The results of the studies conducted in the spring period directed the studies in the autumn period. As the efficacy of maltose was found to be remarkable as a result of spring studies, the effect of different doses of maltose was investigated in the autumn period. In spring, a total of 10.800 anthers belonging to the three cultivars were cultured in solid, liquid and double-layered anther culture media. Of these, 3.600 anthers were cultured in solid medium; 64 embryos, 45 plantlets and 45 acclimatized plants were obtained. In the autumn period, 14.400 anthers belonging to two cultivars were cultured in solid and liquid anther culture media. A total of 3.543 embryos, 1.604 plantlets and 1.445 acclimatized plants were obtained from 9.600 anthers cultured in solid media.

In this study, embryos and plantlets were also obtained from liquid anther culture experiments in autumn for the first time in eggplant and regenerated plants were transferred to external conditions. These pioneering results for eggplant can be described as a preliminary study and have the potential to generate much higher embryo and plantlets yield by optimization.

As the result; it was determined that the donor plants grown in autumn season, the A117 F among the genotypes and the solid cultures among different culture types responded much better to eggplant anther cultures. As a remarkable result for again eggplant anther cultures; it has been found that the appropriate doses of maltose, activated charcoal and silver nitrate in solid medium type have positive synergistic effect on embryo and plant formation. Thanks to this effect, embryo yield has been increased up to 320 embryos / 100 anther in eggplant anther culture.

KEYWORDS: Activated Charcoal, Anther Culture, Silver Nitrate, Haploid, Maltose, Eggplant, Shed-Microspor Culture, *Solanum melongena* L.

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Esin ARI

Prof. Dr. Şeküre Şebnem ELLİALTIOĞLU

Prof. Dr. Serpil GÖK TANGOLAR

ÖNSÖZ

Bilinmeyene duyulan merak insanoğlunun genel özelliklerinden yalnızca biridir. Yapılan androgenesiz ve diğer biyoteknolojik çalışmalar ise bilinmeyen dünyalara açılan en hızlı kapılardan sadece birisidir. Bitkileri anlamak onların geçmişten günümüze var olma süreçlerini bilmekten geçmektedir. Patlıcanda (*Solanum melongena L.*) birçok maceradan geçerek günümüze kadar gelmiş, günümüzde de ekonomik anlamda çok önemli bir yer edinmiştir. Patlıcanın tarihi süreci çok ilginçtir ve incelemekten çok keyif aldığım bir konudur. Her şeyden önce yüzyıllardır dünyamızda yaşayan eski yazıtlarda bile adından bahsettiren, bazı toplumlarda ilaç olarak kullanılırken bazı toplumlarda deli elması olarak bilinip korkulan meyvelere sahiptir. Tam olarak anlamlandırılmasa bile her zaman adından bahsettirmiş ve önemini korumuştur. Kültüre alındıktan ve bazı tipleri pişirilerek yenilmeye başlandıktan sonra kral sofralarında hak ettiği yerini almıştır.

Dünyada ve ülkemizde patlıcan ıslahına büyük önem verilmektedir. İslahçılar kısa sürede saf hat elde ederek verim, kalite, dayanım, pazar talepleri gibi ihtiyaçları karşılayabilmek adına biyoteknolojik yöntemlerden faydalanmaktadırlar. Patlıcanda haploidi çalışmalarında şimdilik en yaygın ve efektif yöntem olan anter kültüründe geliştirilecek etkili protokoller ile ıslahta kullanılacak miktarlarda saf hat elde edilebilmesi patlıcan ıslah çalışmalarına hız kazandıracaktır. Bu nedenle bu tez çalışması etkili bir patlıcan anter kültürü protokolü geliştirebilmek amacıyla, şu ana kadar patlıcan haploidi çalışmalarında henüz kullanılmamış olan farklı ortam tip ve bileşenlerinin çok çeşitli kombinasyonlarda test edilerek yürütüldüğü kapsamlı bir optimizasyon çalışmasıdır. Çalışma sonunda beklenenin de üzerinde çok etkili bir uygulamadan çok yüksek oranda sağlıklı embriyo ve bitkicik verimleri elde edilmiştir. Elde edilen bu güzel sonuçların, Ülkemiz ve Dünyadaki patlıcan ıslah çalışmalarına ve literatüre katkıda bulunması umulmaktadır.

Tezimin planlanmasından başlayarak tamamlanmasına kadar gece gündüz demeden bana yardımcı olan, gerektiğinde işlerinden ve zamanından fedakârlık ederek tezimin başarılı bir şekilde tamamlanmasını sağlayan danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Esin ARI'ya canı yürekten teşekkür ederim.

Derin bilimsel tecrübelerini büyük bir içtenlikle paylaşan, iyi ki yollarımız birleşmiş dediğim ve aynı zamanda Tez Savunma Jürimde yer alarak beni onurlandıran çok değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Şeküre Şebnem Ellialtıoğlu'na ne kadar teşekkür etsem azdır. Bilgisi ve tezime katkıları ile Tez Savunma Jürimde yer alarak ileriye yönelik tavsiyeleri ile beni yüreklendiren ve bana farklı bir bakış açısı kazandıran kıymetli Hocam Sayın Prof. Dr. Serpil GÖK TANGOLAR'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tanıştığımız günden bu yana ailemden biri gibi hissettiğim her zaman yanımda olduğuna yürekten inandığım Prof. Dr. Ahmet Naci ONUS'a çok teşekkür ederim. Beni tanımadan bir konuşmamızla bana güvenip referans olan kıymetli hocam Prof. Dr. Nedim MUTLU'ya çok teşekkür ederim. Benim doku kültürüne olan ilgimi unutmuyarak ilk iş kapımı aralayan Dr. Öğr. Üyesi Gül YÜCEL'e, her zaman destek olan, sorularına sıklıkla cevap veren, yol gösteren, bir çözüm yolu mutlaka bulmaya çalışan değerli hocalarım; Dr. Öğr. Üyesi Kamil ERKEN'e ve Öğr. Gör. Füsun KÖKSAL'a çok teşekkür ederim. Eğitim hayatım boyunca bana engin bilgileriyle yol gösteren, emek veren ve desteklerini her zaman hissettiğim çok kıymetli hocalarıma minnettarım.

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca desteklerini esirgemeyen bitkisel materyallerin ekimi, dikimi, yetiştirilmesi, bakımı gibi konularda bana yardımcı olan Antalya Tarım Ar-Ge Merkezi Yöneticisi Dr. Sinan ZENGİN başta olmak üzere değerli iş arkadaşlarım Ali KÜN, Burcu SÜNGÜ, Cafer DOĞANLAR, Emine GÜNAY ve Pınar KARAGÖZ'e sonsuz teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim boyunca bana yol arkadaşlığı yapan Hilal BEDİR'e, sen yaparsın diyerek beni yüreklendiren Tuğçe ÖZSAN'a, farklı düşünceleriyle farkındalığımı arttıran Uğur YAVUZ, Ahmet SOYDAL ve Cengiz İÇEL'e, lisans ve yüksek lisans öğrenim hayatımı aldığı notlar ve paylaşımlarıyla kolaylaştıran Aysel UYSAL'a teşekkürü bir borç bilirim.

Yaşamım boyunca gösterdikleri sevgi, destek, verdiği emek ve ettiği dualar için annem Nazmiye VURAL'a, her zaman benim koruyucu meleğim olduğu için babam Halim VURAL'a, ablam Rahime VURAL'a, abilerim Zafer KARA, Mustafa KARA ve Muharrem VURAL'a ve tüm aile bireylerime çok teşekkür ederim. Aile bağımlı olmasada beni kızından ayırmadan seven, koruyan, kollayan, hastayken bana bakan, üzülmeye kıyamayan Ayşe ERYILMAZ'a sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca hayatıma iyi-kötü dokunarak benim ben olmamda emek veren, beni başarabileceğime inandıran bütün arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	9
2.1. Haploidizasyon.....	9
2.2. Anter Kültürü	11
2.3. Shed-Mikrospor Kültürü	12
2.4. Androgenesisde Başarıyı Etkileyen Faktörler.....	14
2.4.1. Genotip.....	14
2.4.2. Donör bitkilerin yetiştirilme koşulları.....	16
2.4.3. Tomurcukların ve mikrosporların gelişim dönemleri	18
2.4.4. Kullanılan besin ortamları ve katkı maddeleri	20
2.4.5. Kültürlere uygulanan ön sıcaklık şokları	22
2.4.6. Kültür koşulları	24
2.5. Türkiye’de Patlıcanda Yapılan Androgenesis Çalışmaları	24
3. MATERYAL VE METOT	31
3.1. Materyal	31
3.2. Metot	32
3.2.1. Donör bitki yetiştiriciliği.....	32
3.2.2. DAPI boyama ile uygun mikrospor safhasının belirlenmesi	33
3.2.3. Tomurcukların sterilizasyonu.....	34
3.2.4. <i>In vitro</i> anter kültürleri	34
3.2.4.1. Besin ortamlarının hazırlanması	34
3.2.4.2. Anterlerin kültüre alınması ve bitki rejenerasyonu	37
3.2.4.3. Anterlere uygulanan ön işlemler	39
3.2.4.4. Kültür koşulları ve aklimatizasyon	42
3.2.5. İncelenen Deneme Verileri	44
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	46
4.1. DAPI Boyama ile Uygun Mikrospor Safhasının Belirlenmesi	46

4.2. In Vitro Anter Kùltùrlerine Ait Sonuçlar	47
4.2.1. İlkbahar anter kùltùrleri	47
4.2.2. Sonbahar anter kùltùrleri.....	58
4.2.2.1. Sonbahar katı anter kùltùrleri.....	58
4.2.2.2. Sonbahar sıvı anter kùltùrleri	75
5. SONUÇLAR	82
6. KAYNAKLAR	85
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Patlıcanda (*Solanum melongena* L.) Haploid Bitki Elde Etme Amacıyla Anter Ve Shed-Mikrospor Kültürlerinin Karşılaştırılması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

24/06/2019

Gülsün Elif VURAL

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
°C	: Santigrad derece
Co60	: Kobalt 60
g/L	: gram/litre
ha	: Hektar
L	: Litre
M	: Mol
mg/L	: miligram/litre
UV	: Ultraviyole

Kısaltmalar

2,4-D	: 2,4-Di chloro phenoxy acetic acid
ABA	: Absizik asit
ACC	: 1aminocyclopropane-1-carboxylic acid
AgNO ₃	: Gümüş Nitrat
AS	: Anter sayısı
AVG	: Aminoethoxy-vinylglycine
BAP	: Benzil amino purin
BGD	: Bitki gelişim düzenleyicisi
BO	: Besin ortamı
BOO	: Bitki oluşum oranı
BS	: Bitki sayısı
CO	: Modifiye edilmiş farklı C ortamları
DAPI	: 4',6-diamidino-2-phenylindole

DDV-C	: Dumas de Vault C ortamı
DDV-R	: Dumas de Vault R ortamı
DH	: Doubled haploid
EOO	: Embriyo oluşum oranı
ES	: Embriyo sayısı
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
G	: Genotip
IAA	: İndol-3-asetik asit
IBA	: İndol butirik asit
KOO	: Kallus oluşum oranı
Mod-C	: Modifiye edilmiş Dumas de Vault C ortamı
Mod-R	: Modifiye edilmiş Dumas de Vault R ortamı
MS	: Murashige ve Skoog (1962) besin ortamı
NAA	: Naftalen asetik asit
NLN	: Nitsch ve Nitsch (1969) tarafından geliştirilen ve Lichter (1981, 1982) tarafından modifiye edilen besi ortamı
NN	: Nitsch ve Nitsch (1969) besin ortamı
OT	: Ortam tipi
RO	: R ortamı ve modifiye edilmiş (Mod-R) R ortamı
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Solanum cinsi içerisindeki ekonomik önemi yüksek sebze türlerinin Dünyadaki üretim oranları	4
Şekil 1.2. Dünyadaki en büyük 10 patlıcan üreticisi ülkeler	5
Şekil 1.3. Türkiye’de 2007-2017 yılları arası patlıcan üretim miktarları	5
Şekil 1.4. Türkiye’de 2007-2017 yılları arası patlıcan üretim alanları	6
Şekil 1.5. Ülkemizde bölgelere göre patlıcan üretim alanları	6
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan donör bitki genotiplerinin seradaki görüntüleri. a/d) A117 F ₁ genotipi; b/e) Anamur F ₁ genotipi; c/f) Darko F ₁ genotipi	31
Şekil 3.2. Uygun mikrospor safhasının belirlenmesi için 3 genotipin morfolojilerine göre gruplara ayrılması. a) A117 F ₁ genotipi; b) Anamur F ₁ genotipi; c) Darko F ₁ genotipi	33
Şekil 3.3. Anterlerin kültüre alındığı büyütme odası	43
Şekil 3.4. <i>In vitro</i> bitkiciklerin aklimatizasyonu sırasında ilk dış koşullara alıştırma işleminin yapıldığı adaptasyon odası	44
Şekil 4.1. Tez çalışmasında belirlenen uygun anter ve mikrospor evreleri. a) Kültür için uygun mikrosporları içeren anterler; b) DAPI boyama ile belirlenmiş kültür için uygun aşamadaki geç tek çekirdekli mikrosporlar ve; c) erken çift çekirdekli mikrosporlar	46
Şekil 4.2. İlkbahar döneminde Anamur genotipinde oluşmaya başlayan embriyolar	48
Şekil 4.3. İlkbahar döneminde Darko genotipinde katı 12 nolu ortamda oluşan ve rejenerasyon için BGD içermeyen MS ortamına aktarılan bitkicikler	49
Şekil 4.4. İlkbahar dönemi katı ortam tipinde farklı Modifiye-C ortamlarında kültüre alınan genotiplerin 100 anter başına elde edilen embriyo ortalamaları üzerine etkisi ($p < 0.0001$)	57
Şekil 4.5. İlkbahar dönemi katı anter kültürlerinde elde edilen toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları	58
Şekil 4.6. Sonbahar döneminde oluşan embriyo ve bitkicikler (a-c) ve tüplere aktarılan bitkicikler (d)	59

Şekil 4.7. Sonbahar döneminde anter kültürlerinden üretilen ve aklimatize edilerek seraya transfer edilen bitkiler: (a, b) aklimatizasyon sonrası seraya aktarılan <i>ex vitro</i> rejenere bitkicikler (c) daha büyük saksılara şaşırtılan rejenerantlar; (d) <i>in vitro</i> kökenli bitkilerin seradaki farklı gelişim aşamaları	60
Şekil 4.8. Sonbahar dönemi katı anter kültürlerinde genotiplerin 100 anter başına elde edilen embriyo ve bitkicik sayısı ortalamaları üzerine etkisi ($P <,0001$).....	65
Şekil 4.9. Sonbahar dönemi katı anter kültürlerinde Mod-C ortamlarında kültüre alınan anterlerin 100 anter başına ürettikleri embriyo ve bitkicik ortalamaları ($P <,0001$)	66
Şekil 4.10. Sonbahar dönemi katı anter kültürlerinde A117 F ₁ çeşidinin Mod-C ortamları ile etkileşimlerinin 100 anter başına elde edilen embriyo verimi üzerine etkileri ($p <,0001$)	67
Şekil 4.11. Sonbahar dönemi katı anter kültürlerinde Anamur çeşidinin Mod-C ortamları ile etkileşimlerinin 100 anter başına elde edilen embriyo verimi üzerine etkileri ($p <,0001$)	68
Şekil 4.12. Sonbahar döneminde katı 24. ortamından elde edilen embriyo görüntüleri a) Embriyo verimi çok yüksek bir anter, b) Petride oluşan bitkicikler, c-d) A117 genotipinde 24 nolu Mod-C ortamında kültüre alındıktan sonra Mod-R ortamında gelişen embriyo ve bitkicikler, e-f) A117 genotipinde 24 nolu Mod-C ortamında kültüre alındıktan sonra DDV-R ortamında gelişen embriyo ve bitkicikler	72
Şekil 4.13. sonbahar dönemi katı anter kültürlerinde elde edilen toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları	74
Şekil 4.14. Sıvı kültürlerde en başarılı embriyo veriminin elde edildiği A117 genotipinin 12 nolu Mod-C ortamından sonra Mod-R ortamında kültüre alınan anterlerdeki farklı gelişim aşamalarındaki embriyolar	80
Şekil 4.15. Sonbahar dönemi sıvı anter kültürlerinde A117 genotipinden elde edilen toplam embriyo ve bitkicik sayıları	81

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türkiye’de patlıcanda yapılan androgenesis çalışmaları ve ayrıntıları	26
Çizelge 3.1. Seradaki donör bitkilere uygulanan gübreler ve miktarları	32
Çizelge 3.2. Dumas de Vaulx vd. (1981) ve Chambonnet (1985) tarafından geliştirilen patlıcan anter kültürü protokolünde kullanılan C ve R besin ortamlarının içerikleri.....	35
Çizelge 3.3. Murashige ve Skoog (1962) tarafından geliştirilen besin ortamının içeriği.....	36
Çizelge 3.4. İlkbahar dönemi denemelerinde katı, sıvı ve shed-mikrospor kültürlerinde kullanılan Mod-C besin ortamı uygulamaları.....	39
Çizelge 3.5. İlkbahar dönemi denemelerinde katı, sıvı ve shed-mikrospor kültürlerinde kullanılan Mod-R besin ortamı uygulamaları.....	39
Çizelge 3.6. Sonbahar dönemi denemelerinde katı ve sıvı anter kültürlerinde kullanılan Modifiye C (Mod-C) besin ortamı uygulamaları	41
Çizelge 3.7. Sonbahar dönemi denemelerinde katı ve sıvı anter kültürlerinde kullanılan Mod-R besin ortamı uygulamaları	42
Çizelge 4.1. Patlıcanda ilkbahar döneminde yapılan anter kültürü denemelerine ait varyans analizleri ve interaksiyonları.....	52
Çizelge 4.2. İlkbahar dönemi anter kültürleri sonuçlarına ait 3’lü interaksiyon (genotip*ortam tipi*C ortamı) ortalamaları	56
Çizelge 4.3. İlkbahar dönemi katı anter kültürlerinde elde edilen toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları	59
Çizelge 4.4. Patlıcanda sonbahar döneminde katı ortamda yapılan anter kültürü denemelerine ait varyans analizleri ve interaksiyonları	62
Çizelge 4.5. Sonbahar döneminde iki genotiple yapılan katı anter kültürleri sonuçlarına ait 3’lü interaksiyon (genotip*Mod-C ortamı*R ortamları) ortalamaları	70
Çizelge 4.6. Sonbahar dönemi katı anter kültürlerinde Mod-C ve R ortamı gruplarına göre elde edilen toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları.....	74
Çizelge 4.7. Sonbahar dönemi katı anter kültürlerinde elde edilen toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları.....	75
Çizelge 4.8. Patlıcanda sonbahar döneminde sıvı ortamda yapılan anter kültürü denemelerine ait varyans analizleri ve interaksiyonları	77

Çizelge 4.9. Sonbahar dönemi sıvı anter kültürleri sonuçlarına ait 3'lü interaksiyon (genotip*C ortamı*R ortamı) ortalamaları.....	80
Çizelge 4.10. Sonbahar dönemi sıvı anter kültürlerinde elde edilen toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları.....	82

1. GİRİŞ

Gıda, kozmetik, tıp ve süs bitkileri sektörleri için önemli bitki türlerini içerisinde barındıran Solanaceae familyası ekonomik değer açısından dünyada üçüncü sırada yer almaktadır (Mueller vd. 2005). Solanaceae familyası 90 cins içerir ve içerisinde yaklaşık 3.000-4.000 arasında tür bulunmaktadır (Knapp vd. 2004). Familyanın hemen hemen yarısı *Solanum* cinsine ait olmakla birlikte bu cinsin içerisindeki tür sayısı yaklaşık 2.300 civarındadır. *Solanum* cinsinin içerisinde yer alan çoğu tür Yeni Dünya ülkesi olarak bilinen Amerika'ya özgü olmakla birlikte %20'lik bir kısmı Eski Dünya ülkelerinin türleridir. Solanaceae morfolojik açıdan farklılık gösteren birçok kültüre alınmış türün kaynağını oluşturmaktadır (Sekara 2007). Bu familyanın üyeleri dünyada Antartika dışındaki tüm kıtalarda çok geniş bir alanda dağılım göstermekte olup, farklı ortamlara hatta çöl gibi sert koşullara sahip bölgelere bile adapte olabilmektedirler. Tür çeşitliliğinin büyük bir bölümü Orta ve Güney Amerika'da (Amazon ve Andes Bölgelerindeki tropik iklimlerde) (Knapp vd. 2004) görülmekle birlikte, küçük bir kısmı Avusturalya, Asya ve Afrika'da da görülmektedir.

Solanum cinsi içerisinde yenilebilir meyveleri olan en önemli kültür sebzelerini; patates, domates ve patlıcan oluşturmaktadır. Bunlardan patlıcan Dünyada ve Ülkemizde ekonomik değeri oldukça yüksek sebzelerden birisidir (FAO 2019). Patlıcan (*Solanum melongena* L.) ($2n=2x=24$) olarak Dünyada ve Türkiye'de önemli sebze türlerinden birisidir ve Asya ile Akdeniz havzasında yaygın şekilde yetiştirilir. Farklı ülkelerde 'aubergine', 'brinjal', 'badanjana', 'berenjena', 'eggplant', 'Gine kabağı' gibi isimlerle anılmaktadır (Nothmann 1986, Choudhury 1995, Lawande ve Chavan 1998, Daunay vd. 1999, Kashyap vd. 2003).

Patlıcan bitkilerinin gövde yapısı dik ve güçlü olduğundan dolayı herhangi bir dayanağa ihtiyaç duymamaktadır. Kuvvetli bir kök sistemine sahiptirler. Dallanma 4-5 boğumdan sonra başlar ve buradan da 2. yan dallar oluşur. Çiçek yapısı erseliktir ve yaprak koltuklarından başlarlar. Erkek organlar (anterler) 5-8 adet arasında değişebilmekte olup olgun aşamada renkleri sarı olur ve bileşik durumda bulunurlar. Dişi organ erkek organlar (anterler) tarafından çevrelenmiştir. Taç yaprakları 5-8 arasında değişmekte olup renkleri mordan açık maviye kadar değişir. Partenokarpiye eğilim vardır. Kendine dölllenme oranı %60-80 arasında olup, dişi organın erkek organlardan yukarıda olması durumunda yabancı dölllenme oranının yaklaşık olarak %47 arttığı bildirilmiştir (Aybak 2005). Bir patlıcan bitkisinden 10-30 meyve hasat edilebilir.

Çok uzun zaman önce kültüre alınarak yetiştirilmeye başlanan patlıcanın anavatanı hakkında birbirinden farklı görüşler bulunmaktadır. İlk kez Afrika, Avrupa ve Asya'da kültüre alınmıştır (Daunay vd. 2001; Boyacı 2007). Bununla birlikte, birincil gen merkezinin Asya bölgesinin Indo-Burma bölgesi ile Hindistan, ikincil gen merkezinin ise Çin olduğu kabul edilmektedir (Kalloo 1993).

Bitkiler buldukları çevrenin olumlu ya da olumsuz şartlarından etkilenip o bölgelere adapte olmaya çalışmaktadırlar. Bu adaptasyon sürecinde adapte olamayan bitkiler hayatlarını kaybederken, adapte olabilenler yaşamlarını devam ettirebilmek için bazı özelliklerini saklarlar veya geliştirirler ve bu sayede buldukları bölgelerde değişik varyasyonlar meydana gelir. Bu nedenle *S. melongena*'nın da varyeteleri, genotipleri, yabani ve yarı yabani formları ile çeşitli karakterler için gözlemlenen ilgili türler arasında büyük bir morfolojik çeşitlilik bulunmaktadır. Meyve rengi, büyüklüğü, şekli ve tadı bu bireyler arasındaki farklılığı oluşturan en belirgin özelliklerdir (Collonnier vd. 2001;

Kashyap vd. 2003; Nothmann 1986; Daunay vd. 2001 ve Frary vd. 2007). Bunlara ek olarak; habitüs, verim, kullanım alanı ve benzeri özellikler bakımından da farklılıklar göstermektedirler (Güvenç 2016). Farklı araştırmacılar patlıcanları erkenci-geççi olma durumuna, bulunduğu çevre şartlarına uyumuna, kökenine, şekline, rengine ve diğer özelliklerine göre çeşitli sınıflara ayırmışlardır (Günay 1992). Bununla birlikte farklı ülkelerde kültür bitkisi olarak yetiştirilen *S. melongena* L.'nin genel olarak dört varyetesi olduğu kabul edilmektedir. Bu varyeteler; 1. var. *esculantum*, 2. var. *serpentium*, 3. var. *insanum*, 4. var. *depressum* olup; renk, şekil, habitüs, verim, kullanım alanı ve benzeri özellikler bakımından farklılıklar göstermektedirler (Güvenç 2016). Bu varyeteler:

1. *S. melongena* var. *melongena* (syn. *melongena* var. *esculenta* Nees); yuvarlak, uzun, yumurta şeklinde meyvelere sahiptir.
2. *S. melongena* var. *serpentium* Desf.: uzun ve ince meyveleri (yılankavi) vardır.
3. *S. melongena* var. *insanum*; yabani formlu, bitki dikenli olup küçük meyvelere sahiptir.
4. *S. melongena* var. *depressum* L.: erkenci ve kısa boylu bitkilerdir. Mor renkli armut şeklinde küçük meyvelidir.

Türün kültüre alınmadan önceki formları dikenli, küçük ve acı meyveli iken kültüre alınma sırasında büyük, lezzetli meyve ve dikensizlik yönünde seçimler yapılarak günümüzdeki formları oluşturulmuştur (Choudhury vd. 1995; Doğanlar vd. 2002; Daunay vd. 2001). Türkiye'deki patlıcan çeşitliliğine gelince; farklı iklimsel özellikler ve yüzyıllardır yetiştiriciliğinin yapılması Ülkemize özgü yerel çeşitlerimizin oluşmasına katkı sağlamış ve Türkiye'nin patlıcanın ikinci çeşitlilik bölgesi olarak gösterilmesine neden olmuştur. Zhukovsky 1925-1926 yılları arasında Türkiye'de seyahat ederek patlıcan örnekleri toplamış ve bunlar üzerinde çalışmalar yaparak Anadolu topraklarında beş farklı patlıcan varyetesi tespit etmiştir (Galenbus 1951).

Kökene antik çağlara dayanan patlıcanın gıda ve ilaç olarak kullanımını hakkındaki ilk tanımlayıcı bilgilere M.Ö. 300 yıllarında Sanskritçe yazılan dokümanlarda rastlanmıştır. Bu yazılardaki; shakasreshta: mükemmel sebzeyi, rajakushmand: kraliyet kavununu, nilphala: mavi meyveyi, kantavrintaki: kantalu: kantapatrika: bitkinin dikenli karakterine işaret edilmekte, nidralu kelimesi ile de bitkinin narkotik veya hipnotik özellikleri ifade edilmektedir (Nadkarni 1927). Hint tıp sistemlerinden birisi olan Ayurveda'da ise diyabetik hastalar için beyaz meyveli patlıcan tipleri, astım tedavisi içinse patlıcanın kökleri önerilmiştir (Daunay vd. 2007). Yapılan çalışmalar patlıcanın içerdiği yüksek orandaki alkaloidler nedeniyle geleneksel Çin ve Hint tıbbında yüzyıllardır kullanıldığını (Daunay ve Janick 2007; Daunay vd. 2007), günümüzde de bu önemli kimyasal bileşikler nedeniyle modern tıptaki çeşitli ilaçların yapımında hala önemli rol oynadığını ortaya koymuştur.

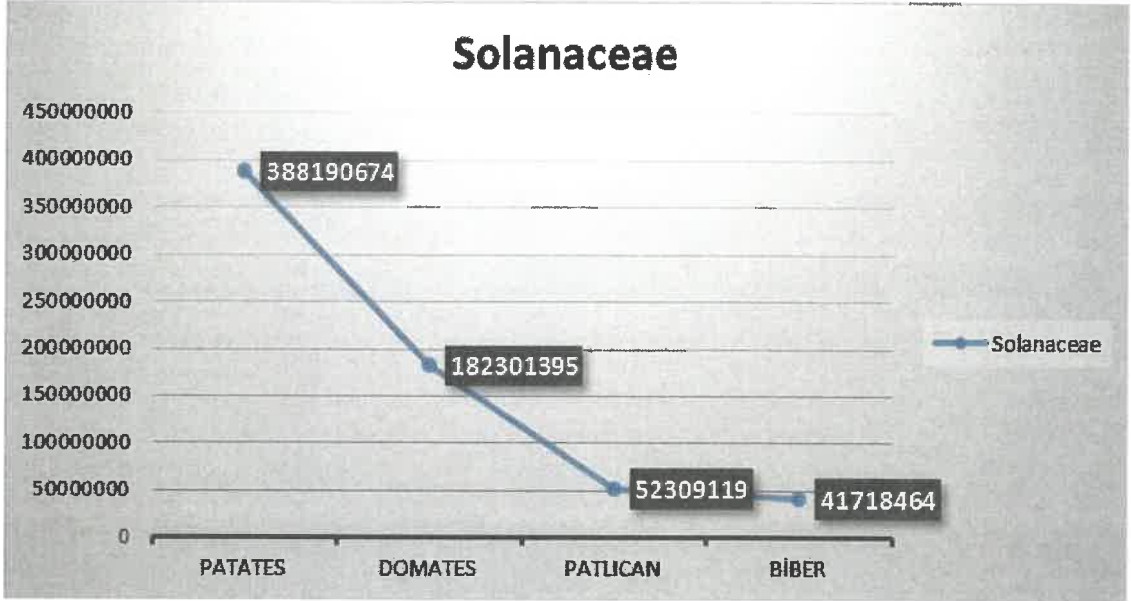
Öte yandan, 4. YY antik Hint yazıtlarında patlıcanın istenmeyen bitkiler arasında yer aldığını bildirilmiştir (Khan 1979b). Çünkü bazı insanlarda alerjik reaksiyonlar gibi olumsuz etkiler oluşturduğu bilinmektedir (Siddanakoppalu ve Yeldur 2004). Bu nedenle bazı kaynaklar besin değeri bakımından patlıcanın insan beslenmesi için yetersiz olduğunu ifade etseler de, patlıcan mineraller ve vitaminlerce zengin bir besin kaynağıdır. Taze patlıcan % 92.7 su, % 4 karbonhidratlar ve vitaminler, % 1.4 protein, % 1.3 lif, % 0.3 yağ ve % 0.3 minerallerden oluşmaktadır (Khan 1979; Lawande ve Chavan 1998, Collonnier vd. 2001). 100 g taze patlıcan, insanın günlük ihtiyacı olan potasyumun 198.5

mg' nı, fosforun 26.6 mg' ı ve bakırın 0,062 mg' ı tek başına sağlamaktadır (Mary'a D. Raigo'n vd. 2008). Tüm bunların yanında patlıcan çok güçlü bir antioksidan kaynağıdır. İçeriğinde çok fazla antioksidan ve fenolik madde barındırmaktadır. Son yıllarda yapılan birçok araştırma antioksidanlar ve fenoliklerce zengin besin maddelerinin günlük yeterli miktarlarda tüketilmeleri durumunda yaşlanmanın getirdiği sağlık sorunlarının ve buna bağlı kronik rahatsızlıkların hatta kardiovasküler hastalıklar ile kanser gibi ölümcül hastalıkların önlenmesinde önemli bir yer tuttuğunu göstermiştir (Doll 1990; Bravo 1998). Bunlara ek olarak kültüre alınmış patlıcanlar ve yabancı patlıcanlar tarafından üretilen alkaloidlerin, tümör hücrelerinde programlı hücre ölümlerini indüklediği belirtilmiştir (Kuo vd. 2000; Cham 2007). Ayrıca, patlıcanın kulak iltihabı, kolera, idrar zorluğu ve diş ağrılarına karşı da etkili olduğu bildirilmiştir (Khan 1979a).

Patlıcan içerdiği birçok besin elementi ile tıbbi faydalarının yanında, insan beslenmesinde de önemli bir yere sahiptir. Türk mutfağının vazgeçilmez sebzeleri arasındaki patlıcandan taze, kurutmalık ve dondurulmuş olarak tüketilmesinin yanı sıra, reçel, turşu, sos ve salatalarda kullanılmaktadır (Kaygısız 2000). İlave olarak, son zamanlarda lifli yapısı, düşük kalorisi nedenleriyle diyet listelerindeki kullanımı ile de dikkat çekmektedir. Hasat olgunluğuna gelmemiş patlıcanlar 'solanin' maddesi içermekte olup pişirilmeden tüketilmesi zehirlenmeye yol açabilmektedir. Solanin maddesi pişirilirken ısıdan dolayı parçalanarak zararsız hale dönüşmektedir (Aybak 2005). Dünya çapında yetiştiriciliği yapılan patlıcanın tam olgunluğa ulaşmamış meyveleri çiğ, kurutularak ya da pişirilerek tüketilebilmektedir. Dünya mutfaklarında önemli yer tutan patlıcan Fransız mutfağında 'ratatouille', İtalyan mutfağında 'parmigiana di melanzane', Hint mutfağında 'sambhar', 'dalma', 'chutney', 'achaar', İran mutfağında 'kashk', Türk, Yunan, Orta Doğu ve Güney Asya mutfağında 'musakka' yapımında ve bunun yanında farklı salata ve mezelerin yapılışında katkı malzemesi olarak kullanılmaktadır. Türk mutfağında ise 'musakka' nın yanı sıra 'karnıyarık', 'imam bayıldı', 'şakşuka', 'kuru patlıcan dolması' gibi geleneksel yemeklerin ana malzemesi olarak çok önemli bir yer tutmaktadır (Altaya 2015). Bunlara ek olarak, patlıcan son yıllarda özellikle kurutularak ve farklı şekillerde konserve edilerek ihraç edilmektedir.

Patlıcanın Türk mutfağında çok farklı kullanım alanları mevcuttur. Patlıcan genel inanın aksine, içerdiği vitaminler ve mineraller bakımından zengin olup önemli besin değerine sahiptir, insan sağlığı için çok kıymetli antioksidan ve fenolik maddeler içermektedir. Bu nedenle eski zamanlardan bu yana dünyada ilaç yapımı ve alternatif tıpta sıkça kullanılmıştır. Meyve ve yaprakları kandaki kolesterol seviyesini düşürücü etki yaparken; ekstraktının diyabet, astım, bronşit ve sindirim güçlüğü gibi farklı tedavilerde kullanıldığı bilinmektedir (Porcelli 1986; Rotino 1996).

Tüm bu kullanımlar nedeniyle patlıcan Dünyada ve Türkiyede üretim ve tüketim yönünden önemli sebze türlerindedir. Tüm dünyada 2017 yılında 1.858.253 hektar alanda 52.309.119 milyon ton ile Solanaceae familyası içerisinde patates ve domatesten sonra üretimi en fazla yapılan üçüncü sebze türü patlıcandır (FAO 2019) (Şekil 1.1.).

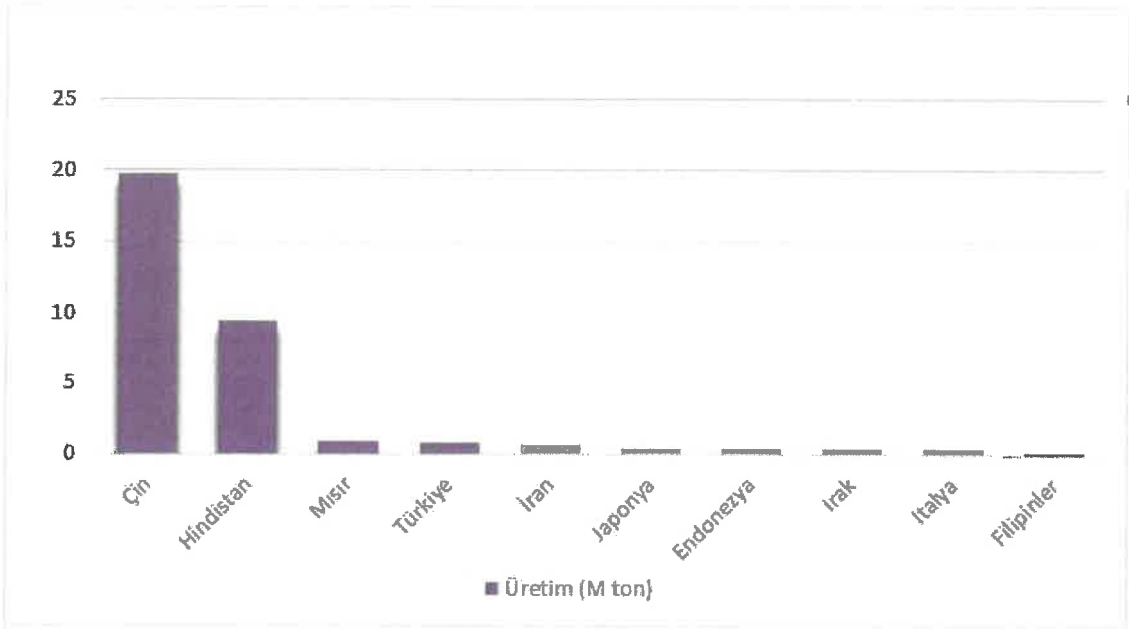


Şekil 1.1. Solanum cinsi içerisindeki ekonomik önemi yüksek sebze türlerinin Dünyadaki üretim oranları (FAO 2019)

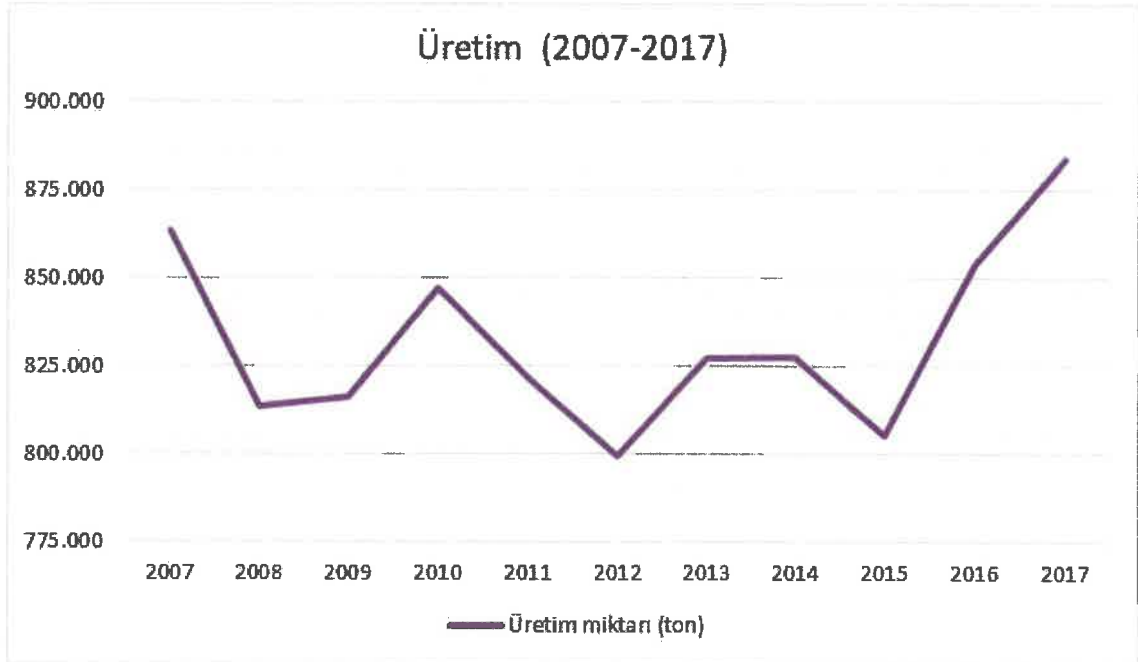
Yoğun olarak Asya kıtasında ve Akdeniz havzasında yetiştiriciliği yapılan patlıcanın üretimi ülkelere ve kıtalara göre değişkenlik göstermektedir. Dünyada üretilen toplam patlıcanın %85 ini 3 ülke karşılamaktadır. Dünyanın en büyük patlıcan üreticisi olan Çin toplam üretimin %57' sini 19.799.390 ton ile tek başına karşılarken, onu 9.417.909 tonla dünya üretiminin %26'sını karşılayan Hindistan ve ardından sırasıyla Mısır, Türkiye ve İran takip etmektedir (FAO 2017) (Şekil 1.2.).

Tüm üretimin % 93'ü Asya kıtasında gerçekleştirilirken Avrupa kıtasındaki % 2.5'lük üretimin % 1.9'unu 867.514 ton ile Türkiye tek başına gerçekleştirmiştir. Afrika kıtasındaki en önemli üretici ülke Mısır olup 968,155 tonluk üretim ile Dünyadaki en büyük üçüncü üretim yapan ülkedir.

2018 TÜİK verilerine göre Ülkemizde meyvesi için yetiştirilen sebzelerin üretim miktarlarına bakıldığında; domates 12.150.000 ton, biber 2.554.974 ton, hıyar 1.848.273 ton, patlıcan ise 836.284 ton ile dördüncü sırada yer almaktadır (Anonim 2019). Ülkemizdeki patlıcan üretimi ve üretim alanı yıllara göre dalgalanmalar göstermektedir. FAO'dan alınan veriler ışığında Şekil 1.3. ve Şekil 1.4.'te son10 yılın üretim miktarları (ton) ile üretim alanları (ha) olarak verilmiştir. Son yıllarda üretim alanında ve miktarında görülen artışların patlıcanda tek sezon örtü altı yetiştiriciliğinden ve çiftçilerimizin daha bilinçli üretim yapmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

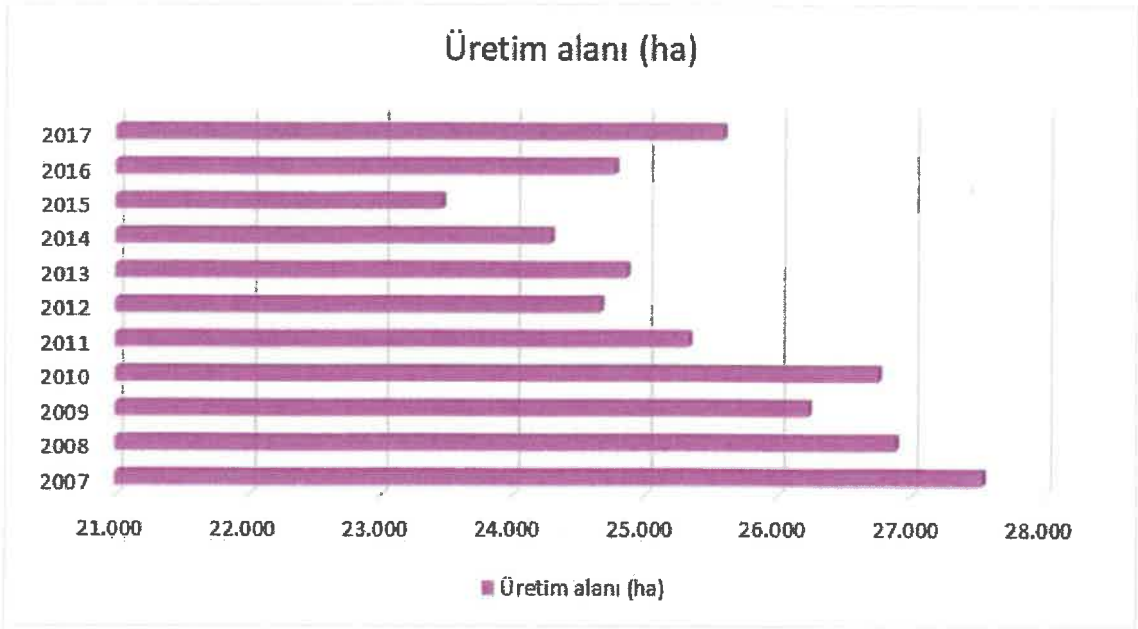


Şekil 1.2. Dünyadaki en büyük 10 patlıcan üreticisi ülkeler (FAO 2019)

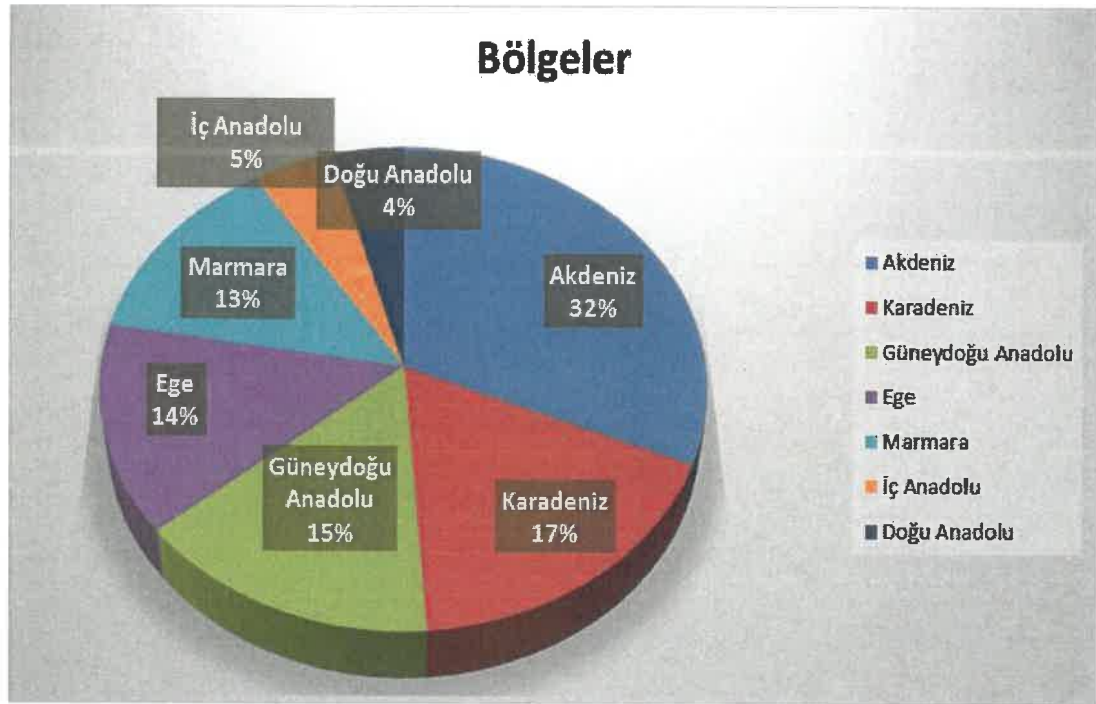


Şekil 1.3. Türkiye’de 2007-2017 yılları arası patlıcan üretim miktarları (FAO 2019)

Türkiye coğrafi yapısı ve konumu itibariyle sebze yetiştiriciliği açısından önemli merkezlerden birisidir. Toprak yapısı ve iklim özelliklerinin geçiş bölgelerinde bile farklılık göstermesi, zengin su kaynaklarına sahip olması birçok sebze türünün yetiştirilmesine olanak sağlamaktadır. Bölgelere göre üretimde patlıcan yetiştiriciliğini kısıtlayan en önemli faktör iklimdir. İklimin daha uygun olduğu ılıman iklim kuşağındaki Akdeniz Bölgesinde Türkiye üretiminin yaklaşık olarak 1/3’ü yapılmaktadır (Şekil 1.5.).



Şekil 1.4. Türkiye’de 2007-2017 yılları arası patlıcan üretim alanları (FAO 2019)



Şekil 1.5. Ülkemizde bölgelere göre patlıcan üretim alanları (TÜİK 2016)

Dünyada tropik iklim kuşağında yer alan ülkelerde çok yıllık olarak yetiştiriciliği yapılan patlıcanın serin iklim kuşağında yer alan bölgelerde tek yıllık olarak yetiştirilmektedir. Ülkemizde ise açık alanda yazlık sebze, örtü altında ise kışlık (tek sezon), ilkbahar ve güzlük (çift sezon) olarak yetiştiriciliği yapılmaktadır.

Patlıcanın ülkemiz tarihindeki yerine gelince; 1970'li yıllara kadar açıkta yetiştiricilik yerel çeşitlerden elde edilen standart tohumlarla yapılmaktaydı. 1970'li yılların sonlarına doğru patlıcanda örtüaltı yetiştiriciliği başlamıştır. Örtüaltı yetiştiriciliğinde yerel çeşitlerimizin standart tohumları ile başlayan üretim, son yıllarda tamamen F₁ hibrit tohumlar ile yapılmaktadır. Günümüzde yerel çeşitlerin kullanımı açıkta yetiştiricilikte de çok düşmüş olup hibrit çeşitlerin kullanımı artmıştır (Boyacı ve ark. 2010). Patlıcanın çift sezon yetiştiriciliği son zamanlarda iyi gelir getirdiği için sıklıkla örtü altındaki yetiştiricilik tercih edilmeye başlanmıştır. Sera ve tohum teknolojilerinin de gelişmesiyle birlikte böylece patlıcan Türkiye'de yıl boyunca üretilen sebzelerden birisi haline gelmiştir. Meyve rengi, uzunluğu, parlaklığı ve şekli pazarı belirleyen en önemli kriterlerden olup aynı zamanda ıslah hedefleri arasında bulunmaktadır. Patlıcandaki diğer ıslah hedefleri; pazarın istediği özelliklere sahip, verimli çeşitler, daha kaliteli ürünler, hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı, abiyotik stres koşullarını (soğuk ve kurağa dayanıklılık ve uygun olmayan toprak koşullarına toleran gibi) tolere edebilen bitkiler geliştirebilmektir. Patlıcanda heterosisin keşfedilmesinden (Kakizaki 1931) itibaren günümüze kadar ıslah çalışmaları artarak devam etmiş ve farklı melezler geliştirilerek verim arttırılmıştır. Bunun sonucu olarak ticari çeşitlerin birçoğu F₁ melezlerinden oluşmaktadır. Nitekim Ülkemizde örtü altı patlıcan yetiştiriciliğinde genellikle uzun silindirik tipte koyu mor ve siyah renkli F₁ hibrit çeşitler tercih edilmektedir (Ekiz ve Boyacı 2001). Bu nedenle Dünyada olduğu gibi Türkiye'de de patlıcandaki ıslah çalışmaları ve özellikle F₁ hibrit çeşit ıslahı daha da önem kazanmıştır.

Seralarda yetiştirilen çeşitlerin verimi; standart çeşitlere göre daha yüksek verim değerlerine sahip, fenotipik yönden açılma göstermeyen ya da çok az açılım gösteren F₁ hibrit çeşitler sayesinde çok artmış ve bu nedenle hibrit çeşitler büyük bir hızla piyasaya girmiştir. Ancak bu durum, açılım oranı yüksek fenotipik varyasyonlara sahip standart çeşitlerin çok hızlı bir şekilde azalmasına, yöresel bazı çeşitlerin neredeyse ortadan kalkmasına sebep olmuştur. 1970'lerden bu yana genetik erozyon tüm dünyada başlamış olup Türkiye'de de hızla yayılmaktadır.

Patlıcan yönünden zengin genetik kaynaklarına sahip olan Türkiye'de; bu genetik erozyonun karşısında, kaynaklarının korunması yönünde ciddi adımların atılması ve yerel popülasyonlara sahip çıkılarak mevcut ıslah programlarına dahil edilmesi zorunludur. Islah programlarına alınan yerel genotipler saf hat haline getirilerek, bu hatlardan farklı hibritler geliştirilmesi ve piyasanın istediği özelliklerde yerli patlıcan hibritlerinin üretilmesi mümkündür. Bu amaçla klasik ve modern ıslah yöntemlerinin birlikte kullanılması daha hızlı yol kat edilmesini sağlayacaktır.

Modern ıslah teknikleri arasındaki haploidi tekniklerinin kullanımı, özellikle tek generasyonda %100 homozigot saf hatların üretilmesine olanak tanınması nedeniyle ıslahçılar için çok büyük avantajlar sağlamaktadır. Günümüze kadar olan patlıcan haploidi çalışmalarında, androgenezis teknikleri ve bunlar arasında daha çok anter kültürü kullanılmıştır. Anter kültürlerinde kullanılan protokollerin temeli hala Dumas de Vault vd. (1981)'nin biber anter kültüründe kullandıkları protokolün farklı versiyonlarına dayanmaktadır.

Patlıcanda izole edilmiş mikrospor kültürü çalışmalarında ise günümüze kadar etkin bir protokol geliştirilememiş olmasına rağmen anter kültürüne göre farklı avantajları nedeniyle bu konudaki çalışmalara devam edilmektedir. Anter ve mikrospor kültürünün dışında, daha doğrusu ikisinin arasında bir teknik olarak değerlendirilebilecek olan, diğer

bir androgenesis tekniği shed-mikrospor kültürüdür. Bu teknik patlıcanda henüz denenmemiş olsa da özellikle diğer bir Solanaceae türü olan biberin sebze ve süs bitkisi tiplerinde pratik bir haploidi yöntemi olarak yüksek etkinliği ortaya konulmuştur.

Kısacası patlıcanda mikrospor kaynaklı embriyogenesise dayalı, genetik orijin yönünden güvenilir ve pratik bir yöntem arayışı hala devam etmektedir. Geliştirilmesi umulan, uygulaması kolay pratik haploidi protokolleri patlıcan ıslah çalışmalarına büyük ivme kazandırma potansiyeline sahiptir. Bu nedenle bu tez çalışmasında *S. melongena*'da etkin ve hızlı bir şekilde haploid bitki elde etmeye yönelik olarak kullanılabilir pratik bir yöntem geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu hedef doğrultusunda öncelikle patlıcan için hala en etkili yöntem kabul edilen olan Dumas de Vault vd. (1981)'nin katı anter kültürü, şimdiye kadar patlıcanda çalışılmayan sıvı anter kültürü ve shed-mikrospor kültürü yöntemleri ile karşılaştırılarak, literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır. Bu yöntemlerin etkileri ilkbahar ve sonbaharda yetiştirilen farklı genotipler üzerinde araştırılmış ve kullanılan besin ortamlarına ilave edilen farklı katkı maddeleri ile yöntem optimizasyonu yapılmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

Patlıcan ıslahında biyoteknolojinin ve bunun içinde yer alan haploidi tekniklerinin önemi her geçen gün daha iyi anlaşılmaktadır. Patlıcanda bugüne kadar yapılan haploidi çalışmalarında androgenesis tekniklerinden yararlanılmıştır. Bunlar arasında kullanılan en yaygın androgenesis tekniği ise anter kültürüdür. Patlıcan mikrospor kültürü çalışmalarında henüz etkin bir protokol geliştirilememiş olmakla birlikte çalışmalara devam edilmektedir. Shed-mikrospor kültürü ve aynı zamanda sıvı anter kültürü ise bilindiği kadarı ile henüz patlıcanda uygulanmamıştır. Dolayısıyla patlıcan haploidi çalışmalarının önünde hala uzun bir yol vardır ve birçok yeni tekniğin kullanımına açıktır. Bunlar sayesinde embriyo verim ve kalitesi çok daha fazla artırılabilir. Uygulaması kolay, pratik yeni haploidi protokolleri patlıcan ıslah çalışmalarına büyük ivme kazandırma potansiyeline sahiptir.

Kaynak taraması bölümünde, tez konusu olması nedeniyle daha çok anter ve shed-mikrospor kültürleri, bu kültürleri etkileyen faktörler ele alınmış ve ayrıca Türkiye’de yapılan patlıcandaki androgenesis çalışmalarına yer verilmiştir.

2.1. Haploidizasyon

Islah çalışmalarında son yıllarda hibrit çeşitlerin geliştirilmesi aşamasında, doku kültürü laboratuvarlarında farklı tekniklerle elde edilen %100 safhatların (doubled haploid= DH) değeri ve önemi daha iyi anlaşılmaya başlanmıştır. Islah hatlarının saflaştırılma süresi kendileme ile türden türe değişmekle birlikte genellikle 5-12 generasyon sürdüğü için ıslahçılar bir generasyonda % 100 saf hatlara ulaşabildikleri haploidi tekniklerini giderek daha çok benimsemişler ve ıslah programlarına dahil etmeye başlamışlardır.

Eşeyli üreme ile türünü devam ettiren bireylerin somatik hücreleri belirli kromozom sayısına sahiptir ve bu kromozom sayıları bitki türlerine göre farklılık göstermektedir. Bir bitkide eşeyli üremenin gerçekleşebilmesi için mayoz bölünme ile kromozom sayısı yarıya inmekte ve daha sonra döllenme ile kromozom sayısı tekrar ikiye katlanarak ana bitkinin kromozom sayısına çıkmaktadır. Mayoz bölünme diploid bir bitkide gerçekleşirse eşey hücreler ana bitkinin yarı kromozomuna ‘n’ kromozomuna sahip olur bu bitkilere haploid veya monohaploid bitkiler denilir. Ama tetraploid bir bitkinin eşey hücrelerinde döllenme olmadan elde edilen bitki de dihaploid olarak adlandırılmaktadır (Hatipoğlu 1999; Gürel vd. 2013). Ait oldukları bitki türünün kromozom sayısının yarısına sahip olan haploid bitkilerin bazı kimyasal maddeler uygulanarak katlanması sonucu, türün normal kromozom sayısına (2n, 4n, 8n vb gibi) yeniden çıkartılması ve mutlak homozigot (% 100 saf) bitkilerin elde edilmesi işlemine dihaploidizasyon adı verilmektedir (Ellialtıoğlu vd. 2001).

Haploid bitki kavramı ilk kez 1922 yılında Blakeslee vd (1922)’nin *Datura stramonium*’da bitkinin eşey hücrelerinin birinde bulunması gereken kromozom sayısı kadar kromozoma sahip, doğal olarak oluşan ve ‘haploid’ olarak adlandırdıkları bitkiyi fark etmeleri ile ortaya çıkmıştır. Doğada kendiliğinden (spontan) haploid oluşumları; ginogenesis, androgenesis, poliembriyoni ve kromozom eliminasyonu yoluyla gerçekleşmektedir. Doğada kendiliğinden haploid bitkilerin oluşma frekansları çok düşüktür. Oluşum frekansı türlere ve hatta genotiplere göre değişmekle birlikte %0.1-0.001 arasında olup çoğu bitki türünde doğal haploidlere rastlanmamıştır (Pocard ve

Dumas de Vaulx 1971). Patlıcanda bugüne kadar spontan partenogenetik haploid bitki oluşumu bildirilmemiştir. Kostoff 1929 yılında *Nicotiana tabacum* X *Nicotiana langsdorfii* türlerini melezleyerek doğal haploidlerin elde edilebildiğini bildirmiştir (Sangwaan ve Sangwaan-Norrel 1990). Haploid bitkilerin elde edilmesinde farklı araştırmacılar türler arası melezlemelerden başka geç tozlama, farklı sıcaklık şokları, ışınlanmış polenlerle tozlama, UV ve X ışınları (Yeung ve Thorpe 1981; Bajaj 1983; Pierik 1989), çiçek tozlarına veya bitkilere farklı kimyasallar (kolhisin, azotoksit vb.) ya da bitki büyüme düzenleyicileri uygulamışlardır (Bajaj 1983; Hosemans ve Bossoutrot 1983; Pierik 1989).

Haploid bitkiler, elde edildiği bitkinin bütün organlarına sahiptirler. Morfolojik olarak elde edildiği bitkiden bazı farkları vardır. Haploid bitkilerin hücreleri daha küçük olduğundan görüntü olarak zayıf, güçsüz, bodur ve daha küçük yapılı bitkiler olup gelişimleri daha yavaştır. Yaprakları dar ve küçük, gövde ve dallarda boğum araları kısa iken, çiçeklenme süresi daha uzundur. Küçük çiçek açarlar ancak sterildirler ve tohum bağlamazlar. Polenleri küçük, anormal şekilli ve içleri boş olup, bu polenlere sahip anterler açılmazlar. Plastid sayıları azdır. Ayrıca stomaları daha küçüktür ve birim alanda daha fazla stoma taşırlar. Haploid bitkiler bu özellikleri ile ele alındığı zaman herhangi bir tarımsal değere sahip değildir. Ancak haploid bitkiler spontan olarak katlandığında veya herhangi bir kimyasal yardımı ile katlandığı zaman özellikle bitki ıslahında ebeveyn adayları olarak kullanılabilirler. Bunun yanı sıra genetik, sitolojik, fizyolojik, biyolojik ve biyokimyasal çalışmalar için son derece önemli ve değerli materyallerdir (Emiroğlu 1982; Er 1992; Ellialtıoğlu vd. 2001; Arı 2006).

Yapılan araştırmalar sonucu *in vitro* tekniklerin *in vivo* haploid bitki elde etme tekniklerine göre daha etkili ve başarılı olduğu belirlenmiştir. Bu teknikler; androgenesis (anter kültürü, mikrospor kültürü, shed-mikrospor kültürü), gynogenesis (ovül, ovaryum kültürü) ve embriyo kurtarmadır. Bu teknikler kullanılarak 37 familyanın 88 cinsine ait 247 farklı türde *in vitro* şartlarda haploid embriyo uyartımı sağlanmıştır (Pierik 1987). Bu teknikler arasında, anterlerin direkt olarak genellikle katı ortamda kültüre alınması esasına dayalı anter kültürü pratik olması nedeniyle en fazla tercih edilen yöntemdir.

Mikrospor kültürü uygun aşamadaki tomurcuklardan çıkartılan anterlerden izole edilen mikrosporların yapay besin ortamında kültüre alınarak haploid bitki elde edilmesine dayanmaktadır. Birçok türde mikrospor kültüründe günümüze kadar etkin bir protokol geliştirilememiş olmasına rağmen mikrospor kültürü anter kültürüne göre bazı avantajlara sahiptir. Anter kültürü çalışmalarında anterlerden tam veya kısmen uzaklaştırılmamış filament parçalarından veya tapetum tabakası gibi anterde bulunan somatik dokulardan kallus veya bitkicik rejenerasyonu oluşabilmektedir. Hatta bazı durumlarda mikrospor kaynaklı kalluslar ile somatik dokulardan oluşan kalluslar birleşerek bunlardan miksoploid bitkicikler oluşabileceği bildirilmiştir (Bal 2002). Mikrospor kültüründe ise anter duvarları ve diğer somatik dokular bertaraf edildiği ve kültüre sadece mikrosporlar alındığı için yukarıda belirtilen sorunlar yaşanmamaktadır. Ayrıca anter duvarında bulunan bazı toksik ve engelleyici maddeler uzaklaştırıldığı için problem oluşturmamaktadırlar. Anter dokularından uzaklaştırılan mikrosporlar besin ortamı içerisine direkt konulduğu için besin ortamındaki ihtiyacı olan maddelerden de direkt fayda sağlayabilmektedir. Mikrospor kültür şartlarında mikrosporların gelişimlerini ve embriyo gelişimlerini izlemek daha kolaydır. Ayrıca bazı türlerde mikrospordan embriyoya dönüşüm direkt sağlandığı için gen transferi çalışmaları için uygun materyal olduğu bilinmektedir. Mutasyon araştırmaları ve genetik manipülasyonlar için de yine

mikrosporlar daha çok tercih edilmekte olup, bunun yanısıra *in vitro* seleksiyonda biyotik veya abiyotik stres şartlarına dayanıklılık incelemelerinde de mikrosporlar uygun başlangıç materyalleri kabul edilmektedir. Tüm bunların içerisinde en önemlisi anter kültüründe kültüre alınan bir anterden sınırlı sayıda embriyo elde edilebilirken, mikrospor kültürünün başarıyla uygulandığı türlerde mikrospordan kat kat yüksek etkinlikle embriyo elde etmek mümkündür (Sequi-Simarro vd. 2011). Özellikle *Brassica napus* gibi bazı türlerde haploid embriyo verimi anter kültürüne oranla çok daha daha yüksektir (Ellialtıoğlu vd. 2001; Ferrie ve Caswell 2011). Tüm bu avantajları nedeniyle mikrospor kültürü konusundaki çalışmalara yoğun şekilde devam edilmektedir. Patlıcan mikrospor kültürü çalışmalarında ise anterler ya ön uygulamaya alındıktan sonra mikrosporlar izole edilerek kültüre alınmış (Gu 1979), ya da mikrosporlar izole edilmesini takiben farklı ön uygulamalara maruz bırakılmıştır (Miyoshi 1994; Rotino 1996; Corral-Martinez ve Simarro 2012).

Patlıcanda en yaygın kullanılan haploidi tekniği; katı, sıvı veya çift fazlı (shed-mikrospor kültürü) anter kültürü veya izole edilmiş mikrospor kültürü gibi çeşitli androgenesis teknikleri arasındaki anter kültürüdür. Patlıcan mikrospor kültürü çalışmalarında henüz etkin bir protokol geliştirilememiş olmakla birlikte çalışmalara devam edilmektedir. Shed-mikrospor kültürü ve aynı zamanda sıvı anter kültürü ise bilindiği kadarı ile henüz patlıcanda uygulanmamıştır. Uygulaması kolay, pratik haploidi protokolleri patlıcan ıslah çalışmalarına büyük ivme kazandırma potansiyeline sahiptir.

2.2. Anter Kültürü

Anter kültürünün esası; normal şartlarda polen hücrelerini meydana getirecek olan mikrosporların tam olgunlaşma aşamasından önce (türe göre belirlenen uygun aşamalarda) alınarak mikrospor gelişimini yavaşlatarak veya durdurarak farklı ön uygulamalarla önce embriyoyu, daha sonra da embriyodan tam bitki oluşumunu teşvik etmek için uygulanan bütün işlemleri içine alan bir süreci kapsamaktadır. Embriyo oluşturma süreci katı, sıvı veya çift fazlı anter kültürlerinde, oluşan embriyoların bitkiye dönüştürülmesi ise çoğunlukla katı rejenerasyon ortamlarında gerçekleştirilir.

Anter kültürü tekniğinin diğer *in vitro* tekniklere göre en önemli avantajı uygulanmasının daha hızlı ve kolay olmasıdır. Bu nedenle çok sayıda türde başarılı bir şekilde uygulanmaktadır. Ancak diğer androgenesis tekniklerine göre en önemli dezavantajı ise kültüre alınan anterlerin sadece mikrosporlarından değil, özellikle tapetum gibi diploid karakterleri hücrelerinin de rejenera olabilme ihtimali ve bunlardan oluşacak diploid bitkilerin spontan DH bitkiler ile karıştırılma riskidir. Bu yüzden anter kültürlerinden elde edilen *in vitro* bitkilerin moleküler markörler ile testlenmesi tavsiye edilmektedir.

Anter kültürü çalışmalarının geçmişinden biraz bahsetmek gerekirse; Tulecke (1953) *Gingko biloba* bitkisinde yaptığı çalışmada ilk defa haploid kallus uyartımı elde etmiştir. Guha ve Maheshwari (1966) *Datura innoxia*'nın anter kültürlerinden mikrospor kaynaklı haploid embriyo elde ettiklerini bildirmişlerdir. 1967 yılında Bourgin ve Nitsch *Nicotiana tabacum* türünde anter kültürü tekniği ile ilk haploid bitkiyi elde etmişlerdir. 1970 yılında Kasha ve Kao ilk maternal haploid bitkileri elde etmişlerdir; kültür arpası ile yumrulu arpayı (*Hordeum vulgare* X *Hordeum bulbosum*) melezleyerek buradan elde ettikleri embriyoları yapay besin ortamında kültüre alarak sonuca ulaşmışlardır.

Patlıcanda ise günümüze kadar yapılmış olan çalışmalarda anter kültürü tekniği kullanılarak çok sayıda haploid veya spontan dihaploid bitkilerin elde edildiği bildirilmiştir. Patlıcan türünde haploid bitki elde etme amacıyla yapılan ilk çalışma anter kültürü üzerine olup, Raina ve Iyer (1973) tarafından rapor edilmiştir. Daha sonra ilk sağlıklı haploid veya doubled haploid (DH) patlıcan bitkilerinin geliştirildiği Çinli Haploid Araştırma Grubu (Research Group of Haploid Breeding) tarafından bildirilmiştir (Anonymous, 1978). Bunları takip eden diğer anter kültürü çalışmalarında (Isouard vd. 1979; Dumas de Vault ve Chambonnet 1982; Misra vd. 1983; Chambonnet 1988; Karakullukçu 1991; Karakullukçu ve Abak 1993 b; Rotino 1996; Alpsoy 1999; Ellialtınoğlu vd. 2012; Doksöz 2015; Rotino 2016; Özdemir Çelik 2018) da haploid ve DH patlıcan bitkilerinin üretimleri başarılı şekilde gerçekleştirilmiştir. Patlıcan anter kültürlerinde uygulanan protokollerin temeli Dumas de Vault vd. (1981)'nin biber anter kültüründe kullandıkları protokolün farklı versiyonlarına dayanmaktadır. Dumas de Vault ve Chambonnet (1982) biber anter kültürü protokolüne benzer bir protokol geliştirerek patlıcanda kullanmaya başlamışlar ve başarılı sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir. Bu protokolün başarısı anterlerin ilk besin ortamına alındıkları zaman, yüksek sıcaklık (35 °C) ile muamelesine dayanmaktadır. Yüksek sıcaklık uygulamalarının haploid embriyogenesi üzerine olumlu etkileri daha önce Brassicaceae familyasında yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir (Hansson 1978; Keller ve Armstrong 1979).

Sıvı anter kültürlerine gelince; bilindiği kadarıyla patlıcanda anter kültüründe sıvı besin ortamı tipinin kullanımına literatürde rastlanmamıştır. Sıvı besin ortamının içeriği de katı besin ortamları gibi olup, sadece içerisinde katılaştırıcı ajanlar bulunmamaktadır. Sıvı kültür tiplerinin kullanımında da farklılıklar uygulamalara göre değişiklikler göstermektedir. Örneğin sıvı besin ortamında kültüre alınan eksplant durağan bir şekilde bırakılabilir, hareketli sistemler (çalkalayıcılar) üzerine yerleştirilebilir, ince bir film tabaka kullanılabilir veya biyoreaktörlerde olduğu gibi eksplantların belirli aralıklarda sıvı besin ortamından çıkartılıp sonra tekrar besin ortamında belirli sürelerle bekletildiği sistemler kullanılabilir. Ticari olarak yapılan mikro çoğaltım çalışmalarında ise genellikle özel şirketler klonal çoğaltımdaki başarılı sonuçlardan dolayı biyoreaktör sistemlerindeki sıvı kültürleri yaygın olarak kullanmaktadırlar. Sıvı anter kültürlerinin kullanımı ise özellikle tarla bitkilerinde yaygın olup, sıvı besin ortamı embriyo oranında artış sağlayarak albinolu bitki oranını düşürdüğü için tercih edilmektedir. Örneğin Zhou vd. (1991) ve Yorgancılar vd. (2016)'nin buğdayda yaptıkları anter kültürlerinde, Adelberg (2005) hosta bitkisinde yaptığı mikroçoğaltımda ve Arı vd. (2015) Black Mondo'da yaptıkları *in vitro* klon seleksiyon çalışmasında kullandıkları sıvı ortamlardan daha başarılı sonuçlar elde etmişlerdir.

2.3. Shed-Mikrospor Kültürü

Shed-mikrospor kültürü anter ve mikrospor kültürü arasında bir "ara yöntem" olarak kabul edilebilir. Bu yöntemde anterler katı bir ortamın üzerine eklenen sıvı ortamda kültüre alınırlar. Ortamların içerisindeki bileşenlere bağlı olarak bir süre sonra açılmaya başlayan anterlerin içerisindeki mikrosporlar sıvı ortama bağımsız şekilde dağılırlar ve bunlardan oluşan embriyolar doğrudan mikrospor orjinlidir. Bu nedenle embriyo orijini konusunda katı anter kültürlerine atfedilen riski taşımazlar ve uygulama kolaylığı yönünden ise izole edilmiş mikrospor kültürüne göre avantajlıdır (Arı vd. 2016a, b). Shed-mikrospor kültürü konusunda yapılan çalışmalar aşağıda verilmiştir:

Supena ve ark. (2006a), biberde shed-mikrospor kültürü olarak isimlendirdikleri bir sistem geliştirmişlerdir. Bu sistem Morrison vd. (1986)'nin temelini attığı ve Dolcet Sanjuan vd. (1997) tarafından geliştirilen protokole dayanmaktadır. Söz konusu sistemde çift fazlı besin ortamının etkinliği araştırılmıştır. Çalışmada, 10 adet Endonezya tipi acı biber genotipinde biber tomurcukları öncelikle farklı sürelerde (0 gün, 1 gün, 3 gün, 7 gün) +4 °C'de bekletilerek kültüre alınmış, ardından anterler farklı sıcaklıklarda (4 °C, 9 °C, 28 °C, 32 °C, 35 °C) inkübe edilmişlerdir. Çalışma sonucunda anterlerden (%50'si geç tek çekirdekli aşamaya sahip mikrosporları içeren); önce +4 °C'de 1 gün ve daha sonra 9 °C'de 7 gün inkübe edilip, ardından 28 °C'de karanlık koşullarda bekletilenlerden en başarılı sonuç elde edilmiştir. Androjenetik tepki yönünden en başarılı besin ortamı içeriği ise katı fazında Nitsch (Nitsch ve Nitsch 1969) ortamı bileşenleri+%2 maltoz+%1 aktif kömür ile sıvı fazında ise Nitsch bileşenleri ile 2.5 µM zeatin ve 5 µM IAA in eklendiği ortam en başarılı ortam olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda tomurcuk başına Galaxy genotipinden 7 ve Tombak genotipinden 4 bitki elde edilmiştir.

Supena vd. (2006) shed-mikrospor kültürü çalışmalarında besin ortamlarına 0.025-0.2 g/l konsantrasyonda aktif kömür ilave etmiştir. Aktif kömürün 0.2 g/l ilave edildiği besin ortamından, aktif kömür içermeyene göre daha sağlıklı embriyolar oluşmuş, embriyo oranında artışlar görülmüş ve özellikle Tombak genotipinde olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Vagera ve Havranek (1985), Dumas de Vaulx vd.(1981) tarafından biber anter kültürü için geliştirilmiş olan besin ortamına aktif kömür ilave ederek başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Dolcet-Sanjuan vd. (1997), dolmalık biberde çift fazlı ortamda BGD kullanmadan sadece aktif kömür ve maltoz ilave ederek yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. 14 dolmalık F₁ hibrit genotipinin kullanıldığı çalışmada, maltozun 10 g/l ve 20 g/l lik konsantrasyonunda embriyo gelişiminin iyi olduğu ama 40 g/l lik maltozda en fazla embriyo elde edildiği bildirilmiştir. Çalışmada 100 anter başına 3-750 arasında embriyo, 0.25-8 arasında bitki oluşumu gerçekleşmiştir.

Supena ve Custers (2011), yukarıda bahsedilen kendilerinin geliştirdikleri protokolleri modifiye ederek oluşan embriyolardan çift kotiledonlu normal embriyo sayısını arttırmayı hedeflemişlerdir. Bu amaçla shed-mikrospor kültürünün 21.gününde sıvı besin ortamlarına 2.5 µM zeatin ve 5 µM IAA ilave etmişler ve ayrıca 28°C lik karanlık koşullarda bekletilen kültürlerin sıcaklığını 21°C'ye düşürerek normal embriyo oluşumunda %50 artış sağlamışlardır. Donör olarak Galaxy genotipinin kullanıldığı çalışmada tomurcuk başına toplam embriyo verimi 106.4 ve normal embriyo verimi ise 35.3 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, katı ortama ilave edilen %1 oranındaki aktif kömürün embriyo kalitesi üzerinde değil, sadece embriyo verimi üzerine etkili olduğu bildirilmiştir.

Arı vd. (2016a), yerel ve ticari süs biberlerinin androjenik kapasitelerini belirleyebilmek için 48 farklı genotipte katı MS (Murashige ve Skoog 1962) ve B5 (Gamborg vd. 1968) besin ortamları ile birlikte shed-mikrospor (Supena vd. 2006a, b; Supena ve Custers 2011) kültürü ortamlarını androjenik performansları yönünden karşılaştırmışlardır. Besin ortamlarının genotiplerin tepkileri üzerine etkileri bakımından MS ortamı 7 genotip, B5 ortamı 13 genotip ve shed-mikrospor kültür ortamı 46 genotipte olumlu tepki oluşturmuştur. Tomurcuk başına ortalama embriyo oluşumları ise MS, B5 ve shed-mikrospor kültürlerinde sırasıyla 0.13, 0.70 ve 6.50 olarak gerçekleşmiştir. Dolayısıyla shed-mikrospor kültürü her iki katı anter kültüründen çok daha başarılı bulunmuştur. Shed-mikrospor kültürleri arasında en verimli genotip 89 numaralı yerel süs

biberi genotipi olmuş ve bu genotipten tomurcuk başına 102.9 embriyo elde edilirken, bunların 34.11'inin normal embriyo olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonucunda 122 DH hattı elde edilerek, süs biberlerinde ilk kez uygulanan shed-mikrospor kültürü yönteminin süs biberi ıslahında başarıyla kullanılabilir bir haploidi yöntemi olduğu ortaya konulmuştur.

2.4. Androgenesisde Başarıyı Etkileyen Faktörler

2.4.1. Genotip

Literatür incelendiğinde donör bitkilerin yetiştirme şartlarından başlayarak haploid bitkiler elde edilene kadar yapılan bütün işlemlerin aynı olmasına rağmen genotiplerin embriyo oluşum ve haploid bitki verimi tepkilerinde büyük farklılıklar görülmektedir. Genotipten kaynaklı farklılıkların temeli Dunwell (1976) tarafından farklı genotiplerdeki içsel aminoasit miktarlarının aynı olmaması ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan farklı androgenesis çalışmaları sonucunda; genotip etkisinin bitkinin genetiğiyle ilişkili olduğu ve yetiştirme koşulları, besin ortamı, inkübasyon koşulları ve androgenesis etkileyen diğer faktörlerin optimum düzeye getirilmesinin, genotipten kaynaklanan androjenetik tepkiyi değiştiremeyeceği ortaya konulmuştur (Mityko vd. 1995; Ellialtıoğlu vd. 2001). Ayrıca genotipe bağlı olarak androjenik bitki meydana getirmede oranın %0.5-75 arasında değiştiğini bildirmişlerdir (Mityko vd. 1995).

Farklı bitkilerde yapılan genetik çalışmalar sayesinde haploid oluşumunun genlerin etkisinde olduğu bulunmuş ve bazı türlerde haploid oluşumunu başlatan genler tespit edilmiştir. Örneğin mısırdaki *fig* (Kernicle 1969), arpada *hap* (Hagberg ve Hagberg 1980) geni, haploid oluşumundan sorumlu genler olarak tanımlanmışlardır (Foroughi-Wehr vd. 1982). Dolayısıyla *in vitro* androgenesis de genetik kontrol altında olup, bu olumlu özellik androjenik genotiplerin androjenik olmayanlarla melezlenmesiyle F₁ döllerine aktarılabilir. Nitekim patlıcanda, *Tuberosa* vd. (1987) değişik ülkelerden topladığı 8 farklı patlıcan çeşidi ve bunların arasında yaptığı melezlemelerden elde ettikleri 16 melez genotipin anterlerini kültüre almışlardır. Ebeveynlerde %17.3 oranında embriyo oluşurken, melezlerde %42 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Benzer bir çalışma Türkiye'de, Başay ve Ellialtıoğlu (2013) tarafından yapılmıştır. Araştırmacılar daha önceki çalışmalarında embriyo ve haploid bitki elde ettikleri Topan ve Halep Karası'nı anter kültürüne cevap vermeyen 3 farklı genotip ile melezleyerek elde ettikleri F₁ hibrit bitkilerin androgenesis verdikleri tepkileri incelemişlerdir. Yapılan melezlemelerden Topan × Vd-1'den haploid bitkiler, Topan × Teorem F₁ ve Teorem F₁ × Topan melezlerinden embriyo ve haploid bitki elde edilmiştir. Çalışmada 1.yıl: Topan genotipinden 321 anter ekimi yapılmış, 8 embriyo, %2.49 embriyo oluşum oranı, 5 adet bitki ve %1.55 bitki oluşum oranı; Halep Karası genotipinden 289 anter ekimi yapılmış, 3 embriyo, %4.49 embriyo oluşum oranı, 7 adet bitki, %2.42 bitki oluşum oranı sonuçları elde edilmiştir. Çalışmanın 2. yılında: Topan genotipinden 240 anter ekimi yapılmış, 10 embriyo, %16 embriyo oluşum oranı, 8 adet bitki, %3.33 bitki oluşum oranı; Halep Karası genotipinden 380 anter ekimi yapılmış, 10 embriyo, %2.63 embriyo oluşum oranı, 5 adet bitki, %1.32 bitki oluşum oranı elde edilmiştir. melezlemeler sonucu elde edilen bitkilerden: Topan × Vd-1: 320 anter ekimi yapılmış, %3.33 bitki oluşum oranı; Topan × Teorem F₁: 514 anter ekimi yapılmış, 5 embriyo, %0.87 embriyo oluşum oranı, 4 adet bitki, %0.69 bitki oluşum oranı ve Teorem F₁ × Topan: 466 anter ekimi yapılmış, 12 embriyo, %2.57 embriyo oluşum oranı, 12 adet bitki, %2.57 bitki oluşum oranı elde

edilmiş olup bu çalışmada da melezlemelerden daha yüksek oranda androjenik tepki alındığı görülmektedir. Bu ve buna benzer çalışmalar, patlıcanda androgenesis başarısının yüksek oranda genotipe bağlı olduğunu göstermektedir. Melezlemeler sonucu elde edilen F₁ hibritlerin, anne ya da baba hatlarından daha yüksek oranda androjenik kapasiteye sahip olduğu, yapılan diğer çalışmalar (Chen vd. 1998b; Achar 2002) ile de ortaya konulmuştur. Maheswari vd. (1982) ise poliploid yapıya sahip bitki türlerinin diploid yapıdaki bitki türlerinden daha yüksek oranda androjenik tepki gösterdiğini bildirmiştir.

Karakullukçu (1991), 13 genotip kullanarak yaptığı farklı anter kültürü denemelerinde, embriyo ve haploid bitki elde etmede genotipler arasındaki farklılıkların önemli olduğunu belirtmiştir. Ortam denemelerinde en iyi tepki verdiğini tespit edilen 5 mg/l kinetin ve 2-4 D içeren besin ortamında kültüre alınan 13 genotipin sadece 4'ünden androgenesis tepkisi alınmış, bunlardan Kemer ve Prelane F₁'den sadece embrioid meydana gelmiş; Halep Karası ve Baluroi F₁ genotiplerinde ise embriyolar oluşmuş ve bunlardan haploid bitkiler elde edilmiştir. Kalan 9 genotipten (Dourga, Pala, Şeytan, Birecik Yerlisi, Adana Topağı, Fabina F₁, Galine F₁, Black Beauty, Marfa F₁) ise hiç embriyo elde edilememiştir.

Alpsoy (1999); Pala, Kemer, Topan, Aydın Siyahı, Manisa, Adana, Urfa Yerlisi, Munica, Baluroi, Mileda, Ancha, Leila, Barbentane, Bellissima, Purpureadan oluşan 15 genotip ile yaptığı anter kültürü denemelerinde Kemer, Urfa Yerlisi, Adana, Barbentane, Leila genotiplerinden embriyo ve haploid bitkiler elde edebilmiş ve anter kültüründeki başarıyı genotipin etkilediğini bildirmiştir.

Salas vd. (2011), Dumas de Vaulx ve Chambonnet (1982)'in tavsiye ettiği protokolü kullanarak Almagro, ANS3, ANS26, Bandera, Cristal, CS16, Ecavi, IVIA371, *S. incanum*, *S. incanum x S. melongena*, *S. macrocarpon*, *S. aethiopicum* genotiplerinin anter kültürüne verdikleri tepkileri belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda *S. incanum* dışındaki bütün genotiplerden %12.5-45.8 aralığında kallus oluşmuş, ANS3, ANS26, Bandera, Ecavi, IVIA371 genotiplerinde %0.7-60.9 arasında embriyo oluşumu gerçekleşmiş ve bitkiye dönüşen embriyolardan ise ANS26, Bandera ve Ecavi genotiplerinde sırasıyla % 1.0, 2.7 ve 5.8 oranında bitki elde edilmiştir. Ecavi çeşidinin %60.9 embriyo oluşturma ve %5.8 bitkiye dönüştürme oranı ile çalışmada kullanılan genotipler arasında anter kültürüne en iyi tepki veren genotip olduğu belirtilmiştir.

Eksplant olarak Yamula, Karabaş F₁, Malkara F₁, Çantalı F₁ ve Tatlıcan F₁ genotiplerine ait anterleri kullanan Doksöz (2015), sadece Yamula (% 9.4 oranında) ve Karabaş F₁ (% 1.73 oranında) genotiplerinden sırasıyla 136 ve 25 embriyo ile 77 ve 15 adet bitki elde etmiştir. Aynı şartlar altında yetiştirilen 5 donör bitkinin üçünden androjenik tepkinin alınamaması ve sadece iki genotipten embriyojenik oluşum ve bitki elde edilebilmesi ile genotipin etkisi bir kez daha ortaya konulmuştur.

Rivas-Sendra vd. (2017), donör bitki olarak Bandera genotipini kullanarak 100 anterden 146.5 embriyo elde etmişler ve çalışmaları sonucunda 80 adet DH bitki elde etmişlerdir. Elde edilen bu bitkilerin yaprakları, çiçek yapıları, meyveleri, tohumları ve bu tohumların çimlenme yüzdeleri morfolojik olarak incelenmiştir. Bunun yanı sıra androjenik tepkilerini belirleyebilmek için bu bitkilere anter kültürü ve mikrospor kültürü denemeleri kurulmuştur. 80 bitkide yapılan çalışmalarda anter kültüründe 100 anterden 0-237.5 aralığında embriyo elde edilmiştir. DH36 hattından en yüksek oranda 237.5 embriyo oluşumu gözlenmiştir. Mikrospor kültüründe de Bandera genotipinde 65.1

kallus/ml oluşum oranı gözlenmiş olup; DH36 hattı 267.36 kallus/ml ile yine en yüksek cevap veren genotip olarak belirlenmiştir. Ayrıca, patlıcanda androjenik tepkisi yüksek model bitki olarak kullanılabilen genotip arayışına DH36 hattının cevap verebileceği bildirilmiştir.

Çalışmalarda genotipin kısıtlayıcı etkisi açıkça görülmektedir. Genotip etkisini en aza indirmek için yapılan çalışma ve araştırmalarda son zamanlarda en iyi tepki veren genotip ile cevap vermeyen ya da daha az cevap veren genotipler melezlenerek oluşacak varyasyondan faydalanma yoluna gidilmiştir. Bir diğer yöntem de her bir bitki türü için en az bir model genotipin belirlenerek çalışmalarda kullanılmasıdır. Böylece süreç hız kazanacak ve daha iyi anlaşılacaktır. Nitekim birçok araştırmacı farklı türlerde androjenik verimi yüksek hatlar bildirmişlerdir. Arpada Igri genotipi (Hoekstra vd. 1992), Brassica rapa da cv. CV2 hattı (Ferrie vd. 1995), Brassica napus da cv. Topas DH4079 hattı (Ferrie ve Keller 1995) ve buğdayda Chris, Pavon 70 veya Bob White genotipleri (Kasha vd. 2003) bunun en iyi örnekleridir.

2.4.2. Donör bitkilerin yetiştirilme koşulları

Androgenesiste bir bitkinin androjenik tepki vermesi ve embriyo oluşturabilmesi için tek bir faktörün optimum olması yeterli değildir. Hatta herhangi bir şeyin olmaması yada az olması halinde ve diğer bütün şartların optimum olması bile embriyojenik oluşumu indüklemeyebilir. Androgenesis çalışmalarında birçok kombinasyonun eksiksiz olarak optimum şartları sağlaması ile başarılı sonuçlar elde etmemiz mümkündür. Donör bitkilerin fizyolojik durumları ve hangi evrede olduğu, bitki yaşı, tohum ekimi-fide dikimi aralığında yapılan uygulamalar, fide dikimi-fide sökümüne kadar olan bitkinin büyüme ve gelişme koşulları, sulama sıklığı, uygulanan gübreleme programı, kimyasal uygulamaları, bulunduğu ortamdaki stres koşulları, tomurcuğun alındığı bitki kısımları gibi etkenler androjenik tepkiyi etkileyen faktörler arasında yer almaktadırlar. Donör bitkinin stres faktörlerinden uzak optimum yetiştirilme şartlarında yetiştirilmesi androgenesis başarısını destekleyecektir.

Yapılan çalışmalarda genç bitkilerden alınan tomurcukların içerisinde bulunan anterlerin daha fazla androjenik tepkiye sahip olduğu bitki yaşlandıkça tepkinin düştüğü bunun yanı sıra, donör bitkilerin fizyolojik döneminin ve yaşının androgenesiste başarıyı doğrudan etkilediği gözlenmiştir (Bajaj 1983; Bhojwani ve Razdan 1996; Smykal 2000).

Donör olarak kullanılacak genotipin androjenik tepkisi yüksek olsa bile, yetiştirildiği çevrenin şartları uygun değilse başarı şansı düşmekte, hatta olumlu sonuç elde edilememektedir. Bir bitkinin *in vitro* haploid kültürü sırasında özel sıcaklık şokları haricinde uygulanan iklim koşulları, genellikle o bitkinin yetiştiriciliği için gerekli çevre şartları ile uyumlu olmalıdır. Donör bitkilerin yetiştirilme koşullarının mikrosporların gelişimi ve dolayısıyla embriyo verimini etkilediği, başarılı sonuçların ancak bitki için uygun sıcaklık, ışık yoğunluğu ve ışıklandırma süresinin optimize edildiği zaman gerçekleşeceği belirtilmiştir (Dunwell 1985; Dunwell 1991; Alpsyoy 1999). Bu nedenle, donör bitki yetiştiriciliğinde optimum çevre koşulları bitki türüne göre değişmekle birlikte; bitkinin yetiştirildiği dönemdeki sıcaklık, günlük ışıklandırma miktarı, ışık yoğunluğunun bitkiye ulaşma oranı, ortamda bulunan CO₂ miktarı, bitkinin gübrelenmesi, sulanması ve diğer kültürel işlemler gibi çeşitli parametrelerin doğru zamanda ve doğru miktarda karşılanması gereklidir (Ellialtıoğlu vd. 2001).

Patlıcan yetiştiriciliği için uygun çevre şartları; sıcaklığın gece 15-20 °C, gündüz 21-30 °C ve ışıklandırma süresi ile ışık yoğunluğunun yüksek olduğu yerler olarak belirtilmiştir (Çetinkaya 2009). Ayrıca suni aydınlatmanın, güneş ışığı kadar verimli olmadığı da bilinmelidir (Hatipoğlu 1999). Öte yandan, androgenesis çalışmalarında kullanılacak olan donör bitkilerde zirai ilaç uygulamaları 3-4 hafta öncesinden bırakılarak, mikrospor gelişimi sırasında bitkilerin strese girmeleri engellenmelidir (Nitsch 1981; Alpsoy 1999).

Aynı genotiple farklı zamanlarda yapılan çalışmalardan aynı sonuçların alınmaması, donör bitkinin yetiştiricilik döneminin ne kadar önemli olduğunun göstergesidir. Ayrıca, aynı genotip farklı koşullarda farklı tepkiler gösterebilmektedir. Buna en iyi örnek 'Dourga' isimli patlıcan genotipidir. Söz konusu genotip, Dumas de Vault ve Chambonnet (1982)'in yaptığı çalışmada embriyo ve haploid bitki oluşturmada yüksek başarı gösterirken, Tuberosa vd. (1987) ile Rotino vd. (1987a)'nin yaptıkları çalışmalarda embriyo eldesinde düşük başarı gösterdiği, Karakullukçu (1991)'nin yaptığı çalışmada ise hiç embriyo oluşumu gerçekleşmediği bildirilmiştir. Hatta Karakullukçu (1991)'nin 2 farklı lokasyonda (Adana-Ankara) Dourga ve diğer genotiplerle yaptığı çalışmada, bitkilerin aynı laboratuvar şartlarında, aynı kişi tarafından kültüre alınması ve aynı uygulamaların yapılmasına rağmen, elde edilen sonuçların farklı olması donör bitkilerin yetiştirme koşulları ve iklimsel farklılıkların önemini bir kez daha ortaya koymuştur. Karakullukçu (1991) ayrıca, kısa gün ve düşük sıcaklık şartlarında yetiştirilen bitkilerin tomurcuklardan alınan anterlerde embriyo oluşumunun gerçekleşmediğini bildirmiştir.

Alpsoy (1999) farklı yıllarda yaptığı çalışmalarda; 1994 ve 1995 yıllarında serada ürettiği bitkilerden androgenesis tepkisi alamazken, 1996 ve 1998 yılında arazi şartlarında yetiştirdiği bitkilerden embriyo ve haploid bitkiler elde edebilmiştir. Araştırmacı ayrıca, Bursa ve Ankara lokasyonlarında farklı uygulamalar ile yetiştirme koşullarını optimize edince 15 farklı genotipin 5'inden (Kemer, Urfa Yerlisi, Adana, Barbentane, Leila) embriyo ve haploid bitkiler elde etmiştir. Dolayısıyla bu çalışma, donör bitkinin yetiştirme koşullarının önemini ve koşulların optimize edilmesi gerekliliğini vurgulamaktadır.

Türkiye'de patlıcanda yapılan androgenesis çalışmalarında üzerinde en fazla durulan genotiplerden birisi olan Aydın Siyahı'ndaki ilk embriyo oluşumu (%1.25), Yalova'da sera ortamında yetiştirdikleri donör bitkilerin anterlerini kültüre alan Başay vd. (2010) tarafından bildirilmiştir. Aynı çalışmada, Ankara ve Bursa koşullarında yetiştirilen Aydın Siyahı bitkilerinden başarı elde edilememesi, yine donör bitkilerin yetiştirdiği ortamın çevre koşullarından etkilendiğini açıkça göstermektedir.

Doğal yetiştiricilik koşullarında yetiştirilen donör bitkilerin androgenesise olumlu tepki verme oranı, yapay koşullarda yetiştirilen bitkilere göre daha yüksek oranda gerçekleşmektedir. Ancak normal yetiştirme dönemi dışında açık arazide, doğal koşullarda yetiştirilen bitkilere göre de, sera koşullarında veya iklimlendirme odalarında özel şartlarda yetiştirilen bitkilerden daha yüksek anter kültürü başarısı elde edilmektedir (Ellialtıoğlu vd. 2001).

2.4.3. Tomurcukların ve mikrosporların gelişim dönemleri

Androgenesis çalışmalarını etkileyen önemli faktörlerden bir diğeri mikrosporların gelişim aşamalarıdır. Doğru gelişim aşamasında kültüre alınmayan mikrospordan embriyojenik gelişim ve haploid bitkiye doğru yönelim olmayacaktır. Patlıcan androgenesis çalışmalarında vaktinden erken veya geç dönemlerde alınan mikrosporda herhangi bir gelişim gözlenmediği, kültürün ilk günlerinden başlayarak nekrozlar görüldüğü yapılan farklı çalışmalarda bildirilmiştir (Chambonet 1985; Karakullukçu 1991). Patlıcanda anter kültüründe uygun mikrospor gelişim döneminin tek çekirdekli mikrosporlar olduğu bildirilmiştir (Raina ve Iyer 1973; Anonymous 1978; Karakullukçu 1991; Rotino 2016).

Androgenesis çalışmaları için uygun aşama olarak nitelendirilen mikrospor safhası; türe, genotipe, donör bitkinin yetiştirme koşullarına veya kullanılan androgenesis tekniğine göre farklılıklar göstermektedir (Ferrie ve Keller 1997). Bu nedenle her tür hatta aynı türün farklı tipteki genotipleri için bu konuda kültür öncesinde ayrı bir çalışma mutlaka yapılmalıdır. Uygun mikrospor gelişme dönemini belirleme aşamasında; ezme preparatların asetokarmen ile boyanması (Nitsch 1981), feulgen yöntemi (Darlington ve La Cour 1963), parafinle kesit alma (Stösser vd. 1985; Eti 1987) yöntemlerinden herhangi birisi kullanılabilir. Ancak laboratuvar sitoloji alt yapısı uygunsa, DNA çekirdek boyası olan DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) (Vergne vd. 1987)'nin kullanıldığı en kolay, hızlı ve güvenilir boyama yöntemi tercih edilmelidir (Arı ve Buyukalaca 2010). Haploid bitki eldesi için genel olarak uygun mikrospor aşaması; 'mikrosporların tek çekirdekli olduğu dönem' olarak vurgulansa da, farklı birçok türde yapılan çalışmalarda uygun dönemin; 'mayoz bölünme sonucu tetratların oluşumu ile başlayıp I. Mitoz bölünme sonucu nişasta birikmesinden önceki zaman dilimini kapsadığı' bir döngüde (Sunderland ve Dunwell 1977; Summers vd. 1992; Binarova vd. 1997; Silva Lauxen vd. 2003; Segui-Simarro ve Nuez 2005; Bakos vd. 2007; Soriano vd. 2007; Ari, 2006) oluştuğu ortaya konulmuştur.

Karakullukçu (1991) 4 farklı patlıcan genotipine ait uygun tomurcuk morfolojisi ve mikrospor safhasını tespit etmek için yaptığı çalışmada; öncelikle tomurcukları morfolojik özelliklerine göre 8 farklı gruba ayırmış, parafin ve asetokarmen yöntemleri ile bu tomurcuklara ait mikrospor gelişim dönemlerini belirlemiştir. Daha sonra bu tomurcuk gruplarına ait anterleri eşit şartlarda kültüre aldığı çalışmada, 4 farklı patlıcan genotipini (Baluroi F₁, Prelane F₁, Pala ve Kemer) kullanmıştır. 35 °C ve 8 gün karanlık koşullarda ön uygulamaya alınan anter gruplarından 1., 2., 3., 7. ve 8. gruplarda yer alan bütün anterler kararıp herhangi bir gelişim göstermezken, 5. ve 6. gruplardaki anterlerin anter kültürü için doğru aşamada bulunduğu tespit edilmiştir. Bu aşamalarda tomurcukların morfolojik görünüşü; 5. grup için çanak ve taç yaprakların eşit seviyede olduğu, 6. grup içinse çanak yaprakların çok hafif açıldığı ve taç yaprakların 1-2 mm çıktığı aşama olarak bildirilmiştir (Karakullukçu ve Abak 1993a). Bu grupların içindeki uygun mikrospor safhaları ise; 1. polen mitozundan önceki aşama olan tek çekirdekli mikrosporlar veya bölünme başlangıcı olan erken çift çekirdekli aşamadaki mikrosporlar olarak tespit edilmiştir.

Patlıcanda bu göstergelerin yanında anter rengi de yine uygun dönemdeki tomurcuklar için belirleyici özellik olabilmektedir. Bitkilerin yaşlanmasıyla birlikte tomurcuklara bakılarak yapılacak olan seçimlerin hatalı olabileceği göz önüne alınarak, ayrıca anter rengine de bakılması tavsiye edilmektedir. Patlıcanda doğru aşamadaki

anterlerin renginin yeşilimsi-sarı olduğu, sarı ve koyu sarı renkteki anterlerin geç aşamada olduğu ve sarımsı-yeşil anterlerin ise erken aşamada oldukları belirtilmiştir (Ellialtıoğlu vd. 2012). Türkiye’de patlıcanda yapılan tüm androgenesis çalışmalarının tomurcuk seçimi aşamasında Karakullukçu (1991)’nin belirlediği morfolojik kriterler ve fenotipik belirteçler esas alınmıştır.

Anter kültüründe yapılan çeşitli çalışmalarda morfolojik gözlemler ile tomurcukların yapısından veya anterlerin renklenmesine dayalı morfolojik markörler uygun gelişme döneminde olan anterlerin tespit edilmelerini kolaylaştırmıştır. Örneğin Arı vd. (2016b), farklı kademelerdeki 64 süs biberi genotipinin androgenesise tepkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları shed-mikrospor kültürlerinde, mikrosporların uygun aşamasını belirleyebilmek için DAPI yönteminden yararlanmışlardır. Tomurcuk morfolojisini belirleyebilmek için farklı iki genotipin (anterleri antosiyaninli veya antosiyaninsiz) tomurcuklarını kullanmışlardır. Tomurcukların sepal/tomurcuk boyu oranının etkin bir markör olarak her iki genotipte de başarılı şekilde kullanılabilceği bildirilmiştir. Markör olarak kullanılabilcek bir diğer morfolojik karakter, biberde anter ucundan başlayarak anteri zamanla saran antosiyaninleşme oranıdır. Çalışmada bu antosiyaninleşme oranı yeşil anterlerin olduğu genotipte %10-40, antosiyaninli anterlerin olduğu genotipte ise %70-90 olarak tespit edilmiştir. Bu nedenle, biberde anter ucundaki antosiyaninleşme oranının antosiyanin içeriği yüksek olan genotiplerde morfolojik markör olarak kullanılmasının yanıtıcı olacağı bildirilmiştir.

Uygun mikrospor safhasını tespit için anterlerin içerisinde yer alan mikrosporların gelişim safhaları ile tomurcukların şekil ve büyüklükleri arasında bir ilişki kurulmaktadır. Birçok araştırmacı doğru aşamadaki tomurcuklar için sepal/tomurcuk boyu oranının morfolojik kriter olarak kullanılabilceğini belirtmiştir (Supena vd 2006a, Nowaczyk ve Kisiela 2006, Kim 2008, Parra Vega vd. 2013).

Ayrıca, bazı bitkilerin aynı anteri içerisinde yer alan mikrosporların farklı gelişim aşamalarında olduğu (Arı, 2006) bilinmektedir. Mikrosporların bu heterojen gelişimi ‘asenkronize’ mikrospor gelişimi olarak da değerlendirilmektedir. Bu düzensiz gelişimin görüldüğü türlerde geç aşamada bulunan mikrosporlar kültür ortamına içeriğindeki toksik maddeleri salgılayarak genç mikrosporları baskılayabilirler (Kott vd. 1988; Bal 2002; Kim vd. 2004; Segui-Simarro ve Nuez 2005; Bhowmik vd. 2011; Salas vd. 2012; Parra-Vega vd. 2013). Brassica napus’da farklı aşamadaki mikrosporları aynı kültür ortamında birlikte kültüre alarak 24, 48 ve 72 saatten uzun süreyle bekletmişler ve çalışmanın sonucunda uygun aşamada ve geç aşamadaki mikrosporların aynı kültür ortamına konulduğunda toksik etki oluşturduğu ve embriyojenik oluşumu olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir (Kott vd. 1988). Ancak, asenkronize mikrospor gelişimi bitkinin kendini abiyotik çevre şartlarından korumak için ve daha uzun sürede daha çok sayıda polen oluşturmak için kullandığı bir sistem gibi düşünülebilir. Salas vd. (2012) nin patlıcanda yaptıkları çalışmada mikrosporların gelişimleri 7 farklı aşamada belirlenmiştir. Bu aşamalar; tetrat aşama, genç aşama, orta aşama, geç mikrospor aşaması, genç çift çekirdekli aşama, orta-geç aşama ve olgun polen aşamasıdır. Öte yandan, tomurcukların doğru olarak seçimini yapabilmek için sıcaklık artışı veya düşüşü ile birlikte yeniden mikrospor aşamasını gözden geçirmek gereklidir. Sıcaklığın artması veya düşmesiyle birlikte doğru tomurcuk boyutu da değişiklik göstermektedir (Arı, 2006).

2.4.4. Kullanılan besin ortamları ve katkı maddeleri

Anter kültürlerinde kullanılacak olan besin ortamının içeriği mikrospor gelişiminin yönünü (direkt embriyogenesis veya kallus oluşumu) belirleyen en etkili faktörlerden biridir (Bajaj 1983). Normal koşullarda polen olarak döngüsünü tamamlayacak olan bir mikrospor 2 mitotik bölünme geçirecekken, androgenesis döngüsüne giren mikrosporlarda tekrar eden bölünmeler olacaktır. Tekrar eden bölünmelerin kesintiye uğramadan devam edebilmesini sağlamak ve embriyo oluşumunu desteklemek için besin ortamına belirli oranlarda çok sayıda bileşenlerin ilave edilmesi gerekmektedir. Bu bileşenler; makro ve mikro elementler, vitaminler, amino asitler, enerji kaynağı olarak karbonhidratlar, bitki büyüme düzenleyicileri, katılaştırıcı ajanlar ve aktif karbon, hindistan cevizi sütü vb gibi tanımlanamayan maddeler olarak adlandırılan maddeleri kapsamaktadır. Bunlara ilave olarak besin ortamının nasıl hazırlanacağı (katı, çift fazlı veya sıvı) ve ortamın pH'sı gibi etkenler de üzerinde önemle durulması gereken faktörlerdendir.

Anter kültüründe kullanılan besin ortamlarının içerikleri türden türe hatta genotipten genotipe farklılık göstermektedir. Anter kültürü çalışmalarında karbon kaynağı olarak genellikle sakkaroz kullanılırken, petunyada maltozun sukroza göre daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir (Raquin 1983). Ayrıca, buğday ve arpada da maltozun daha iyi sonuçlar verdiği ortaya konulmuştur (Finnie vd. 1989; Fadel ve Wenzel 1990). Scott vd. (1995) arpada yaptığı çalışmada maltoz kullanılan kültürlerde embriyojenik tepkinin glukoz ve sakkaroz kullanılan kültürlerle göre daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Bunun sebebinin ise besin ortamında bulunan mikrosporlar tarafından sakkarozun hızlıca metabolizmasının değiştirildiği bu değişikliğin hücrelerde etanol birikmesine sebep olarak hücre ölümlerine sebep olduğu, maltozun ise besin ortamında yavaş salınım gösterdiği için hücrelerin ihtiyacı olan oksijenin kullanabilecekleri kadar ortamda bulunmasına olanak tanıdığı açıklanmıştır. Biberde ilk maltoz kullanımının olumlu sonuçlarını Dolcet Sanjuan vd. (1997) bildirmiş, bunu diğer haploidi çalışmaları takip etmiştir (Supena vd. 2006a, b; Parra Vega vd. 2013)

Diğer türlerde de maltozun (Dolcet Sanjuan vd. 1997; Kiviharju ve Pehu 1998; Guo vd. 1999; Holme vd. 1999) yanı sıra galaktoz (Kyo ve Harada 1985), mannitol (Cistue vd. 1994), laktoz (Rihova ve Tupy 1999) ve glukoz (Saji ve Sujatha 1998; Guo ve Pulli 2000) gibi farklı karbonhidrat kaynakları anter kültürü çalışmalarında kullanılmaktadır. Ayrıca besin ortamına ilave edilen etilen inhibitörü gümüş nitrat ($AgNO_3$), glutamin serin gibi aminoasitler (Paksoy vd. 1995) ve 5-20 g/l aralığında aktif kömür eklenmesinin de başarıyı arttıracığı bildirilmiştir (Hatipoğlu 1999). Dunwell (1991) aktif kömürün besin ortamının içeriğini farklı yollarla değiştirdiğini bunu yaparken de besin ortamı içerisindeki bitki büyüme düzenleyicilerini, vitaminleri, demiri ve bitki dokularının salgıladığı fenolikleri adsorbe/bloke ettiğini belirtmiştir. Thomas (2008), aktif kömürün besin ortamında gelişen mikrosporlarca salgılanan, kültüre alınmış materyale zarar veren zehirli ve fenolik bileşenleri adsorbe ederek oluşacak zararı önlediğini bunu da por yapısı ve iç hacminin geniş olmasıyla sağladığını bildirmiştir. Bu nedenle aktif kömür, hücre büyümesi ve gelişmesi için çeşitli *in vitro* tekniklerde besin ortamları içerisinde çok sık kullanılan tanımlanamayan maddelerdendir.

Bajaj (1983), aktif kömürün por yapısı ile ilgili etki tarzının ne olduğu tam olarak bilinmese de bu bileşiğin anter başına embriyo sayısını arttırırken, embriyoların rejenerasyon kapasitelerini de arttırdığını bildirmiştir. Buna karşılık Karakullukçu

(1991), %1 aktif kömür eklediği besin ortamlarında kültüre alınan anterlerin tamamının kararlı canlılığını kaybettiğini ifade etmiştir.

Besin ortamlarına eklenerek embriyogenesi olumlu etkilediği düşünülen diğer bir katkı maddesi gümüş nitrattır (AgNO_3). Anter kültüründe kullanımı her geçen gün artan AgNO_3 'ün etki mekanizmasının, etilen biyosentezinde rol oynayan ACC (1aminocyclopropane-1-carboxylic acid) sentezini bloke ederek, etilen inhibitörü AVG (aminoethoxy-vinylglycine) gibi davrandığı düşüncesine dayanmaktadır (Heidstra vd. 1997). Kültüre alınan anter veya bitki dokusunun kesilmesi ile oluşan stres kaynağı besin ortamında bulunan oksinler ile biraraya gelince yaralı dokuda etilen üretimi artmaktadır. Etilen kallus gelişimini, somatik dokulardan gelecek embriyojenik oluşumu ve sürgün oluşumu gibi farklı oluşumları baskılayıp engellemektedir (Çömlekçioğlu 2001).

Çömlekçioğlu vd. (2001), anter kültürü çalışmalarında Şanlıurfa ve Kahramanmaraş popülasyonlarına ait yerel biber genotipleri kullanmışlardır. Temel besin ortamı olarak kullanılan MS besin ortamına, 30 g/l sakkaroz, 4 mg/l NAA, 0.1 mg/l BAP, %0.25 g/l ve 10 mg/l AgNO_3 ilave edilmiş ve AgNO_3 'ün embriyo oluşumuna etkisi incelenmiştir. AgNO_3 kullanılmayan kontrol grubunda embriyo oluşumu gözlenmezken, 10 mg/l AgNO_3 ilave edilen besin ortamındaki Şanlıurfa genotipinden %51.6 ve Kahramanmaraş genotipinden %35.7 embriyo oluşumu bildirilmiştir.

Büyükalaca ve ark. (2004), biberde yaptıkları anter kültürü çalışmasında besin ortamına farklı miktarlarda 5 mg/l, 10 mg/l, 15 mg/l ve 20 mg/l ilave edilen AgNO_3 in embriyo oluşumu ve verimi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada kullanılan farklı miktarlardaki AgNO_3 konsantrasyonlarının hepsinde farklı oranlarda embriyo oluşumu gözlenmiştir. En yüksek embriyo verimi AgNO_3 'ün 15 mg/l eklendiği besin ortamında oluşmuş ve 100 anterden 45.7 embriyo verimi elde edildiği bildirilmiştir.

Patlıcan androgenesis çalışmalarında kültürün başlangıç aşamasında %12 oranında eklenen şeker miktarı patlıcanda embriyo ve haploid bitkicik elde edilmesini teşvik etmektedir (Dumas de Valux ve Chambonnet 1982; Karakullukçu 1991). Karbon kaynağı olarak genellikle sakkaroz tercih edilmekle birlikte bazı çalışmalarda ise maltoz ve glukoz kullanılmıştır (Çizelge 2.1).

Öte yandan, patlıcan mikrospor embriyogenesinde gametofitik gelişimi sporofitik gelişmeye yönlendirmek için bitki gelişim düzenleyicilerinin (BGD) kullanımı zorunludur (Corral-Martinez ve Segui-Simarro 2014). Bu amaçla öncelikle başlangıçta oksin grubuna (2-4 D, NAA, IAA, IBA gibi) ihtiyaç duyulurken, rejenerasyon aşamasında sitokin grubu (Kinetin, BAP, Zeatin gibi) BGD lere ihtiyaç duyulmaktadır.

Patlıcanda yapılan anter kültürü çalışmaları içerisinde Türkiye'de yapılanlar Dünyada önemli bir yere sahiptir. Bu konuda oldukça fazla sayıda ve kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Androgenesis etkileyen önemli faktörler arasındaki besin ortamları ve katkı maddeleri ile ilgili daha ayrıntılı bilgiler Bölüm 2.5.'de Türkiye'de yapılan patlıcan androgenesis çalışmaları başlığı altında verilmiştir.

2.4.5. Kültürlere uygulanan ön sıcaklık şokları

Androgenesis çalışmalarında embriyogenesisi teşvik etmek amacıyla ya tomurcuklar kültüre alınmadan önce ya da anter veya mikrosporlar besin ortamına aktarıldıktan sonra farklı ön şoklara tabi tutulmaktadır. İlk akla gelen ve yaygın olarak kullanılan düşük veya yüksek ısı şoklarının yanısıra, karanlık-aydınlık koşullarda farklı sürelerde bekletme, farklı bitki büyüme düzenleyicilerin farklı oranlarda kullanımı, açlık uygulamaları, yüksek ozmotik basınç, santrifüj, etanol ile muamele, düşük atmosfer basıncı, UV ve Co₆₀ gibi ışın kaynakları ve çeşitli kimyasalların kullanımı diğer uygulamalar arasında yer almaktadır. Bununla birlikte, patlıcan androgenesisinde en pratik yöntem olarak genellikle ısı şokları kullanılmaktadır ve en yaygın ısı şoku oldukça yüksek bir sıcaklık olan 35 °C de 8 günlük uygulanan şoktur.

Androgenesis çalışmalarında ısı şokları ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar bazı türlerde düşük sıcaklıklar (1 °C ile 10 °C), bazı türlerde yüksek sıcaklıklar (28 °C ile 35 °C) bazı türlerde de hem düşük hem de yüksek sıcaklık uygulamaları sporofitik bölünmeyi başlatabilmektedir. Anterlerin içerisinde yer alan mikrosporlar için ısı değişikliklerinin bir tür geçici mikroklima ortamı sağladığı ve bu sırada embriyogenesisin indüklendiği düşünülmektedir. Düşük sıcaklık uygulamasının anter yaşlanmasını geciktirdiği (Pelletier ve Henry 1974) ve anterlerde bulunan toplam serbest amino asitleri arttırdığı (Sangwan ve Camefort 1978) tespit edilmiştir Heberle-Bors (1985). Düşük sıcaklıklarda ise anterler zararlanmakta ve anterler içerisinde yer alan zayıf mikrosporlar ölmektedir. İndüklenmiş mikrosporlarda ise gelişme birinci mitoz aşamasında durdurularak nişasta oluşumu bloke edilmektedir. Böylece anter duvarının ve tapetum tabakasının yaşlanması geciktirilerek, anter içindeki mikrosporların sporofitik yönde hareket etmesine olanak sağlanmış olur (Hatipoğlu 1999).

Bajaj (1983), düşük sıcaklık uygulamasının androgenesisdeki embriyojenik artışı dolaylı olarak etkilediğini ifade etmiştir. Bunun sebebinin de düşük sıcaklığın mikrospor canlılığını daha uzun süre muhafaza etmesinden ve polen gelişimini engelleyerek embriyo oluşumuna yönelebilecek polen sayısını arttırması yani anter ve mikrosporun yaşlanmasını geciktirmesinden kaynaklandığını bildirmiştir.

Patlıcandaki ön ısı şoku uygulamalarına gelince, 1981 yılında biberde kültürün ilk günlerinde uyguladıkları +35 °C sıcaklığın olumlu etkilerini gören Dumas de Valux vd. (1981), elde ettikleri sonuçlara göre benzer bir denemeyi patlıcanda kurmuşlardır. Kültürün ilk 8 günü karanlık koşullarda 35 °C'de kültüre alınan anterler, 25 °C'de kültüre alınanlardan daha yüksek oranda başarılı sonuçlar vermiştir (Dumas de Valux ve Chambonnet 1982). Diğer patlıcan anter kültürlerinde de genellikle bu ısı şoku koşulları uygulanmaktadır.

Türkiye'de ise patlıcan androgenesisinde ön şok uygulamaları ile ilgili ilk denemeler Karakullukçu (1991) tarafından yapılmıştır. Örneğin tomurcuklara 4 °C'lik buzdolabında 12, 24 veya 48 saat ön soğuklatma şoku uygulamasının ardından, tomurcuklardan çıkartılan anterler kültür ortamına aktarıldıktan sonra 35 °C de 8 gün karanlık uygulamasına tabi tutulmuştur. Soğuklatma uygulanan tüm anterler kararmış ve daha fazla gelişmemiştir. Ayrıca, anterler kültüre alındıktan sonra 4 ve 8 gün olmak üzere ön sıcaklık uygulamasına (25 °C, 30 °C ve 35 °C) maruz bırakılmış, ardından 25 °C lik 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ışık rejimli iklim odasında 12 gün bekletilmiştir. 12. günden sonra kültürler DDV-R ortamına transfer edilerek gözlenmişlerdir. Sekiz

patlıcan genotipinde yapılan bu denemede, sıcaklık artışı ile birlikte embriyogenesis oranlarında düzenli artışlar görülmüştür. Bu sonuçlara dayanarak soğuk ön uygulamasının patlıcan anter kültürleri için uygun olmadığı, embriyojenik gelişimi teşvik için 35 °C lik 8 gün karanlık koşullarda bekletme uygulamasının, diğer uygulamalara göre daha başarılı olduğu bildirilmiştir (Karakullukçu, 1991).

Alpsoy (1999), anter kültürü çalışmasının 1994 - 1995 yıllarında ön şok uygulaması yapılmadan kültüre aldığı anterlerin hiçbirisinden embriyo elde edememiştir. 1996-1998'deki denemelerinde 35 °C lik 8 gün karanlık şoku uyguladığı anterlerden embriyo ve haploid bitki oluşumu sağlamış ve anter kültürü çalışmalarında kültürlere karanlıkta uygulanan yüksek sıcaklığın androgenesis başarısını olumlu etkilediğini bildirmiştir.

Ellialtıoğlu ve Tıprıdamaz (1999), Kemer genotipinin çiçek tomurcuklarına herhangi bir şok uygulamasının yapılmadığı kontrolün yanısıra, 4 °C'de 80 saat veya 9 °C'de 5 gün bekleterek soğuk şoku uygulamışlar, ayrıca besin ortamına eklenen aktif kömürün, anterlerdeki içsel absisik asit miktarı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada uygulanan soğuk şokları ve eklenen aktif kömür, patlıcan anterlerindeki ABA miktarını düşürmüştür fakat embriyo oluşumuna olumlu bir etkide bulunmamıştır. Embriyoların oluşumu sadece kontrol ortamından (% 7.75) sağlanmıştır.

Doksöz (2015)'ün anter kültürü çalışmasında, ön şok uygulaması olarak çiçek tomurcuklarına 4°C'de 24 saat soğuklatma şoku uygulanmıştır. Tomurcuklardan çıkartılan anterlerin kültür sonrası inkübasyonu +9 °C'de 8 gün karanlıkta ve +35 °C'de 8 gün karanlıkta olacak şekilde yapılmıştır. Ellialtıoğlu ve Tıprıdamaz (1999)'ın çalışmasında olduğu gibi, bu çalışmada da ön uygulama yapılmayan kontrol grubu tomurcuklar daha başarılı bulunmuştur. Kültüre alınan anterlerden +9 °C'de 8 gün karanlıkta bekletilenlerden genellikle sonuç alınamamıştır. 35 °C'de 8 gün karanlık koşullarda şok uygulanan anterlerden ise 161 embriyo ve 88 bitki elde edilmiştir.

Bal vd. (2009)'nin mikrospor kültürü çalışmasında; Bambino çeşidinde mikrosporlar izole edildikten sonra 4°C, 25°C veya 33°C'de 2 gün R ortamında ön muameleye tabi tutulmuştur. Mikrosporlar daha sonra AT3 ortamına transfer edilmiş ve 25°C karanlıkta kültüre alınmıştır. Embriyonun oluşmadığı çalışmada, mikrospor çekirdeklerinde simetrik bölünme ve çok çekirdekli yapı oluşumu (% 19.4) yalnızca 32°C'de 2 gün ön uygulama yapılan mikrosporlarda gözlemlenmiştir. Çalışma sonunda, patlıcanda mikrospor embriyogenesisi için modifiye edilmiş tütün protokolünün etkili olduğu, belirli sıcaklıkta bir ön uygulama ihtiyacının bulunduğu ve sıcaklığın indükleyici etkiye sahip olduğu belirtilmiştir.

Türkiye'de ve Dünyada yapılan çalışmalara göre patlıcanda uygun aşamada alınan tomurcuklardan izole edilen anterlere uygulanan soğuk şoklarından genel olarak sonuç alınamamıştır. Bunun aksine, özellikle 35 °C'de 8 gün karanlık uygulaması gibi yüksek sıcaklık şoklarının embriyogenesisi teşvik etmede ve rejenerasyonda olumlu etkisinin olduğu genel kabul görmüştür.

2.4.6. Kültür koşulları

Çalışmanın niteliğine göre anter veya mikrosporlar izole edilerek besin ortamına yerleştirildikten ve şok uygulaması yapıldıktan sonra kültürlerin inkübe edildikleri ortamın iklim verilerine dayalı kültür koşulları başarıyı büyük oranda etkilemektedir. Kültür koşullarında iki önemli değişken olup, sıcaklık ve ışık kontrolünün optimum şekilde ayarlanması gereklidir. Işık şiddeti *in vitro* koşullarda kültüre alınacak bitkinin türüne, kullanılan eksplantın tipine ve besin ortamına göre 300-10.000 lüks ışık intensitesi arasında kullanılabilir (Gönülşen 1987). Anter kültürleri için ışık intensitesinin düşük olması hatta kültürün ilk günlerinin karanlıkta bekletilmesi tavsiye edilmektedir. Anterler kültürün ilk döneminde genellikle karanlıkta kültüre alınmakta, anterlerden oluşan embriyolar 300-10000 lüks ışık intensitesinde rejenere edilmekte ve gelişen *in vitro* bitkicikler ise 3.000-10.000 lüks ışık intensitesine sahip dış ortama aktarılmaktadır (Ellialtıoğlu 2000).

Gerek Dünyada, gerekse Türkiye’de yapılan çok sayıdaki çalışma sonucu patlıcan anter kültürleri için tercih edilen iklim koşulları; kültürlerin öncelikle DDV-C ortamında 35 °C lik karanlıkta 8 gün ön sıcaklık şokunda ve buna ilave olarak aynı besin ortamında 25 °C lik 16/8 saat aydınlık/karanlıktan oluşan fotoperiyot şartlarında 4 gün daha bekletilmesidir. Ayrıca, bu 12 günün sonunda kültürlerin DDV-R ortamına aktarılarak 25 °C’de 16/8 saat aydınlık/karanlık şartlarda embriyo gelişimi görülmeye başlayınca kadar 300-1.000-2.000 lüks ışık intensitesinde kültüre alınması tavsiye edilmektedir. Bazı çalışmalarda kültüre alınmış anterlerin embriyo oluşumuna kadar karanlıkta bekletilmesi de literatürlerde uygun görülmektedir.

2.5. Türkiye’de Patlıcanda Yapılan Androgenesis Çalışmaları

Türkiye’deki kamu ve özel sektör sebze ıslah çalışmaları incelendiğinde biyoteknoloji ve özellikle de DH teknolojisi kullanımının çok eskilere dayanmadığı görülmektedir. Sebzelerdeki ilk DH çalışması 1980’lerde biber türünde yapılmış, daha sonra diğer türlerde bu çalışmalara devam edilmiştir. Patlıcandaki ilk DH çalışması ise 1991 yılında Karakullukçu (1991)’nin anter kültürü ile başlamıştır. Bunu diğer anter kültürü [Karakullukçu ve Abak (1993a), Karakullukçu ve Abak (1993b), Ellialtıoğlu ve Tıprıdamaz (1999), Alpsoy (1999), Ellialtıoğlu (2005), Ellialtıoğlu vd. (2006), Başay vd. (2010), Başay vd. (2011), Ellialtıoğlu vd. (2012), Başay ve Ellialtıoğlu (2013), Doksöz (2015), Geboloğlu vd. (2017)] ve mikrospor kültürü [Bal vd. (2009), Özdemir (2012, 2018)] çalışmaları takip etmiştir. Yapılan çalışmalara göre patlıcanda yapılan tüm haploidi çalışmaları; androgenesis yani bitkinin erkek gamet hücrelerinden mikrospor embriyogenesi esas alan anter veya mikrospor kültürü çalışmalarından oluşmaktadır. Yapılan çalışmaların sayısı başlangıçta az olsa da, son yıllarda özel sektörün de devreye girmesi ile patlıcan ıslahındaki DH çalışmaları ivme kazanmıştır. Patlıcan androgenesis çalışmaları dünyada 45 yıllık, Türkiye’de ise 27 yıllık bir geçmişe sahiptir. Ülkemizde patlıcanda günümüze kadar yapılan tüm anter ve mikrospor kültürü çalışmaları ve bunlara ait detaylar Çizelge 2.1’de kronolojik olarak özetlenmiştir.

Çizelge 2.1’e göre, Türkiye’deki ilk patlıcan anter kültürü çalışmasında Karakullukçu (1991), besin ortamına ilave ettiği farklı oranlardaki sakkaroz ve glukoz, farklı tip ve konsantrasyonlardaki BGD ve aktif kömürün etkilerini toplam 13 genotipte incelemiştir. Farklı ortam denemeleri arasından en başarılı ortam DDV ortamında olduğu gibi 120 g/l sakkaroz ve 5 mg/l 2-4 D ile 5 mg/l Kinetin içeren besin ortamı olduğu

belirlenmiştir. Söz konusu ortamdan Baluroi F1 çeşidinde %12.1, Halep Karası çeşidinde %3.8 ve Türkiye orijinli Kemer çeşidinde %1.5 oranında embriyo elde edilmiştir. Aktif kömürlü denemelerden herhangi olumlu bir tepki alınmamıştır. Çalışma sonunda Kemer, Halep Karası ve Baluroi F₁ genotiplerinden toplam 22 adet embriyo ve bunlardan 13 adet haploid bitki elde edilmiştir.

Özzambak ve Atasayar (1994) anter kültürü çalışmasında MS ve Nitsch temel besin ortamlarına ilave ettikleri BAP (0.1, 4, 8, 10,15 mg/l), Kinetin (1, 2, 4 mg/l), 2,4-D (2 mg/l) ve NAA (0.1 ve 2 mg/l)'in kallus oluşumu üzerine etkilerini incelenmiştir. En yüksek kallus oranı %8 ile NN + NAA 2 mg/l + Kinetin 1 mg/l + 40 g/l Sakkaroz içeren ortamdan elde edilmiştir.

Alpsoy (1999)'un temel besin ortamı olarak MS ve DDV-C kullandığı anter kültürü çalışmasında BGD olarak; NAA (0.3, 1, 2, 4 mg/l), BA (0.7, 1, 3 mg/l), Kinetin (0.1, 1, 5 mg/l) ve 2,4-D (5 mg/l)'nin farklı kombinasyonları denenmiştir. 1994 ve 1995 yıllarındaki çalışmalardan embriyo elde edilememiştir. 1996 yılındaki denemelerde Kemer çeşidinde DDV-C ortamında %3.67, MS ortamında %2.05 oranında, Urfa Yerlisi çeşidinde DDV-C ortamında %4.91, MS ortamında %1.84 oranında haploid embriyo elde edilmiştir. 1998 yılındaki denemelerde ise Adana çeşidinde MS ortamında %1.58, Barbantane çeşidinde DDV-C ortamında %2.72, MS ortamında %2.63; Leila çeşidinde DDV-C ortamında %2.43 oranında embriyo oluşmuştur. Çalışmalarda, haploid bitki eldesi için Karakullukçu (1991)'nun da belirttiği gibi 5 mg/l 2,4-D ve 5 mg/l kinetin ilave edilmiş olan DDV-C ortamı en başarılı ortam olarak bulunmuş, bunu 4 mg/l NAA ve 1 mg/l kinetin ilave edilen MS ortamı takip etmiştir (Alpsoy 1999).

Doksöz (2015)'ün anter kültürü çalışmasında MS ve DDV-C ortamları karşılaştırılmış; DDV-C ortamında 2,4-D (0.01 mg/l) + Kinetin (0.01 mg/l), DDV-R ortamında ise sadece Kinetin (0.1mg/l) kullanılmış, ayrıca besin ortamlarına Vitamin B12 (0.03 mg/l) ilave edilmiştir. Çalışmada, DDV-C ortamının embriyo verimi açısından daha başarılı olduğu bulunmuştur.

Türkiye'de yapılan son anter kültürü çalışmasında Geboloğlu vd. (2017), temel besin ortamı olarak önce DDV-C ortamında farklı karbonhidrat kaynakları ile BGD'lerin farklı konsantrasyonlarının etkisini karşılaştırmışlardır. 0.03 mg/l vitamin B12 eklene bu ortamda sakkaroz (30 g/l, 60 g/l, 90 g/l, 120 g/l ve 150 g/l), bal (30 g/l, 60 g/l, 90 g/l, 120 g/l ve 150 g/l), kinetin ve 2,4-D'nin farklı konsantrasyonlardaki (1 mg/l, 3 mg/l, 5 mg/l) kombinasyonları test edilmiştir. Ardından DDV-R ortamı kullanılmış, bu ortama 30 g/l sakkaroz ve 0.1 mg/l kinetin ilave edilerek 4. haftada ortam yenilenmiştir. En yüksek embriyo verimi Yamula genotipinde (10.70 embriyo/10 anter) 120 gram sakkaroz + 1 mg/l kinetin + 3 mg/l 2,4-D uygulamasından elde edilmiştir. Bu çalışma ile pathican androgenesisinde dünyada ilk defa karbonhidrat kaynağı olarak balın etkisi araştırılmıştır. Baldan elde edilen sonuçlar sakkaroz uygulamalarından düşük olmasına rağmen, kullanılan konsantrasyonların optimize edilerek protokolün geliştirilebileceğini bildirilmiştir.

Çizelge 2.1. Türkiye’de patlıcanda yapılan androgenesis çalışmaları ve ayrıntıları

Sıra No	Genotip	Temel Besin Ortamı	Karbonhidrat	Bitki Gelişim Düzenleyicisi (BGD)	Diğer Katkı Maddeleri	Ön Stres Uygulamaları*	Kültür Sonucu	Referans
Anter Kültürü Çalışmaları								
1	<ul style="list-style-type: none"> Adana Topağı Baluroi F₁ Birecik Yerlisi Black Beauty, Dourga Fabina F₁ Galine F₁ Halep Karası, Kemer Marfa F₁ Pala Prelane F₁ Şeytan 	<ul style="list-style-type: none"> DDV-C DDV-R MS 	<ul style="list-style-type: none"> Sakkaroz: 20 g/l Sakkaroz: 30 g/l Sakkaroz: 120 g/l Sakkaroz + Glukoz: 60 g/l + 63 g/l 	<ul style="list-style-type: none"> Kinetin (5mg/l) + NAA (5mg/l) Kinetin + 2,4-D (0.01 mg/l, 0.2 mg/l, 1mg/l, 5mg/l) Zeatin + 2,4-D (0.2mg/l, 1 mg/l, 5mg/l) 	<ul style="list-style-type: none"> Aktif Kömür: % 1 Bacto Agar: 8 g/l 	<ul style="list-style-type: none"> 4°C 12 h 4°C 24 h 4°C 48 h 25°C 4 gün 25°C 8 gün 30°C 4 gün 30°C 8 gün 35°C 4 gün 35°C 8 gün 	<ul style="list-style-type: none"> DDV-C8 BO’dan başarı elde edilmiştir. Baluroi F₁: 58 AS, 7 ES, %12.1 EOO, 4 BS, %6.9 BOO Kemer: 135 AS, 2 ES, %1.5 EOO, 1 BS, %0.7 BOO Halep Karası: 90 AS, 7 ES, %7.8 EOO, 4 BS, %4.4 BOO Baluroi F₁: 93 AS, 2 ES, 2 BO, %2.5 EOO, %2.5 BOO Halep Karası: 103 AS, 4 ES, %7.7 EOO, 2 BS, %3.8 BOO 	<ul style="list-style-type: none"> Karakullukçu (1991)
2	<ul style="list-style-type: none"> Oval eggplant 	<ul style="list-style-type: none"> MS Nitsch 	<ul style="list-style-type: none"> Sakkaroz: 30 g/l Sakkaroz: 40 g/l 	<ul style="list-style-type: none"> 2,4-D (2 mg/l) + BAP (0.1 mg/l) 2,4-D (2 mg/l) + Kinetin (1 mg/l) NAA (2 mg/l) + Kinetin (1 mg/l) Kinetin (2-4 mg/l) BAP (4-8 mg/l) BAP (10 mg/l) + NAA 0.1 mg/l) BAP (15 mg/l) + NAA 0.1 mg/l) 	<ul style="list-style-type: none"> Agar: 6 g/l 	<ul style="list-style-type: none"> - 	<ul style="list-style-type: none"> 1. BO 102 AS, %3.9 KOO 2. BO 216 AS, % 4.1 KOO 3. BO 463 AS, % 3.2 KOO 4. BO 174 AS, % 8 KOO 	<ul style="list-style-type: none"> Özambak ve Atasayar (1994)
3	<ul style="list-style-type: none"> Kemer 	<ul style="list-style-type: none"> DDV-C DDV-R MS 	<ul style="list-style-type: none"> Sakkaroz: 20 g/l Sakkaroz: 30 g/l Sakkaroz: 120 g/l 	<ul style="list-style-type: none"> Kinetin (5mg/l) + 2,4-D (5mg/l) 	<ul style="list-style-type: none"> Bacto Agar: 8 g/l 	<ul style="list-style-type: none"> 4°C 80 h 9°C 9 gün 35°C 8 gün** 	<ul style="list-style-type: none"> Kontrol BO’dan başarı elde edilmiştir. Kemer: 20 ES, %7.75 EOO, 18 BS, %6.9 BOO 	<ul style="list-style-type: none"> Elialtıoğlu ve Tıpırdamaz (1999)

Çizelge 2.1.’in devamı arkada

Çizelge 2.1.'in devamı.

4	<ul style="list-style-type: none"> • Pala • Kemer • Topan • Aydın Siyahı • Adana (yertli çeşit) • Manisa (yertli çeşit) • Urfa Yertlisi (popülasyon) • Munica F₁ • Baluroi F₁ • Mileda F₁ • Ancha F₁ • Leila F₁ • Barbentane F₁ • Bellissima F₁ • Purpurea F₁ 	<ul style="list-style-type: none"> • DDV-C • DDV-R • MS 	<ul style="list-style-type: none"> • Sakkaroz: 20 g/l • Sakkaroz: 30 g/l • Sakkaroz: 120 g/l 	<ul style="list-style-type: none"> • NAA (2 mg/l) + BA (3 mg/l) • NAA (0.3 mg/l) + BA (1 mg/l) • NAA (0.3 mg/l) + BA (0.7 mg/l) • NAA (1 mg/l) + BA (3 mg/l) • NAA (4 mg/l) + Kinetin (1 mg/l) • 2,4-D (5 mg/l) + Kinetin (5mg/l) • Kinetin (0.1 mg/l) 	<ul style="list-style-type: none"> • Agar: 7 g/l 	<ul style="list-style-type: none"> • - • 35°C 8 gün 	<ul style="list-style-type: none"> • Kemer (DDV-C BO): 490 AS, 18 ES, %3.67 EOO • Kemer (MS BO): 195 AS, 4 ES, %2.05 EOO • Urfa Yertlisi (DDV-C BO): 428 AS, 21 E, %4.91 EOO • Urfa Yertlisi (MS BO): 163 AS, 3 ES, %1.84 EOO • Barbentane (DDV-C BO): 368 AS, 10 ES, %2.72 EOO • Barbentane (MS BO): 419 AS, 11 ES, %2.63 EOO. • Adana (MS BO): 190 AS, 3 ES, %1.58 EOO. • Leila (DDV-C BO): 329 AS, 8 ES, %2.43 EOO 	Alpsoy (1999) / Alpsoy ve Şeniz (2007)
5	<ul style="list-style-type: none"> • Topan-374 • Aydın Siyahı • Halep Karası • Teorem F₁ • Bonica F₁ • Munica F₁, S • <i>Solanum torvum</i> • <i>S. sodomium</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • DDV-C • DDV-R • MS 	<ul style="list-style-type: none"> • Sakkaroz: 30 g/l • Sakkaroz: 120 g/l 	<ul style="list-style-type: none"> • Kinetin (5mg/l) + 2,4-D (5mg/l) • Kinetin (1mg/l) + 2,4-D (5mg/l) 	<ul style="list-style-type: none"> • 35°C 8 gün 	<ul style="list-style-type: none"> • Bonica F₁: %14.2 EOO, %14.3 BOO • Teorem F₁, <i>S. torvum</i>, <i>S. sodomium</i>'da embriyo oluşmamıştır. 	Başay ve ark. (2010)	
6	<ul style="list-style-type: none"> • K1 (Pala-49) • K-2 (Topan-374) • K-4 (Aydın Siyahı) • K-5 (Halep karası) • DK-6 (Teorem F₁) • 25 (Bonica F₁) • 11 (Munica F₁) • DK-5 (LS 2346) 	<ul style="list-style-type: none"> • DDV-C • DDV-R • MS 	<ul style="list-style-type: none"> • Sakkaroz: 30 g/l • Sakkaroz: 120 g/l 	<ul style="list-style-type: none"> • Kinetin (5mg/l) + 2,4-D (5mg/l) 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacto Agar: 8 g/l • - • 35°C 8 gün 	<ul style="list-style-type: none"> • K-2: 240 AS, 1 ES, %6.25 EOO, 8 BS, %5 BOO • K-5: 380 AS, 10 ES, %2.63 EOO, 5 BS, %1.3 BOO • 25: 140 AS, 20 ES, %14.2 EOO, 7 BS, %5.4 BOO • 11: 5 ES, %4.16 EOO, 4 BS, %5.3 BOO 	Başay ve ark. (2011)	

Çizelge 2.1.'in devamı arkada

Çizelge 2.1.'in devamı.

7	<ul style="list-style-type: none"> Kemer Aydın Siyahı 	<ul style="list-style-type: none"> DDV-C DDV-R MS 	<ul style="list-style-type: none"> Sakkaroz: 30 g/l Sakkaroz: 120 g/l 	<ul style="list-style-type: none"> Kinetin (5mg/l) + 2,4-D (5mg/l) 	<ul style="list-style-type: none"> Bacto Agar: 8 g/l 35°C 8 gün 	<ul style="list-style-type: none"> Kemer (1. Yıl): 500 AS, 23 ES, %66.6 EOO, 19 BS, %5.5 BOO Aydın Siyahı (1. Yıl): 0 ES Kemer (2. Yıl): 0 ES Aydın Siyahı Kemer (2. Yıl): 0 ES Kemer (3. Yıl): 500 AS, 21 ES, %44.5 EOO, 20 BS, %4.2 BOO Aydın Siyahı (3. Yıl): 0 ES 	<ul style="list-style-type: none"> Ellialtıncı yıl ark. (2012)
8	<ul style="list-style-type: none"> Topan Halep Karası Teorem F₁ Vd-1 Vd-2 Topan x Vd-1 Vd-1 x Topan Topan x Teorem F₁ Teorem F₁ x Topan Topan x Vd-2 Vd-2 x Topan Halep Karası x Vd-1 Vd-1 x Halep Karası Halep Karası x Teorem F₁ Teorem F₁ x Halep Karası Halep Karası x Vd-2 Vd-2 x Halep Karası 	<ul style="list-style-type: none"> DDV-C DDV-R MS 	<ul style="list-style-type: none"> Sakkaroz: 30 g/l Sakkaroz: 120 g/l 	<ul style="list-style-type: none"> Kinetin (5mg/l) + 2,4-D (5mg/l) 	<ul style="list-style-type: none"> Vitamin B12: 0.2 mg/l Bacto Agar: 8 g/l 35°C 8 gün 	<ul style="list-style-type: none"> Topan (1. yıl): 321 AS, 8 ES, %2.49 EOO, 5 BS, %1.55 BOO Halep Karası (1. yıl): 289 AS, 3 ES, %4.49 EOO, 7 BS, %2.42 BOO Topan (2. yıl): 240 AS, 10 ES, %16 EOO, 8 BS, %3.33 BOO Halep Karası (2. yıl): 380 AS, 10 ES, %2.63 EOO, 5 BS, %1.32 BOO Topan x Vd-1: 320 AS, %3.33 BOO Topan x Teorem F₁: 514 AS, 5 ES, %0.87 EOO, 4 BS, %0.69 BOO Teorem F₁ x Topan: 466 AS, 12 ES, %2.57 EOO, 12 BS, %2.57 BOO 	<ul style="list-style-type: none"> Başay ve Ellialtıncı yıl (2013)
9	<ul style="list-style-type: none"> Yamula Karabaş F₁ Malkara F₁ Çantah F₁ Tatlıcan F₁ 	<ul style="list-style-type: none"> DDV-C DDV-R MS 	<ul style="list-style-type: none"> Sakkaroz: 30 g/l 	<ul style="list-style-type: none"> Kinetin (0.01 mg/l) + 2,4-D (0.01 mg/l) Kinetin (0.1 mg/l) + 2,4-D (0.01 mg/l) + 	<ul style="list-style-type: none"> Vitamin B12: 0.03 mg/l Agar-agar: 8 g/l 4°C 1 gün 9°C 8 gün 35°C 8 gün 	<ul style="list-style-type: none"> Yamula: 900 AS, 136 ES, %9.44 EOO, 73 BS, %8.11 BOO Karabaş F₁: 360 AS, 25 ES, %1.73 EOO, 15 BS, %4.17 BOO 	<ul style="list-style-type: none"> Doksöz (2015)

Çizelge 2.1.'in devamı arkada

Çizelge 2.1.'in devamı.

Mikrospor Kültürü Çalışmaları								
10	Anamur F ₁ Yamula	DDV-C DDV-R MS	Sakkaroz: 30 g/l Sakkaroz: 60 g/l Sakkaroz: 90 g/l Sakkaroz: 120 g/l Sakkaroz: 150 g/l Bal: 30 g/l Bal: 60 g/l Bal: 90 g/l Bal: 120 g/l Bal: 150 g/l	Kinetin (1.0 mg/l, 3.0 mg/l, 5.0 mg/l) + 2,4-D (1.0 mg/l, 3.0 mg/l, 5.0 mg/l)	Vitamin B12: 0.03 mg/l Agar-agar: 8g	35°C 8 gün Yamula: %10,70 EOO Anamur F ₁ : %9,73 EOO	Geboloğlu (2017)	
11	A117 F ₁ Amadeo F ₁	DDV-C DDV-R MS	Sakkaroz: 30 g/l Sakkaroz: 120 g/l	Kinetin (5mg/l) + 2,4-D (5mg/l) Kinetin (0.1 mg/l)	Vitamin B12: 0.03 mg/l Agar-agar: 8g	35°C 8 gün A117 F ₁ : %42,68 EOO Amadeo F ₁ : 9,96 EOO A117 F ₁ : 16,81 BO (anter %) Amadeo F ₁ : 5,73 BO (anter %) A117 F ₁ : 41,33 BO (embriyo %) Amadeo F ₁ : 57,64 (embriyo %)	Özdemir-Çelik (2018)	
1	Bambino	Modifiye NLN B ort. AT3	Maltoz: 90 g/l	-	Mannitol: 0.3 M	4°C 2 gün 25°C 2 gün 33°C 2 gün	Simetrik bölünme ve çok çekirdekli yapı 33 °C'de 2 gün bekletilen kültürlerde görülmüştür. Çok çekirdekli yapıların oranı % 19,4	Bal ve ark. (2009)
2	Faselis F ₁ Ayдын Siyahı Amadeo F ₁	NLN	Maltoz: 90 g/l	Kinetin (0.5 mg/l) + 2,4-D (0.5 mg/l) NAA (0.5 mg/l) + BAP (0.5 mg/l)	Mannitol: 0.3M Ko-kültür için Panda buğday çeşidinin ovaryumunu	35°C 8 gün (0.3M mannitolü ortamda)	Faselis ve Amadeo'da ovaryum ko-kültürü ve 2,4-D + Kinetin'i ortamlarda simetrik çekirdek bölünmesi ve çok çekirdekli yapı oluşmuştur. Ayдын Siyahında çok çekirdekli yapı oluşmamıştır.	Özdemir (2012)
3	A117 F ₁ Amadeo F ₁	NLN MS (bitki rejencerası nu)	Sakkaroz: 20 g/l Sakkaroz: 30 g/l	NAA (0.5 mg/l) + BAP (0.5 mg/l) Kinetin (0.1 mg/l, 0.2 mg/l, 0.5 mg/l) + 2,4-D (0.1 mg/l, 0.2 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l) IAA (0.2 mg/l) + Zeatin (4 mg/l)	AGP:0.1,1,10 mg/l ABA: 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2 ve 5 mg/l	ABA: farklı sürelerde; 24, 48 ve 72 saat	A117 F ₁ : 36 kallustan 18 bitki Amadeo F ₁ : 70 kallustan 25 bitki	Özdemir (2018)

*. Ön stres uygulamasından sonra kültürler genellikle 24-25 °C'de 16/8 veya 12/12 saatlik fotoperiyot koşullarına sahip iklim şartlarında inkübe edilmiştir.

**.: 35°C'de 8 gün karanlıkta bekletilmeden oluşan ön stres uygulaması genellikle DDV-C (Dumas de Vaulx - C) ortamında yapılmıştır. Bu stres uygulamasından sonra kültürler 25 °C 4 gün 16 h aydınlık 8 h karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra kültürler 12. günün sonunda DDV-R (Dumas de Vaulx - R) ortamına aktarılarak 25 °C'de 16 h aydınlık 8 h karanlık koşullarda inkübe edilmiştir.

Türkiye’de yapılan patlıcan mikrospor kültürlerinde kullanılan besin ortamlarına gelince; bu konudaki ilk çalışmayı yapan Bal vd. (2009), tütünde kullanılan mikrospor kültürü protokolünü modifiye ederek Bambino patlıcan çeşidinde test etmiştir. Modifiye protokole göre mikrosporlar B ortamında ön kültüre alınmış, ardından 0.25 M maltoz içeren AT3 ortamına transfer edilmiştir. Çalışmada embriyo oluşmamış, ancak simetrik çekirdek bölünmesi ve çok çekirdekli yapıların varlığı tespit edilmiştir.

Özdemir (2012)’in 3 farklı patlıcan genotipi (Faselis, Amadeo ve Aydın Siyahı) için kullandığı ovaryumlu ko-kültürlü mikrospor kültürü çalışmasında NLN ortamında 2-4 D, kinetin, NAA, BAP’ın farklı konsantrasyonlarının etkileri, buğday ovaryumu ile birlikte incelenmiştir. Ön uygulama olarak patlıcan anterleri 0.3 M mannitol solüsyonunda +35 °C 8 gün karanlık koşullarda bekletilmiş, 8. günün sonunda anterlerden izole edilen mikrosporların uyarılmasını sağlamak için NLN temel besin ortamına 5 mg/l 2,4D + 5 mg/l kinetin ve 5 mg/l NAA+ 5 mg/l BAP eklenmiştir. Mikrosporlar daha sonra NLN temel besin ortamına ilave edilen buğday ovaryumu ile birlikte 0.5 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin ile 0.5 mg/l NAA + 0.5 mg/l BAP içeren besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültür sonucu patlıcanda androgenesisini teşvik için kinetin ve 2,4-D’nin daha etkili olduğu gözlemlenmiştir. Embriyo ve bitkinin oluşmadığı çalışmada çok çekirdekli yapılar sadece 0.5 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin + ovaryum içeren besin ortamında elde edilmiştir.

Yine Özdemir’in modifiye etmeye çalıştığı mikrospor kültürü çalışmasında (Özdemir-Çelik 2018), Amadeo ve A117 genotiplerini kullanmıştır. Temel besin ortamı olarak kullanılan NLN (Lichter 1982) ortamındaki farklı oranlarda arabinogalaktan proteinleri (AGP) (01 mg/l, 1 mg/l, 10 mg/l), farklı sürelerde (24, 48 ve 72 saat) absisik asit (ABA) (0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2 ve 5 mg/l) ve ayrıca kinetin ve 2,4-D’nin farklı konsantrasyonlarının (0.1, 0.2, 0.5 ve 1 mg/l) kültüre verdiği tepkiler incelenmiştir. Çalışma sonunda AGP’nin indükleyici bir etkisini bulunmadığı, ABA uygulamalarının hepsinde mikrospor canlılığı üzerine etkisi olduğu ama kallus elde etmede kontrol grubu ile arasındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olmadığı ortaya çıkmıştır. 16 besin ortamında farklı oranlarda kullanılan Kinetin ve 2,4 D den ise; A117 genotipinde 1 mm’den büyük kallus eldesi ve kallus sayısı yönünden 12 numaralı (0.5 mg/l 2,4 D + 1 mg/l kinetin) besin ortamı başarılı bulunmuştur. Amadeo genotipinde ise 1 mm’den büyük kallus ve kallus sayısı en fazla kontrol grubundan elde edilmiştir. Çalışma sonucunda direk bitki elde edilememiş olup, indirekt olarak A117 genotipinden 36 kallustan 18, Amadeo genotipinden 70 kallustan 25 bitkiye dönüşüm gerçekleştiği belirtilmiştir. Flow sitometri sonuçlarına göre ise kallustan elde edilen bitkilerden diploid ve triploid bitkiler elde edilmiş olup DH bitki oranı A117 genotipinde %68, Amadeo genotipinde %60 olarak tespit edilmiştir.

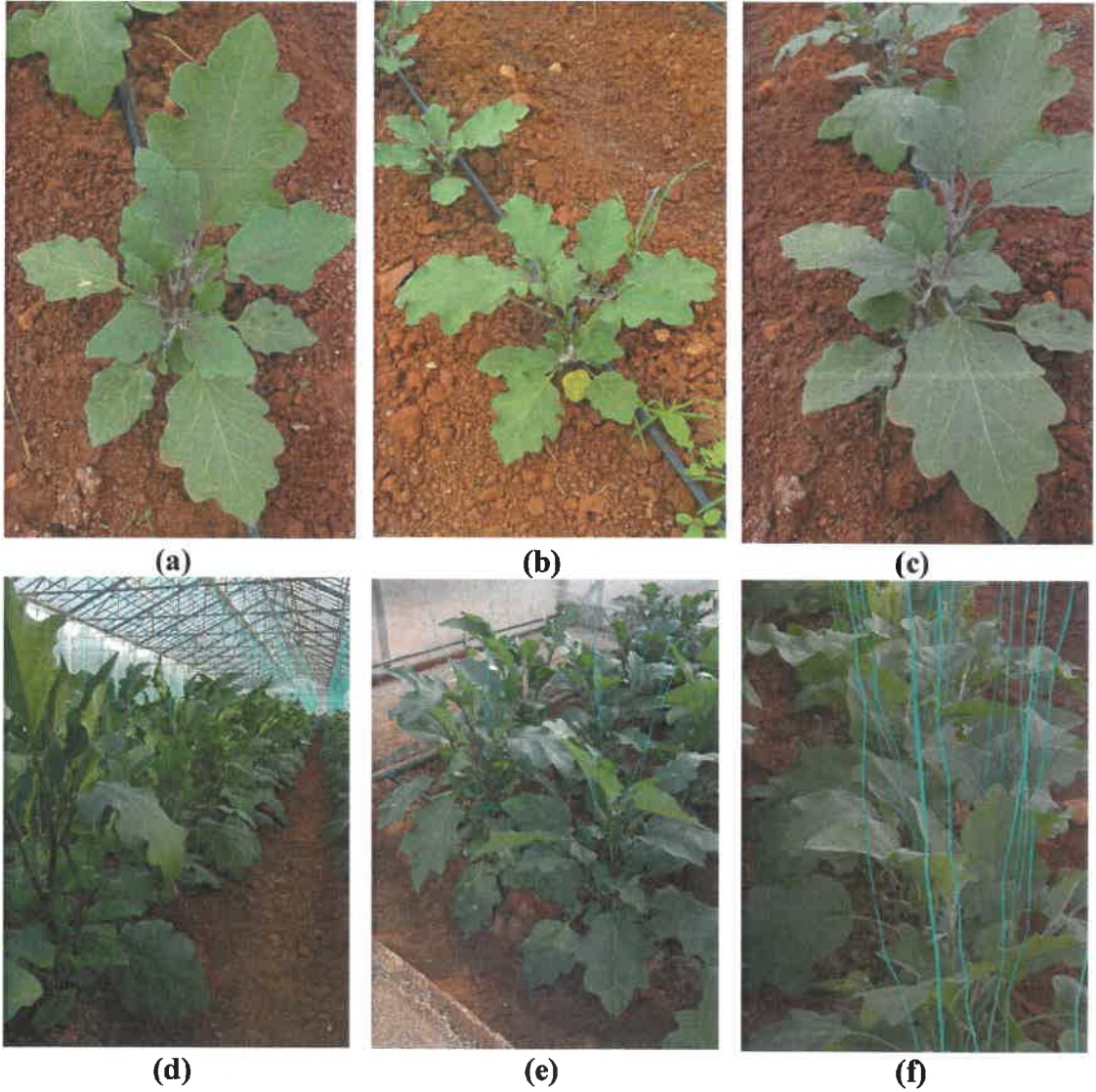
Çizelge 2.1’de görüldüğü gibi Türkiye’de yapılan patlıcan anter kültürü çalışmalarının da tümünde temel besin ortamı olarak DDV-C ve DDV-R ortamları kullanılmıştır. Farklı olarak Özzambak ve Atasayar (1994) MS ve NN ortamlarını, Alpsoy (1999) ve Doksöz (2015) ise DDV-C ve DDV-R ortamlarının yanında MS ortamının da etkisini araştırmışlardır. Mikrospor kültürü çalışmalarında (Bal vd. 2009; Özdemir 2012 ve 2018) ise NLN (Lichter 1981) ortamı kullanılmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

Bu araştırma denemeleri 2018 ilkbahar ve sonbahar dönemlerinde Antalya Tarım Üretim ve Pazarlama A.Ş. Gaziler İstasyonunda bulunan Donör Ebeveyn Yetiştirme Ünitelerinde ve Bitki Doku Kültürü Laboratuvarında kurulmuştur. Uygun mikrospor/tomurcuk safha tespiti Akdeniz Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Bitki Doku Kültürü Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Materyal

Bitkisel materyal olarak ilkbahar döneminde Anamur F₁, A117 F₁ ve Darko F₁, sonbahar döneminde ise Anamur F₁ ve A117 F₁ genotipleri, anterlerin donör bitkileri olarak kullanılmıştır. Kullanılan genotiplere ait bazı fotoğraflar Şekil 3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan donör bitki genotiplerinin seradaki görüntüleri. **a/d)** A117 F₁ genotipi; **b/e)** Anamur F₁ genotipi; **c/f)** Darko F₁ genotipi

3.2. Metot

3.2.1. Donör bitki yetiştiriciliği

Genotiplere ait tohumların ekim işlemleri ilkbahar döneminde 02.03.2018, sonbahar döneminde ise 10.08.2018 tarihinde Antalya Fide’de, torf doldurulmuş viollere yapılmıştır. Fide döneminde 44 g/100 lt 20-10-20 NPK ve 5 g/100 lt KNO₃ karışımı ile 1.3-1.4 EC’yi geçmeyen gübreleme yapılmıştır. İhtiyaç halinde organik madde veya demir ilavesi de yapılmıştır. Bu dönemde durdurucu, insektisit, fungusit vb gibi herhangi bir kimyasal uygulama yapılmamıştır. Dikim boyuna gelen fideler ilkbahar döneminde 02.04.2018, sonbahar döneminde 05.09.2018 tarihinde Antalya Tarım’a ait Gaziler İstasyonunda bulunan donör ebeveyn yetiştirme ünitesine sıra üzeri 40 cm ve sıra arası 80 cm olacak şekilde, her bir genotipten 20’şer fide olarak dikilmiştir. Seradaki bitkiler otomasyon sistemi ile gübrelenmiştir. Gübreleme sisteminde 3 tank (A,B,C) kullanılmış olup, bu tanklardaki gübrelerin içerikleri Çizelge 3.1.’de verilmiştir. Bitkilere iki farklı gübreleme programı uygulanmıştır. Birincisi fide dikiminden çiçeklenmeye kadar yapılan gübreleme (birinci dönem gübreleme), ikincisi ise çiçeklenmeden sonraki dönemde (ikinci dönem gübreleme) yapılan gübrelemedir. Gübreleme sisteminde EC 1,5’den başlayarak 2,5’e kadar kademeli olarak yükseltilmiştir. Bu gübrelemelerin miktarlarına da yine Çizelge 3.1.’de yer verilmiştir. Sulama ve diğer kültürel işlemler ise bitkinin gelişimi takip edilerek bitkinin ihtiyacı doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

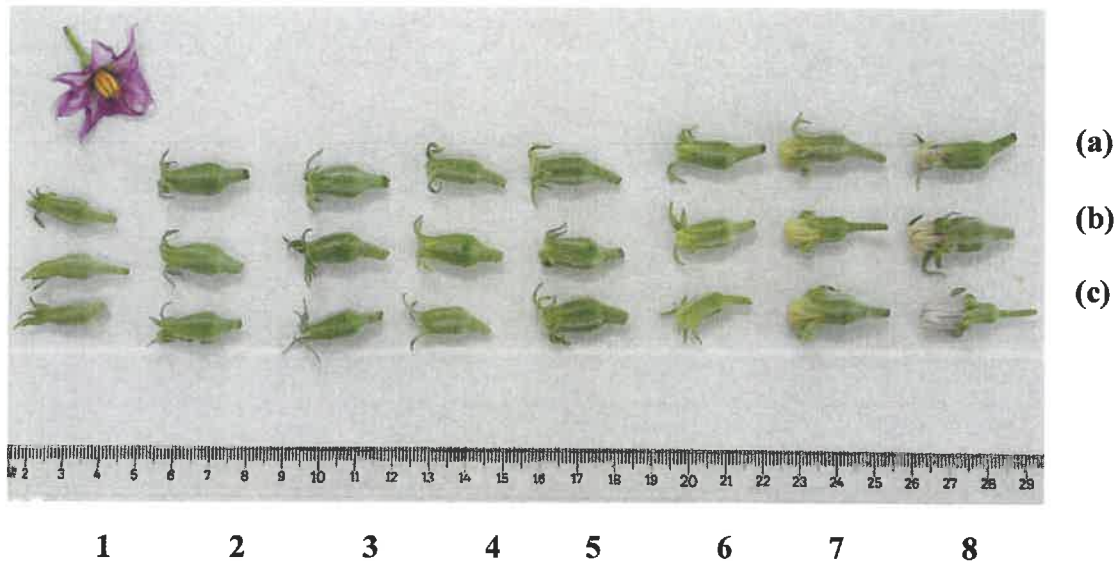
Çizelge 3.1. Seradaki donör bitkilere uygulanan gübreler ve miktarları

Gübre İsimleri	Birinci Dönem Gübreleme Miktarı (kg/100 L su)	İkinci Dönem Gübreleme Miktarı (kg/100 L su)	A Tankı	B Tankı	C Tankı
Potasyum Nitrat	15 kg	30 kg	X	-	-
Amonyum Nitrat	10 kg	15 kg	X	-	-
MAP	10 kg	8 kg	X	-	-
Magnezyum Sülfat	20 kg	20 kg	X	-	-
Çinko Sülfat	75 gr	75 gr	X	-	-
Borax	175 gr	175 gr	X	-	-
Sodyum Molibdat	6 gr	6 gr	X	-	-
Mangan Sülfat	90 gr	90 gr	X	-	-
Bakır Sülfat	10 gr	10 gr	X	-	-
Fosforik Asit	3 lt	3 lt	X	-	-
Potasyum Sülfat	6 kg	10 kg	X	-	-
Kalsiyum Nitrat	15 kg	15 kg	X	-	-
Nitrik Asit	0,5 lt	0,5 lt	-	-	X
Demir	1 lt	1 lt	-	X	-

Bitkiler sadece donör olarak yetiştirildiği için üzerlerinde meyve oluşmasına izin verilmemiş, ilk çiçek (kral çiçek) ve uygun tomurcuk aşamasını geçen bütün çiçek ve tomurcuklar bitkiden uzaklaştırılmıştır. Uygun aşamadaki tomurcuklar ilkbahar döneminde 02.05.2018 - 30.07.2018, sonbahar döneminde 01.10.2018 - 07.12.2018 tarihleri arasında her gün düzenli olarak sabah 07:00-08:30 arasında hasat edilmiştir. Tomurcuk alınan dönem boyunca bitkilere kimyasal ilaç uygulaması yapılmamış ve herhangi bir strese maruz bırakılmamıştır.

3.2.2. DAPI boyama ile uygun mikrospor safhasının belirlenmesi

Bu amaçla öncelikle ait farklı büyüklüklerdeki çiçek tomurcukları ilkbahar döneminde 02.05.2018, sonbahar döneminde ise 01.10.2018 tarihinde yani kültürün başlangıcında seradan toplandıktan sonra morfolojilerine göre kendi aralarında 8 gruba ayrılmıştır (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Uygun mikrospor safhasının belirlenmesi için 3 genotipin morfolojilerine göre gruplara ayrılması. a) A117 F₁ genotipi; b) Anamur F₁ genotipi; c) Darko F₁ genotipi

Tomurcukların ve tomurcukların içerisinden çıkartılan anterlerin boyları ölçülmüş ve ayrıca anterlerin renk durumları incelenmiştir. Morfolojik olarak incelenen anterlerdeki mikrosporların uygun aşamasını doğru olarak belirleyebilmek içinse 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) adlı DNA-spesifik florokrom ile boyama yöntemi kullanılmıştır. Gruplara ayrılan tomurcuklardan çıkartılan anterler birer lam üzerine yerleştirilerek, anterin üzerine Coleman ve Goff (1985) ile Kim ve Jang (2000)'a göre hazırlanan DAPI çözeltisinden pastör pipeti ile birer damla damlatılmış, anter sivri uçlu bir pens yardımıyla bu sıvıda ezilerek içerisindeki mikrosporların lam üzerine dağılması sağlanmış ve anter dokusu lamdan uzaklaştırıldıktan sonra da üzerine lamel kapatılmıştır. Bu şekilde hazırlanan preparatlar 15-20 dk karanlıkta bekletilerek mikrosporların boyanması sağlanmış, ardından florasan ışık mikroskopunda, DAPI filtresi kullanılarak 365 nm dalga boyunda mikrosporların gelişim aşamaları incelenmiştir. DAPI boyama yöntemi yardımıyla uygun aşamada olduğu belirlenen mikrosporları içeren tomurcukların anterleri kültüre alınmıştır.

3.2.3. Tomurcukların sterilizasyonu

DAPI boyama yöntemi yardımıyla doğru aşamadaki mikrosporları içeren ve morfolojileri belirlenmiş uygun büyüklükteki tomurcuklar sabah erken saatlerde toplanarak laboratuvara getirilmiştir. Kavanozlar içerisine aktararak steril kabin içerisine alınan tomurcuklar 1 dakika %70'lik etil alkol ile arada çalkalanarak yüzey sterilizasyonunun ilk aşaması gerçekleştirilmiştir. Steril saf sudan geçirilerek sterilizasyonun ikinci aşamasına alınan tomurcuklar %15 sodyum hipoklorit ve 1-2 damla Tween-20 içeren çözeltide 15 dakika arada çalkalanarak bekletilmiş ve ardından 3-4 defa steril edilmiş distile saf su ile durulanmıştır.

3.2.4. *In vitro* anter kültürleri

3.2.4.1. Besin ortamlarının hazırlanması

Çalışmada ilkbahar ve sonbaharda olmak üzere iki farklı yetiştiricilik döneminde yetiştirilen farklı genotiplerin anter kültürlerinde sezonun etkisi kıyaslanmıştır. Bu kıyaslama yapılırken ayrıca katı, sıvı ve shed-mikrospor kültüründe kullanılan çift fazlı ortam olmak üzere üç farklı ortam tipinin içerisinde çeşitli besin ortamı uygulamalarının patlıcanda embriyo ve bitki gelişimi üzerine etkileri karşılaştırılmıştır. Bu denemelerin kontrolünü; patlıcan anter kültürlerinde yaygın şekilde kullanılan Dumas de Vaulx vd. (1981) ve Chambonnet (1985)'in geliştirdiği DDV-C ortamı (mikrospor embriyogenesisini indüklemeye ortamı) ve R ortamından (rejenerasyon ortamı) oluşan iki aşamalı ortamlar oluşturmuştur. Bu kontrol ortamında kullanılan makro – mikro elementler, vitaminler, büyüme düzenleyici ve diğer bileşenlerin içeriği Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Yukarıda bahsedilen çok sayıdaki ortam uygulaması DDV-C nin modifiye edilmesi ile oluşturulmuştur. Bu amaçla kontrol ortamına çeşitli konsantrasyonlarda gümüş nitrat ($AgNO_3$), aktif karbon ve sukroz yerine yine farklı dozlarda maltoz eklenmiştir. Bu şekilde oluşturulan ortamların içeriklerine aşağıda daha detaylı olarak çizelgelerde yer verilmiştir.

Oluşan embriyolardan bitkiciğe dönüşmeye başlayanların daha iyi rejenerasyonunu sağlamak üzere bu yapılar BGD içermeyen MS temel besi ortamında kültüre alınmıştır. MS temel besi ortamının içeriği Çizelge 3.3. de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Dumas de Vaulx vd. (1981) ve Chambonnet (1985) tarafından geliştirilen patlıcan anter kültürü protokolünde kullanılan C ve R besin ortamlarının içerikleri

Bileşikler	DDV-C Ortamı mg/l	DDV-R Ortamı mg/l
Makro Elementler		
KNO ₃	2150	2150
NH ₄ NO ₃	1238	1238
MgSO ₄ -7H ₂ O	412	412
CaCl ₂ -2H ₂ O	313	313
KH ₂ PO ₄	142	142
Ca(NO ₃) ₂ -4H ₂ O	50	50
NaH ₂ PO ₄ -H ₂ O	38	38
(NH ₄) ₂ SO ₄	34	34
KCl	7	7
Mikro Elementler		
MnSO ₄ -H ₂ O	22.130	20.130
ZnSO ₄ -7H ₂ O	3.625	3.225
H ₃ BO ₃	3.150	1.550
KI	0.695	0.330
Na ₂ MoO ₄ -2H ₂ O	0.188	0.138
CuSO ₄ -5H ₂ O	0.016	0.011
CoCl ₂ -6H ₂ O	0.016	0.011
Vitaminler ve Aminositler		
Myo-İnositol	50.300	50.300
Pyridoxin HCl	5.500	5.500
Nicotinic acid	0.700	0.700
Thyamine HCl	0.600	0.600
Calcium panthotenate	0.500	0.500
Vitamin B ₁₂	0.030	-
Biotin	0.005	0.005
Glycin	0.100	0.100
Demir Bileşikleri		
Na ₂ EDTA	18.65	18.65
FeSO ₄ -7H ₂ O	13.90	13.90
Bitki Büyüme Düzenleyicileri		
2,4-D*	5	0.1
Kinetin*	5	-
Karbonhidrat		
Sakkaroz g/l*	120	30
Katılaştırıcı Ajan		
Plant agar g/l	8	8
pH		
	5.9	5.9

*Chambonnet (1985) tarafından oranları belirlenen bileşikler

Çizelge 3.3. Murashige ve Skoog (1962) tarafından geliştirilen besin ortamının içeriği

Bileşikler	mg/L	mM/L
Makro Elementler		
KNO ₃	1900	18.79
NH ₄ NO ₃	1650	20.61
MgSO ₄	180.54	1.50
CaCl ₂	332.02	2.99
KH ₂ PO ₄	170	1.25
Mikro Elementler		
MnSO ₄ -H ₂ O	16.90	100
ZnSO ₄ -7H ₂ O	8.60	29.91
H ₃ BO ₃	6.20	100.27
KI	0.83	5
Na ₂ MoO ₄ -2H ₂ O	0.25	1.03
CuSO ₄ -5H ₂ O	0.025	0.10
CoCl ₂ -6H ₂ O	0.025	0.11
Vitaminler ve Aminositler		
Myo-İnositol	100	554.94
Pyridoxin HCl	0.50	2.43
Nicotinic acid	0.50	4.06
Thyamine HCl	0.10	0.30
Glycin	2	26.64
Demir Şelat		
FeNaEDTA	36.70	100
Karbonhidrat		
Sakkaroz g/l		30
Katılaştırıcı Ajan		
Plant agar g/l		8
pH		
5.9		

Anter kültürleri için besin ortamları hazırlarken C ve R ortamlarının makro, mikro ve vitamin stok solüsyonları hazırlanmıştır. 2,4-D, Kinetin ve AgNO₃ için de stok solüsyonlar hazırlanmıştır. Besin ortamları hazırlanırken bu stok çözeltilerden gerekli miktarlar ölçüldükten sonra sukroz, maltoz veya aktif kömür çeşitli ortamlar için tartılarak ortama ilave edilmiştir. Hazırlanan besin ortamlarının tamamının pH'sı 5.9 olarak ayarlanmıştır. pH'nın ayarlanması 1N HCl ve 1 N NaOH çözeltileri ile yapılmıştır. pH'sı ayarlanan besin ortamlarına agarları daha sonra eklenmiş ve ağızları uygun şekilde kapatılarak 121 °C'de 1 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Çalışmalar sırasında kullanılan besin ortamlarının yanısıra çeşitli cam malzemeler ile pens, bisturi, metal stant, havlu kağıt, filtre kağıdı, kağıt tabak vb steril kabin içerisinde kullanılacak bütün malzemelerin sterilizasyonu ise otoklavda 121 °C 1 atm basınçta 30 dk boyunca buharla sterilizasyon yoluyla gerçekleştirilmiştir. Steril edilen katı besi ortamı ve çift fazlı besi ortamının katı kısmı 80 mm çapındaki cam petrilere eşit miktarlarda dökülmüştür. Sıvı besin ortamı ve çift fazlı ortamın sıvı kısmı kültüre alma işlemi başlayıncaya kadar şişeler içerisinde karanlık koşullarda ve +4 °C'de

bekletilmiştir. Besin ortamları genellikle kültürden bir gün önce hazırlanarak kullanılmıştır.

3.2.4.2. Anterlerin kültüre alınması ve bitki rejenerasyonu

Dumas de Vault vd. (1981)'nin protokolüne göre kültüre alınan anterler önce 8 gün 35 °C'de karanlıkta ve 4 gün 25 °C'lik fotoperiyot koşullarında olmak üzere toplam 12 gün boyunca DDV-C ortamında bekletilmektedir. Daha sonra DDV-R ortamına transfer edilerek bu ortam içerisinde embriyo ve bitkicik oluşumu beklenmektedir. Bu çalışmada klasik DDV-C ve klasik DDV-R ortamları modifiye edilmeye çalışılmıştır. Ortamların modifikasyonları karbonhidrat kaynağı olan sukroz yerine yine maltozun eklenmesi ve aktif karbon ve gümüş nitratin farklı dozlarının ilave edilmesi ile yapılmıştır.

Çalışmada yapılan denemeler ilkbahar ve sonbahar dönemlerinde olmak üzere iki sezonda gerçekleştirilmiştir. Bu denemelerde kullanılan ortamlar arasında bazı farklılıklar vardır. Denemelerde kullanılan ortamların içerikleri aşağıda verilmiştir:

İlkbahar Dönemi Kültürleri:

İlkbahar dönemi denemelerinde 3 farklı genotip olarak Anamur F₁, A117 F₁ ve Darko F₁ kullanılmış, her bir genotipte katı, sıvı ve shed-mikrospor kültür (çift fazlı kültür) tipi ve her bir ortam tipinde 12 farklı modifiye-C (Mod-C) besin ortamında anter kültürleri yapılmıştır. Farklı uygulamalar; kontrol uygulaması olan klasik DDV-C nin yanında aktif kömür (0 ve 1 g/L), AgNO₃ (0, 5, 10 mg/L) ve maltozun (0, 60 g/L) ilavesiyle oluşturulmuştur. İlkbahar dönemi denemelerinde katı, sıvı ve shed-mikrospor kültürlerinde kullanılan Mod-C besin ortamı uygulamaları Çizelge 3.4.'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.4.de görüldüğü gibi 12 farklı Mod-C ortamı karbonhidrat kaynağı farklılığına göre aslında altışarlık 2 setten oluşturulmuştur. Her bir set 0, 5 ve 10 mg/L AgNO₃'ün 1 g/L (%0.1'lik) aktif karbonla birlikte kullanılıp kullanılmamasına göre 6 farklı modifikasyon ortamından oluşmaktadır. Bu 12 farklı ortamın kontrolü olarak klasik DDV-C ortamı olan 1 nolu ortam kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. deki her bir ortam tipinde test edilen 12 farklı uygulamanın her biri için 100 anter, 10 petriye eşit olarak 10'ar adet ekilmiştir. Bu modifiye C ortamlarının her birinde kültüre alınan anterler ön inkübasyon (8 gün 35°C'de karanlık) uygulamasından sonra, kültüre alındıkları C ortamına uygun oluşturulan modifiye R ortamlarına aktarılmıştır. Böylece katı sıvı ve iki fazlı her bir ortam tipinde 12 farklı Mod-R besin ortamı kullanılmıştır. İlkbahar dönemi denemelerinde katı, sıvı ve shed-mikrospor kültürlerinde kullanılan Mod-R besin ortamı uygulamaları Çizelge 3.5.'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.4. İlkbahar dönemi denemelerinde katı, sıvı ve shed-mikrospor kültürlerinde kullanılan Mod-C besin ortamı uygulamaları

Uygulama No	Mod-C Ortam No*	Sukroz (g/L)	Maltoz (g/L)	2,4-D (mg/L)	Kinetin (mg/L)	Gümüş Nitrat (mg/L)	Aktif Karbon (g/L)
1	K1, S1, SM1 (Kontrol)	120	-	5	5	-	-
2	K2, S2, SM2	120	-	5	5	5	-
3	K3, S3, SM3	120	-	5	5	10	-
4	K4, S4, SM4	120	-	5	5	-	1
5	K5, S5, SM5	120	-	5	5	5	1
6	K6, S6, SM6	120	-	5	5	10	1
7	K7, S7, SM7	-	60	5	5	-	-
8	K8, S8, SM8	-	60	5	5	5	-
9	K9, S9, SM9	-	60	5	5	10	-
10	K10, S10, SM10	-	60	5	5	-	1
11	K11, S11, SM11	-	60	5	5	5	1
12	K12, S12, SM12	-	60	5	5	10	1

*K=Katı, S=Sıvı, SM=Shed-mikrospor kültürü

Çizelge 3.5. İlkbahar dönemi denemelerinde katı, sıvı ve shed-mikrospor kültürlerinde kullanılan Mod-R besin ortamı uygulamaları

Mod-R Ortam No	Mod-R'ye Aktarılan Anterlerin Geldiği Mod-C Ortam No*	Sukroz (g/L)	Maltoz (g/L)	Kinetin (mg/L)	Gümüş Nitrat (mg/L)	Aktif Karbon (g/L)
1	K1, S1, SM1 (Kontrol)	30	-	0.1	-	-
2	K2, S2, SM2	30	-	0.1	5	-
3	K3, S3, SM3	30	-	0.1	10	-
4	K4, S4, SM4	30	-	0.1	-	1
5	K5, S5, SM5	30	-	0.1	5	1
6	K6, S6, SM6	30	-	0.1	10	1
7	K7, S7, SM7	-	20	0.1	-	-
8	K8, S8, SM8	-	20	0.1	5	-
9	K9, S9, SM9	-	20	0.1	10	-
10	K10, S10, SM10	-	20	0.1	-	1
11	K11, S11, SM11	-	20	0.1	5	1
12	K12, S12, SM12	-	20	0.1	10	1

*K=Katı, S=Sıvı, SM=Shed-mikrospor kültürü

Sonbahar Dönemi Kültürleri:

İlkbahar dönemi çalışmalarında shed-mikrospor kültürlerinden hiçbir olumlu sonuç alınmadığı için bu kültür tipine ve tohum temininde yaşanan sorun nedeniyle de Darko F₁ genotipine sonbahar dönemi denemelerinde yer verilmemiştir. Bu nedenle sonbahar dönemi denemeleri Anamur F₁ ve A117 F₁ genotiplerinde kurulan katı ve sıvı anter kültürlerinden oluşturulmuştur. Katı ortam tipinde 24 uygulama, sıvı ortam tipinde 12 uygulama kullanılmıştır. Bunun sebebi ilkbahar dönemi çalışmalarında aktif kömür ilave edilen sıvı anter kültürlerinden hiçbir olumlu sonuç alınmadığı için sonbahar döneminde sıvı kültürlerde aktif kömürlü uygulamaların çıkartılmış olmasıdır.

Katı ortam denemelerinde, ilkbaharda test edilen 12 uygulamaya ilave olarak 12 yeni uygulamaya daha yer verilmesinin sebebi ise ilkbahar denemelerinde maltozlu uygulamalardaki anter canlıklarının daha yüksek olması nedeniyle maltozun yarı ve iki katı dozlarının da araştırılmak istenmesidir. Böylece sonbaharda katı ortam tiplerinde 24 farklı Mod-C besin ortamında anter kültürleri yapılmıştır. Sonbahar dönemi denemelerinde katı ve sıvı anter kültürlerinde kullanılan farklı Mod-C besin ortamı uygulamaları Çizelge 3.6.'da belirtilmiştir.

Çizelge 3.6.'da tıpkı çizelge 3.4. gibi karbonhidrat kaynağına göre altışarlık setlerden oluşturulmuştur. Çizelge 3.6.'daki 24 katı ve 12 sıvı uygulamanın her biri için 200 anter 20 petriye eşit olarak 10'ar adet ekilmiştir. Bu Mod-C ortamlarının her birinde kültüre alınan anterler ön inkübasyon (8 gün 35°C'de karanlık) uygulamasından sonra, anterlerin yarısı yani 10'ar petrideki anterler daha önce kültüre alındıkları C ortamlarına uygun oluşturulan Mod-R ortamlarına, yarısı da klasik DDV-R ortamına aktarılmıştır. Böylece 24 katı ve 12 sıvı Mod-R besin ortamı kullanılmıştır. Sonbahar dönemi denemelerinde katı ve sıvı anter kültürlerinde kullanılan Mod-R besin ortamı uygulamaları Çizelge 3.7.'de belirtilmiştir.

Bu ortamlar kültür tarihinden bir gün önce hazırlanmıştır. Anterlerin kültüre alınma işlemlerinde tomurcuklar pens ve bisturi yardımıyla steril edilmiş filtre kağıtları üzerinde açılarak, içerisinden anterler çıkartılmış ve Mod-C ortamları içeren her bir petriye 10'ar adet olacak şekilde ekim işlemleri yapılmıştır. Ekim işlemi tamamlanan petrilerin kenarları stretch film ile sarılarak detayı aşağıda belirtilen ön inkübasyona alınmıştır. Ardından aktarıldıkları Mod-R ortamlarında oluşan embriyolar bitkicik oluşturmaya başlayınca BGD içermeyen tüpler içerisindeki MS temel besin ortamına 30 gr/l sakkaroz ve 8 gr/l agar içeren besin ortamına aktarılarak bitkicikler büyütülüp, köklendirilerek tam rejenerasyonları sağlanmıştır.

3.2.4.3. Anterlere uygulanan ön işlemler

Bu çalışmada daha önce yapılan Dumas de Vaulx vd. (1981), Dumas de Vaulx ve Chambonnet (1982), Chambonnet (1985), Karakullukçu (1991), Doksöz (2015) ve Özdemir-Çelik (2018)'in çalışmaları dikkate alınarak anterlere bu çalışmalardan farklı bir ön uygulama yapılmamıştır.

Bu çalışmada Mod-C besin ortamlarında yönünden farklı bir uygulamaya gidilmemiştir. Buna göre hazırlanan C besin ortamlarında kültüre alınan bütün anterler ilk 8 gün 35°C'de karanlık koşullarda inkübe edildikten sonra 4 gün süreyle 25°C'de 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyodik düzende büyütme odasında bekletilmiştir.

Ardından Mod-R ortamlarına transfer edilen anterler aynı şartlarda büyütme odasında kültüre alınmaya devam edilmiştir.

Çizelge 3.6. Sonbahar dönemi denemelerinde katı ve sıvı anter kültürlerinde kullanılan Modifiye C (Mod-C) besin ortamı uygulamaları

Uygulama No	Mod-C Ortam No*	Sukroz (g/L)	Maltoz (g/L)	2,4-D (mg/L)	Kinetin (mg/L)	Gümüş Nitrat (mg/L)	Aktif Karbon (g/L)
1	K1, S1 (Kontrol)	120	-	5	5	-	-
2	K2, S2	120	-	5	5	5	-
3	K3, S3	120	-	5	5	10	-
4	K4	120	-	5	5	-	1
5	K5	120	-	5	5	5	1
6	K6	120	-	5	5	10	1
7	K7, S4	-	30	5	5	-	-
8	K8, S5	-	30	5	5	5	-
9	K9, S6	-	30	5	5	10	-
10	K10	-	30	5	5	-	1
11	K11	-	30	5	5	5	1
12	K12	-	30	5	5	10	1
13	K13, S7	-	60	5	5	-	-
14	K14, S8	-	60	5	5	5	-
15	K15, S9	-	60	5	5	10	-
16	K16	-	60	5	5	-	1
17	K17	-	60	5	5	5	1
18	K18	-	60	5	5	10	1
19	K19, S10	-	90	5	5	-	-
20	K20, S11	-	90	5	5	5	-
21	K21, S12	-	90	5	5	10	-
22	K22	-	90	5	5	-	1
23	K23	-	90	5	5	5	1
24	K24	-	90	5	5	10	1

*K=Katı ortam, S=Sıvı ortam

Çizelge 3.7. Sonbahar dönemi denemelerinde katı ve sıvı anter kültürlerinde kullanılan Mod-R besin ortamı uygulamaları

Mod-R Ortam No	Mod-R'ye Aktarılan Anterlerin Geldiği Mod-C Ortam No*	Sukroz (g/L)	Maltoz (g/L)	Kinetin (mg/L)	Gümüş Nitrat (mg/L)	Aktif Karbon (g/L)
1	K1, S1 (Kontrol)	30	-	0.1	-	-
2	K2, S2	30	-	0.1	5	-
3	K3, S3	30	-	0.1	10	-
4	K4	30	-	0.1	-	1
5	K5	30	-	0.1	5	1
6	K6	30	-	0.1	10	1
7	K7, S4	-	20	0.1	-	-
8	K8, S5	-	20	0.1	5	-
9	K9, S6	-	20	0.1	10	-
10	K10	-	20	0.1	-	1
11	K11	-	20	0.1	5	1
12	K12	-	20	0.1	10	1
13	K13, S7	-	20	0.1	-	-
14	K14, S8	-	20	0.1	5	-
15	K15, S9	-	20	0.1	10	-
16	K16	-	20	0.1	-	1
17	K17	-	20	0.1	5	1
18	K18	-	20	0.1	10	1
19	K19, S10	-	20	0.1	-	-
20	K20, S11	-	20	0.1	5	-
21	K21, S12	-	20	0.1	10	-
22	K22	-	20	0.1	-	1
23	K23	-	20	0.1	5	1
24	K24	-	20	0.1	10	1

*K=Katı ortam, S=Sıvı ortam

3.2.4.4. Kültür koşulları ve aklimatizasyon

Ön uygulama işleminden sonra inkübatörden çıkartılan petripler büyütme odasına yerleştirilmiştir. Bitki büyütme odasındaki kültür koşulları; 24 °C ±2 °C sıcaklık ve 16 saat aydınlık / 8 saat karanlık fotoperiyodik rejimden oluşturulmuştur. Rafların ışıklandırılması bitki yetiştirmeye uygun özel led lambalarla, ışık intensitesi 1.800-2.000 lüks arasında ayarlanarak yapılmıştır (Şekil 3.3.). *In vitro* şartlarda büyütülen bitkicikler aklimatizasyon işlemleri ve daha iyi gelişmeleri için saksılara şaşırtılmıştır. Şaşırtma için; 1/3 torf, 1/3 vermikulit, 1/3 perlit karışımı nemlendirilerek, 5 cm uzunluğu, 6 cm çapı bulunan plastik saksılara dikim yapılmıştır. Dikimi gerçekleştirilen saksılara etiketler yapıştırılarak genotipleri ve besi ortamları yazılmıştır. Bitkiler adaptasyon odasında dış koşullara alıştırılırken yani aklimatizasyonları yapılırken sıcaklık 24 °C ±2 sabit tutularak, nem ilk günlerde %85-90 aralığında kademeli olarak %40-45 aralığına kadar düşürülmüş, ışık intensitesi ise ilk günlerde 2000 lüks ile başlayıp 6000 lüxe kadar kademeli olarak arttırılmıştır. Bitkilere bu şartlardaki adaptasyon odasında 14-20 gün boyunca ilk dış koşullara alıştırma işlemleri yapılmıştır (Şekil 3.4.). Daha sonra bitkiler Antalya Fide'ye götürülerek kademeli olarak sera koşullarına alıştırılmıştır. Bitkiler toprağa dikilebilecek kadar pişkinleştirildikten sonra seradaki yerlerine dikilmişlerdir.



Şekil 3.3. Anterlerin kültüre alındığı büyütme odası



Şekil 3.4. *In vitro* bitkiciklerin aklimatizasyonu sırasında ilk dış koşullara alıştırma işleminin yapıldığı adaptasyon odası

3.2.5. İncelenen Deneme Verileri

İlkbahar ve sonbahar denemelerinde farklı genotipler, farklı besin ortamı tiplerinde oluşturulan farklı Mod-C ve Mod-R ortamlarında karşılaştırılmış ve genotiplere ait anterlerin besin ortamlarına verdikleri tepkiler gerek sezon, gerekse ortam tipleri ve gerekse modifiye ortamlar bazında tesadüf parselleri deneme desenine göre araştırılmıştır.

Çalışmanın ilkbahar denemelerinde 3 genotipin her birisi için 3 farklı ortam tipinde 12 ortamda 100'er anter kültüre alınmıştır. Böylece her bir genotip için 3.600 anter olmak üzere ilkbaharda toplam 10.800 anter kültüre alınmıştır.

Sonbahar denemelerinde ise 2 genotipin her birisi için 24 katı ve 12 sıvı anter kültürü ortamında 200'er anter ve bu böylece her bir genotip için 7.200 olmak üzere sonbaharda toplam 14.400 anter kültüre alınmıştır. Bu durumda tüm çalışma boyunca kültüre alınan anter sayısı 25.200 anter olmuştur.

Önce Mod-C ortamlarında kısa bir süre kültüre alındıktan sonra ilkbaharda Mod-R, sonbaharda ise hem Mod-R hemde klasik DDV-R ortamlarına aktarılan anterlerin tepkisi, kallus gelişimleri ve bunlardan elde edilen rejenerantlarla ilgili olarak petrilerde alınan deneme gözlemleri şunlardır:

Gelişen anter yüzdesi (%): Her bir petride kültüre alınan 10 anterden gelişen anter sayısının, kültüre alınan anter sayısına oranlanması ile elde edilmiştir.

Anter Kallusu (%): Her bir petride kültüre alınan 10 anterden; anter yan duvarlarından veya anter omuz başlarından kallus oluşumu gösteren anter sayısının, kültüre alınan toplam anter sayısına oranlanması ile elde edilmiştir.

Embriyo (adet) /100 Anter: Her bir petride kültüre alınan 10 anterden oluşan embriyo sayısının 100 antere oranlanmasıyla hesaplanmıştır.

Bitkicik (adet) /100 Anter: Her bir petride kültüre alınan 10 anterden oluşan bitkicik sayısının 100 antere oranlanmasıyla hesaplanmıştır.

Aklimatize edilen bitki (adet) /100 Anter: Her bir petride kültüre alınan 10 anterden elde edilen sağlıklı aklimatize bitki sayısının 100 antere oranlanmasıyla hesaplanmıştır.

Elde edilen deneme verilerinin varyans analizleri ve interaksyonları SAS istatistik programında yapılmış, genotipler ve uygulamalar arasındaki farklılıkların tespiti için Tukey testi uygulanmıştır.

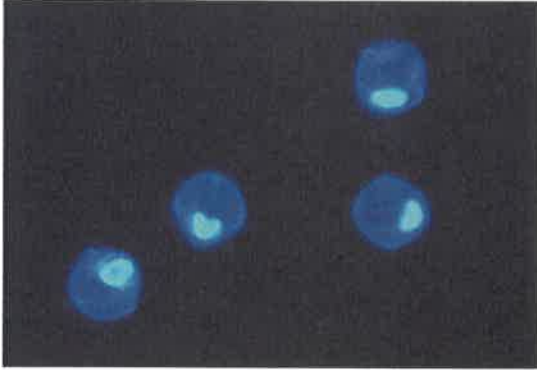
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. DAPI Boyama ile Uygun Mikrospor Safhasının Belirlenmesi

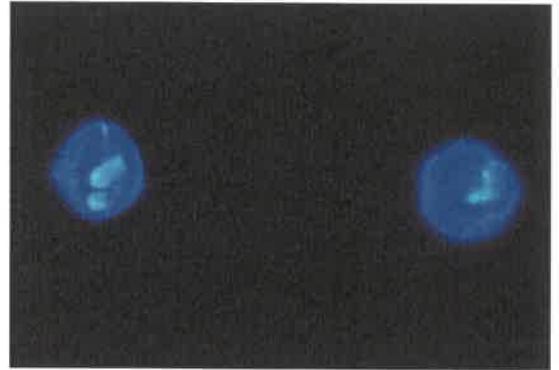
Donör bitki yetiştirme serasındaki A117, Anamur ve Darko genotiplerinden sabah erken saatlerde toplanan tomurcuklar morfolojik olarak 8 gruba ayrılmıştır. Patlıcanda uygun aşama olarak bilinen geç tek çekirdekli ve erken çift çekirdekli aşamanın tespit edilebilmesi için gruplara ayrılan tomurcuklardaki mikrosporların gelişim aşamaları DAPI boyama tekniği ile incelenmiştir. Yapılan çalışmada geç tek çekirdekli ve erken çift çekirdekli mikrospor aşamaları Şekil 4.1.'de görüldüğü gibi belirlenmiştir.



(a)



(b)



(c)

Şekil 4.1. Tez çalışmasında belirlenen uygun anter ve mikrospor evreleri. a) Kültür için uygun mikrosporları içeren anterler; b) DAPI boyama ile belirlenmiş kültür için uygun aşamadaki geç tek çekirdekli mikrosporlar ve; c) erken çift çekirdekli mikrosporlar

Genotiplere göre uygun tomurcuk büyüklüklerinde farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, sıcaklık ve diğer çevre koşulları ile bu uygun aşamaların hızla değişebildiği gözlenmiştir. Bu gözlemlerden yola çıkılarak düzenli aralıklarla uygun tomurcuk aşaması belirleme çalışmalarının tekrarlanması gerektiği düşünülmüştür.

Nitekim çalışmanın ilkbahar döneminde hava sıcaklığının artmasıyla uygun tomurcuk boyutları 1-2 mm daha küçülmüştür. Buna karşılık sonbahar döneminde ise hava sıcaklığının düşmesiyle birlikte tomurcuk olgunlaşması yavaşladığı için uygun tomurcuk boyutları 1-2 mm daha artmıştır. Bu farklılıkların daha hızlı tespit edilebilmesinde, anter renginde meydana gelen değişiklikler de dikkate alınmıştır.

Uygun tomurcuk büyüklüğünün tespiti için birçok bitki türünde yapılan androgenesis çalışmasında (Kasperbauer ve Wilson 1979; Summers vd. 1992; Silva-Lauxen vd. 2003; Segui Simarro ve Nuez 2005; Salas vd. 2012; Parra-Vega vd. 2012) tomurcuk yapısı ve anter uzunluğu arasında bir ilişki olduğu belirtilmiştir. Patlıcanda anter kültürü için uygun aşamada mikrospor içeren tomurcuk büyüklüğünde farklılıklar oluşabileceği ve bu farklılıkların da çeşitlerden, yetiştirme şartlarından ve bitkinin yaşından kaynaklanabileceğini bildirilmiştir (Research Group of Haploid Breeding 1978; Isouard vd. 1979; Chambonnet 1985; Karakullukçu 1991). Bununla birlikte bitki yaşlandıkça tomurcuk içerisindeki mikrosporda asenkronizasyonun / heterojenliğin arttığı (Dunwell ve Perry, 1973), aynı anter içerisinde yer alan mikrosporların gelişim evrelerinin de farklılaştığı ifade edilmiştir (Segui-Simarro ve Nuez 2005; Salas vd. 2012).

Sonuç olarak patlıcanda uygun mikrospor safhasının; bu çalışmada da belirlendiği gibi geç tek çekirdekli ve erken çift çekirdekli evrede bulunan mikrosporların olduğu daha önce yapılan birçok çalışmada belirtilmiştir (Tuberosa ve ark., 1987, Karakullukçu, 1991, Salas ve ark. 2011, Basay ve Ellialtıoğlu 2012). Patlıcandaki uygun tomurcuk morfolojisi ise Karakullukçu (1991)'nin çalışmasında ayrıntılı olarak ifade edilmiştir. Buna göre Karakullukçu (1991), 4 farklı patlıcan çeşidinin tomurcuklarını büyüklükleri yönünden 8 farklı gruba ayırarak morfolojik ve sitolojik yönden incelemiştir. Morfolojik olarak; taç yaprakların seviyesinin, çanak yaprakların birleşme yerinde olduğu ve taç yaprakların 1-2 mm'lik kısmının görülerek, çanak yaprakların hafifçe açıldığı tomurcukların uygun mikrosporları içerdiği tespit edilmiştir. Araştırmacı tomurcuk büyüklüğünün zaman zaman yanlıcı olabileceğini bununla birlikte anter renginin de kullanılabileceğini, 'sarımsı-yeşil renkteki anterlerin erken dönemi, sarı-koyu sarı renkteki anterlerin geç dönemi ve yeşilimsi-sarı anterlerin ise uygun dönemi temsil ettiğini' bildirmiştir.

4.2. In Vitro Anter Kültürlerine Ait Sonuçlar

4.2.1. İlkbahar anter kültürleri

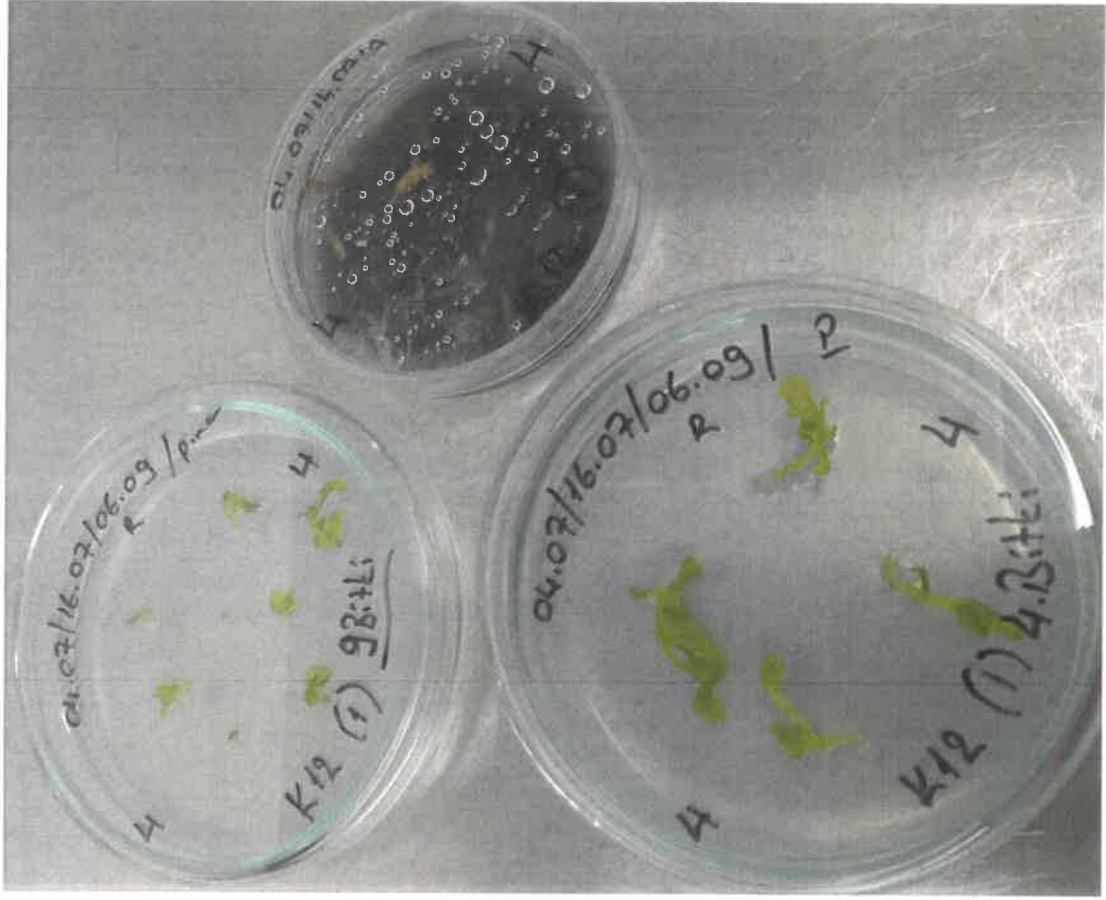
İlkbahar döneminde kurulan denemelerde kullanılan üç F₁ patlıcan çeşidine (A117, Anamur ve Darko) ait anterlerin androgenesis yetenekleri; katı, sıvı ve shed-mikrospor (çift fazlı besin ortamı) olmak üzere üç farklı kültür ortam tipinin her birisinde farklı bileşenlerden oluşan 12 Mod-C ortamında 100'er anter kültüre alınarak karşılaştırılmıştır. Böylece her çeşitten katı, sıvı ve çift fazlı ortam tiplerinin her birisi için 1.200'er adet anter kültüre alınmış olup toplamda 10.800 adet anterin ekimi yapılmıştır. Mod-C ortamlarında (Çizelge 3.4.) 8 gün 35 °C ve karanlık şartlarda bekletilen ve 8. günün sonunda 25 °C ve 16/8 saatlik fotoperiyod koşullarına transfer edilerek orada da 4 gün bekletildikten sonra (böylece petrideki anterler ilk kültüre alındıktan toplam 12 gün sonra) petrilerdeki anterler Mod-R adlı rejenerasyon ortamlarına (Çizelge 3.5.) aktarılmıştır. Anterlerin aktarıldığı rejenerasyon ortamları, anterlerin daha önce kültüre alındıkları Mod-C ortamlarının içeriğine göre dizayn edilmiş olup, klasik DDV-R ortamına aktif kömür ve AgNO₃ in farklı konsantrasyonlarda ilave edilmesiyle oluşturulmuş modifiye rejenerasyon (Mod-R) ortamlarıdır (Çizelge 3.5.). Bu şartlarda

yürütülen ilkbahar dönemi anter kültürleri denemelerinde ilk embriyo oluşumları 35. günden itibaren sukroz içeren ortamlarda görülmeye başlanmıştır (Şekil 4.2.). Maltozlu ortamlardaki embriyo oluşumları ise yaklaşık olarak 45. günden sonra gözlemlenmiştir.



Şekil 4.2. İlkbahar döneminde Anamur genotipinde oluşmaya başlayan embriyolar

Petri içinde oluşan embriyoların sağlıklı gelişim gösterenleri yine petri içinde bitkiciklere dönüşmeye başlamıştır (Şekil 4.3.). Hem petrideki diğer embriyoların hem de mikrospor embriyogenesis potansiyeli olan diğer mikrospor, çok çekirdekli yapı veya proembriyoların embriyoya dönüşebileceği alan oluşturarak, petride daha sağlıklı gelişmelerini sürdürebilmeleri için oluşan bu bitkicikler rejenerasyon ortamı içeren kültür tüplerine aktarılmıştır. Bu ortamda sağlıklı şekilde büyütülen ve dış koşullara aktarılma büyüklüğüne ulaşan bitkicikler daha sonra aklimatize edilerek seraya transfer edilmiştir.



Şekil 4.3. İlkbahar döneminde Darko genotipinde katı 12 nolu ortamda oluşan ve rejenerasyon için BGD içermeyen MS ortamına aktarılan bitkicikler

İlkbahar dönemi anter kültürleri denemelerinde en başarılı sonuçlar katı ortamlardan elde edilmiştir. Sıvı anter kültürlerindeki tepkiler sadece anter gelişimi ve anterden kallus oluşumu yönünde olmuş, sıvı ortamlarda embriyo oluşmamıştır. Shed-mikrospor kültürlerinde çift fazlı besin ortamındaki anterlerde ise incelenen tüm özelliklerden anter gelişimi dahil hiçbirisi yönünden tepki alınamamıştır. Anterlerde ilk kültüre alındıklarından itibaren kararmalar-kahverengileşmeler meydana gelerek anterler canlılıklarını kısa sürede kaybetmiştir. 35 °C'lik inkübatörden 8. günün sonunda çıkartılan çift fazlı besi ortamındaki anterlerin yaşamsal aktivite göstermedikleri görülmüş, fakat herhangi bir oluşumu gözden kaçırmamak amacıyla anterler büyütme odasına alınarak 12. günün sonunda ilgili Mod-R ortamlarına aktarılmıştır. Shed-mikrospor kültür ortamlarında herhangi bir gelişim veya anter canlılığı görülmediği için bu kültür tipi sonbahar döneminde tekrarlanmamıştır.

Patlıcan gibi Solanaceae familyasının diğer bir türü olan biberin Endonezya acı biber tiplerinde (Supena vd 2006a; 2006b; Supena ve Custers, 2011) ve çeşitli süs biberi tiplerinde (Arı vd 2016a; 2016b) söz konusu shed-mikrospor kültürlerinde çok başarılı sonuçlar alınmasına rağmen patlıcanda detaylı şekilde yapılan bu tez çalışmasında anter gelişimi dahil incelenen tüm deneme özellikleri yönünden herhangi bir tepki oluşmamıştır. Benzer bir sonuç patlıcan anter kültürlerinde yaptığı çalışmada çift fazlı aktif kömürlü (%1) besin ortamında, 4 farklı çeşitten toplam 476 anteri kültüre alan ancak

hiçbirinde canlılık göremeyen Karakullukçu (1991) tarafından da bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada anterlerde, tıpkı bu çalışmada olduğu gibi herhangi bir şişme veya gelişim belirtisi görülmemiş ve anterlerin kahverengi-siyah renk alarak yumuşadıkları belirtilmiştir. Bu bilgiler ışığında (%0.1 ile %1 aralığındaki) yüksek konsantrasyondaki aktif karbon kullanımının patlıcan anterlerinin androgenesis kabiliyeti üzerine olumsuz etkide bulunduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, Dias (2003) ile Prem vd (2005) gibi araştırmacılar tarafından izole edilmiş mikrospor kültürlerinde mikrosporları direkt olarak aktif karbonlu, ancak düşük dozlu kullanılan bir ortamda kültüre aldıkları ve mikrospor embriyogenesi üzerinde aktif karbonun oldukça etkili olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle bundan sonra yapılacak shed mikrospor kültürlerinde aktif karbonun katı ortamdan çok, sıvı ortama düşük dozda ilave edilerek kullanılması tavsiye edilebilir.

Bu çalışmadaki sıvı kültür ortamlarını anter canlılıkları yönünden shed-mikrospor kültürleri ile karşılaştırmak gerekirse; sıvı kültürlerdeki anterler shed-mikrospor kültürü ortamlarına göre canlılıklarını daha uzun süre korumuş, özellikle besin ortamı içerisinde maltoz ve $AgNO_3$ bulunanlar uygulamalarda, canlılıklarını deneme sonuna kadar devam ettirmişlerdir. Maltoz içeren besin ortamlarında canlılığın daha uzun süre gözlenmesi sebebiyle sonbahar döneminde maltozun farklı oranlarında kullanılarak sıvı kültürlerle devam edilmesine karar verilmiştir.

Bu nedenlerle ilkbahar dönemi denemelerine ait sonuçların değerlendirilme aşamasında istatistik analizlere shed-mikrospor kültürleri dahil edilmemiştir. İlkbahar dönemi denemelerine ait varyans analizleri ve interaksiyonları; 3 genotipte yapılan katı ve sıvı anter kültürlerinin sonuçlarını kapsayacak şekilde, bu ortamlarda kültüre alınan anterlerin; anter gelişimi (%), anter kallusu (%), 100 anter başına oluşan embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitkilerin ortalama değerleri esas alınarak verilmiştir. İlkbahar dönemi denemelerine ait varyans analizleri ve interaksiyon sonuçları Çizelge 4.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1.'e göre genotipler arasında ortam tipi ve Mod-C ortamlarından bağımsız olarak anterden kallus oluşturma ($p < 0.01$) hariç incelenen diğer özellikler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Anterden kallus oluşturma yönünden Darko genotipi (% 2.1), A117 (% 1.4) ve Anamur (% 1.1)'ye göre daha yüksek performans göstermiştir. Bununla birlikte, istatistiksel yönden önemli olmasa da A117 genotipi anterden kallus oluşturma hariç diğer tüm özellikler yönünden diğer genotiplerden daha yüksek ortalamalar oluşturmuştur.

Ortam tipleri, genotip ve Mod-C ortamlarından bağımsız şekilde, incelenen özelliklerin tümü açısından çok önemli ($p < 0.001$) farklılıklar meydana getirmiştir. Bunlar arasından katı ortam tipi anter gelişimi (% 36.6), anterden kallus oluşturma (% 3.6), embriyo ve (1.7 adet embriyo/100 anter) bitkicik oluşturma (1.3 adet bitkicik/100 anter) ile aklimatize edilen bitki ortalaması (1.3 adet aklimatize bitki/100 anter) yönünden sıvı ortam tipine göre daha başarılı sonuçlar oluşturmuştur. Katı kültür ortamında elde edilen embriyo ve bitkicikler başarılı şekilde aklimatize edilmiş ve seraya dikilen bu bitkiler kendilenerik ıslahta kullanılmak üzere tohumları alınmıştır. Sıvı kültürlerde embriyo ve dolayısıyla bitkicik oluşmamıştır. Sıvı kültürlerde sadece anter gelişimi (% 22.3), ve anterden kallus oluşturma (% 1) yönünden olumlu tepki alınmıştır.

Çizelge 4.1. Patlıcanda ilkbahar döneminde yapılan anter kültürü denemelerine ait varyans analizleri ve interaksyonları

Faktörler	S.D.	İncelenen Özellikler				
		Anter Gelişimi (%)	Anter Kallusu (%)	Embriyo (adet) /100 anter	Bitkicik (adet) /100 anter	Aklimatize Bitki (adet) /100 anter
Varyasyon Kaynağı (P değerleri ve önem seviyeleri belirtilmiştir)						
Genotip (G)	2	0.0716 öd	0.0143 **	0.2370 öd	0.6106 öd	0.6106 öd
Ortam Tipi (OT)	1	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0001 ***
Mod-C Ortamları (CO)	11	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0002 ***	0.0008 ***	0.0008 ***
G*OT	2	0.0001 ***	0.0036 **	0.2370 öd	0.6106 öd	0.6106 öd
G*CO	22	0.2739 öd	0.5255 öd	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0001 ***
OT*CO	11	0.0001 ***	0.0006 ***	0.0002 ***	0.0008 ***	0.0008 ***
G*OT*CO	22	0.0192 *	0.0693 öd	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0001 ***
Varyasyon Katsayısı		% 0.68	% 3.12	% 6.22	% 6.49	% 6.49
Genotip						
A117		21.0	1.4 ab	0.9	0.5	0.5
Anamur		19.0	1.1 b	0.4	0.3	0.3
Darko		18.9	2.1 a	0.5	0.4	0.4
Ortam Tipi						
Katı		36.6 a	3.6 a	1.7 a	1.3 a	1.3 a
Sıvı		22.3 b	1.0 b	0.0 b	0.0 b	0.0 b
Mod-C Ortamları						
1 (Kontrol)		25.1 b	2.3 b	0.1 c	0.1 b	0.1 b
2		25.9 b	1.7 bc	0.7 bc	0.6 ab	0.6 ab
3		24.4 b	2.0 b	0.0 c	0.0 b	0.0 b
4		14.2 c-e	0.3 cd	0.0 c	0.0 b	0.0 b
5		15.2 cd	0.2 cd	2.1 a	1.3 a	1.3 a
6		16.8 c	0.1 d	1.1 a-c	0.7 ab	0.7 ab
7		18.7 c	2.0 b	0.4 c	0.2 b	0.2 b
8		31.3 a	5.0 a	0.4 c	0.6 ab	0.6 ab
9		28.3 ab	4.4 a	0.6 bc	0.2 b	0.2 b
10		9.7 e	0.0 d	0.0 c	0.0 b	0.0 b
11		11.2 de	0.1 d	0.1 c	0.01 b	0.01 b
12		14.9 cd	0.2cd	1.7 ab	1.3 a	1.3 a

Çizelge 4.1.'in devamı arkada

Çizelge 4.1.'in devamı.

Genotip*Ortam Tipi İnteraksiyonları						
A117*Katı		39.4 a	3.5 b	2.6	1.5	1.5
A117*Sıvı		23.5 c	0.8 cd	0.0	0.0	0.0
Ana.*Katı		38.8 a	1.9 c	1.3	9.0	9.0
Ana.*Sıvı		18.3 d	1.3 c	0.0	0.0	0.0
Darko*Katı		31.6 b	5.3 a	1.4	1.3	1.3
Darko*Sıvı		25.2 c	1.0 cd	0.0	0.0	0.0
Genotipler*Mod-C Ortamı İnteraksiyonları (p değeri 0.001 küçük olan interaksiyonlara yer verilmemiştir)						
A117*5		18.0	0.1	3.6 ab	2.0 b	2.0 b
A117*6		22.7	0.3	3.3 ab	2.0 b	2.0 b
A117*7		20.0	3.0	1.3 c-e	0.7 b-d	0.7 b-d
A117*8		29.0	3.3	1.0 c-e	0.7 b-d	0.7 b-d
A117*9		27.0	5.0	1.0 c-e	0.7 b-d	0.7 b-d
Anamur*2		26.0	1.3	2.0 b-d	1.7 bc	1.7 bc
Anamur*5		14.3	0.3	2.7 bc	2.0 b	2.0 b
Anamur*8		30.3	5.3	0.3 de	0.1 d	0.1 d
Anamur*9		27.7	2.6	0.3 de	0.1 d	0.1 d
Darko*1		10.3	4.0	0.3 de	0.3 cd	0.3 cd
Darko*2		25.0	2.3	0.1 e	0.1 d	0.1 d
Darko*8		34.7	6.3	0.1 e	1.0 b-d	1.0 b-d
Darko*9		30.3	5.7	0.3 de	0.1 d	0.1 d
Darko*12		14.3	0.7	5.0 a	4.0 a	4.0 a
Ortam Tipi*Mod-C Ortamı İnteraksiyonları						
Katı*1		58.0 a	7.0 bc	0.3 de	0.3 cd	0.3 cd
Katı*2		58.3 a	4.0 d	2.0 cd	1.7 bc	1.7 bc
Katı*3		54.3 a	5.0 cd	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Katı*4		26.0 cd	0.7 e	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Katı*5		26.3 c	0.7 e	6.3 a	4.0 a	4.0 a
Katı*6		27.0 c	0.3 e	3.3 bc	2.0 b	2.0 b
Katı*7		44.0 b	6.0 cd	1.3 de	0.7 b-d	0.7 b-d
Katı*8		53.3 a	10.0 a	1.3 de	1.7 bc	1.7 bc
Katı*9		43.7 b	8.7 ab	1.7 cde	0.7 b-d	0.7 b-d
Katı*10		12.6 hı	0.3 e	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Katı*11		15.3 g-ı	0.3 e	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Katı*12		20.3 c-g	0.7 e	5.0 ab	4.0 a	4.0 a
Sıvı*1		17.3 f-i	0.1 e	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Sıvı*2		19.3 d-h	1.0 e	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Sıvı*3		19.0 e-h	1.0 e	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Sıvı*4		16.6 f-ı	0.3 e	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Sıvı*5		19.3 d-h	0.1 e	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Sıvı*6		23.3 c-f	0.3 e	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Sıvı*7		12.0 ı	0.1 e	0.0 e	0.0 d	0.0 d

Çizelge 4.1.'in devamı arkada

Çizelge 4.1.'in devamı.

Sıvı*8	40.6 b	5.0 cd	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Sıvı*9	41.3 b	4.7 cd	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Sıvı*10	16.3 g-1	0.1 e	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Sıvı*11	18.3 e-1	0.1 e	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Sıvı*12	24.3 c-e	0.1 e	0.0 e	0.0 d	0.0 d

Genotip* Ortam Tipi*Mod-C Ortamı İnteraksiyonları (Bu üçlü interaksiyonların ortalamaları Çizelge 4.2'de ayrıca verilmiştir)

Mod-C ortamları denemede incelenen tüm parametreler üzerinde, genotip ve ortam tipinden bağımsız olarak, tek başlarına oldukça önemli ($p < 0.001$) farklılıklar oluşturmuştur. Farklı Mod-C ortamlarında oluşan en yüksek parametreler olarak; anter gelişimi (% 31.3) ve anterden kallus oluşturma (% 5) 8. ortamda gerçekleşmiştir. Anter kültürü başarısını doğrudan ortaya koyan özellikler olan 100 anter başına elde edilen embriyo (2.1 ve 1.7 adet) ve bitkicik (1.3 adet) ile aklimatize edilen bitki ortalaması (1.3) yönünden ise 5. ve 12.ortamlar hemen hemen aynı oranda en yüksek olumlu tepkiyi meydana getirmiştir. Bu ortamlardan 5. ortam; 120 g/L sukroz, 5 mg/L 2,4-D ve 5 mg/L kinetin den oluşan klasik DDV ortamına 5 mg/L AgNO₃ ve 1 g/L aktif kömür ilavesiyle oluşturulmuştur. 12. ortam ise 60 g/L maltoz, 5 mg/L 2,4-D, 5 mg/L kinetin, 10 mg/L AgNO₃ ve 1 g/L aktif kömür içerisine sahiptir. Bu iki ortamın bu çalışma ile ortaya konan ortak özellikleri %0.1 lik aktif karbon içerikleri ile etilen inhibitörü olarak da bilinen AgNO₃ ın 5 veya 10 mg/L lik dozlarıdır. Söz konusu iki ortamın birbirinden en belirgin farkı ise 5. ortamda sukroz, 12. ortamda ise maltozun kullanılmış olmasıdır. Ancak bu iki farklı karbonhidrat kaynağına rağmen 5. ve 12. ortamlardan hemen hemen aynı sonuçların alınmış olması, farklı karbonhidrat kaynaklarına hemen hemen aynı konsantrasyonda eklenen aktif karbon ve gümüş nitrat varlığından kaynaklanmış gözükmektedir. Bu iki ortam bileşeninin etkinliği Çizelge 4.1.'de açıkça görülmektedir.

İnteraksiyonlar yönünden ise öncelikle genotip ile ortam tipi arasındaki ikili interaksiyondan bahsedilecektir. Genotip ile ortam tipinin etkileşimi ilkbahar denemelerinde anter gelişimi ($p < 0.001$) ve anterden ($p < 0.01$) kallus oluşturma üzerinde oldukça önemli farklılıklara neden olurken, embriyo ve bitkicik oluşumları ile dolayısıyla aklimatize edilen bitki sayısı ortalamaları üzerinde istatistiki açıdan önemli bir farklılık oluşturmamıştır. Bununla birlikte tüm genotip*ortam tipi interaksiyonlarının embriyo ve bitkicik oluşturma yetenekleri katı ortamda gerçekleşmiştir (Çizelge 4.1).

Genotip ile Mod-C ortamları arasındaki ikili interaksiyon ise gelişen anter sayısı ve anterden kallus geliştiren anter sayısı ortalamaları üzerine önemli bir etkiye bulunmazken, 100 anter başına oluşan embriyo ($p < 0.001$), bitkicik ($p < 0.001$) ve aklimatize edilen bitki ortalaması ($p < 0.001$) bakımından ise istatistiki açıdan çok önemli etkiye neden olmuştur. Bu interaksiyon tipinde 100 anter başına en yüksek embriyo (5 adet) ve bitkicik (4 adet) ortalaması Darko genotipi anterlerinin 12. ortamda kültüre alındığı uygulamadan elde edilmiştir. Aynı genotipin kontrolü olan ve 1.ortam olarak adlandırılan klasik DDV ortamında 100 anter başına elde edilen embriyo ve bitkicik ortalaması ise sırasıyla 0.3 adet ve yine 0.3 adet olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 4.1).

Bir başka ikili interaksiyon olan ortam tipi ile Mod-C ortamları arasındaki etkileşim değerlendirildiğinde; anter gelişimi, anterden kallus oluşturma, 100 anter başına elde edilen embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki ortalaması yönünden çok önemli ($p < 0.001$) farklılıklar tespit edilmiştir. Karakullukçu (1991) besin ortamına yerleştirilen anterlerin gelişimlerinin göstergelerinden birisinin şişme olduğunu bildirmiştir. Çünkü anterler eğer canlılığını kaybetmiyor ve şişerek besin ortamından fayda sağlayabiliyorsa androgenesis yönünden potansiyel taşımadır. Bu interaksiyon tipinde şişerek gelişen anter ortalaması Katı*2, Katı*1, Katı*3 ve Katı*8 numaralı besin ortamlarında sırasıyla % 58.3, 58, 54.3 ve 53.3 olarak bulunmuştur. Anter gelişimi sonuçları incelenirken Sıvı*9 (% 41.3) ve Sıvı*8 (% 40.6) numaralı besin ortamı interaksiyonlarının oranları da dikkat çekici bulunmuştur. Bu besin ortamlarında bulunan anterlerin canlılıklarını koruyarak renklerinin diğerlerine göre daha parlak ve yeşilimsi görüldüğü gözlenmiştir. Anterlerin bazılarında hafif şişme görülmüş olup pensle dokunulduğunda yapılarının sertleştiği görülmüştür. Bu oluşumların sebeplerinin maltoz ve $AgNO_3$ 'ten kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu bulgular göz önüne alınarak, sonbahar dönemi denemelerinde farklı maltoz dozlarına sahip çeşitli sıvı ortam uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Ortam tipi ile Mod-C ortamları arasındaki etkileşimlerde 100 anter başına en yüksek embriyo (6.3 ve 5 adet) ve bitkicik (4 adet) ortalamaları 5 ve 12 nolu katı Mod-C ortamlarında oluşmuştur. Katı ortamların kontrolü olan ve 1.ortam olarak adlandırılan klasik DDV-C ortamındaki embriyo ve bitkicik ortalaması da yine sırasıyla 0.3 adet ve yine 0.3 adet olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1.). 5 ve 12 nolu katı Mod-C ortamlarını hatırlatmak gerekirse; 5.ortam DDV makro ve mikro tuzları + 120 g/L sukroz + 5 mg/L 2,4-D + 5 mg/L kinetin + 5 mg/L $AgNO_3$ + 1 g/L aktif kömürden, 12.ortam ise DDV makro ve mikro tuzları + 60 g/L maltoz + 5 mg/L 2,4-D + 5 mg/L kinetin + 10 mg/L $AgNO_3$ + 1 g/L aktif kömürden oluşturulmuştur (Çizelge 3.4.).

Genotip, ortam tipi ve Mod-C ortamlarından oluşan üç farklı değişkeninin birbirleri ile olan üçlü interaksiyonları ele alındığında ise bu üçlü interaksiyonun; anterden kallus oluşturma özelliği haricinde, anter gelişiminde $p < 0.05$ seviyesinde, 100 anter başına elde edilen embriyo, bitkicik ve aklimatize bitki ortalaması özelliklerinin tümü yönünden ise $p < 0.001$ düzeyinde çok önemli farklılıklara yol açtığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). İlkbahar döneminde yapılan anter kültürü denemeleri üzerinde genotip*ortam tipi*Mod-C ortamı şeklindeki üçlü interaksiyonların her bir gözlem parametresi üzerinde oluşturduğu ortalamalar Çizelge 4.2'de ayrıca verilmiştir.

Çizelge 4.2. İlbahar dönemi anter kültürleri sonuçlarına ait 3'lü interaksiyon (genotip*ortam tipi*C ortamı) ortalamaları

İncelenecek Özellik	C Ortam No	A117		Anamur		Darko	
		Katı Ortam	Sıvı Ortam	Katı Ortam	Sıvı Ortam	Katı Ortam	Sıvı Ortam
Anter Gelişimi (%)	1 (K)	59 a-d	16 u-\	55 b-f	19 s-[60 a-d	17 t-\
	2	58 a-e	22 s-y	68 a	10 z-]	49 d-h	26 p-v
	3	65 ab	25 q-w	54 b-f	11 y-]	44 f-k	21 s-z
	4	25 q-w	26 p-v	28 n-t	14 w-\	25 q-w	10 z-]
	5	35 j-q	19 s-[29 m-s	14 w-\	15 v-\	25 q-w
	6	39 h-n	29 m-s	22 s-y	14 w-\	20 s-[27 o-u
	7	47 e-i	13 x-\	51 d-g	6 \-]	34 k-r	17 t-\
	8	46 f-j	41 g-l	51 d-g	40 g-m	63 a-c	41 g-l
	9	44 f-k	37 ı-p	49 d-h	34 k-r	38 h-o	53 c-f
	10	13 x-\	16 u-\	15 v-\	12 x-\	10 z-]	21 s-z
	11	22 s-y	15 v-\	15 v-\	26 p-v	9 [-]	14 w-\
	12	20 s-[23 r-x	28 n-t	20 s-[13 x-\	30 l-s
Anter Kallusu (%)	1 (K)	7 c-e	0 h	2 f-h	0 h	12 ab	0 h
	2	4 e-h	0 h	4 e-h	0 h	4 e-h	3 e-h
	3	3 e-h	1 gh	3 e-h	0 h	9 b-d	2 f-h
	4	1 gh	1 gh	0 h	0 h	1 gh	0 h
	5	0 h	0 h	1 gh	0 h	1 gh	0 h
	6	0 h	1 gh	0 h	0 h	0 h	0 h
	7	9 b-d	0 h	4 e-h	0 h	5 d-g	0 h
	8	7 c-e	3 e-h	7 c-e	9 b-d	16 a	3 e-h
	9	11 bc	4 e-h	2 f-h	6 d-f	13 ab	4 e-h
	10	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h
	11	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h
	12	0 h	0 h	0 h	0 h	2 f-h	0 h
Embriyo (adet) /100 anter	1 (K)	0 f	0 f	0 f	0 f	1 ef	0 f
	2	0 f	0 f	6 cd	0 f	0 f	0 f
	3	0 f	0 f	0 f	0 f	0 f	0 f
	4	0 f	0 f	0 f	0 f	0 f	0 f
	5	11 b	0 f	8 bc	0 f	0 f	0 f
	6	10 b	0 f	1 ef	0 f	0 f	0 f
	7	4 de	0 f	0 f	0 f	0 f	0 f
	8	3 d-f	0 f	1 ef	0 f	0 f	0 f
	9	3 d-f	0 f	1 ef	0 f	1 ef	0 f
	10	0 f	0 f	0 f	0 f	0 f	0 f
	11	0 f	0 f	0 f	0 f	0 f	0 f
	12	0 f	0 f	1 ef	0 f	15 a	0 f

Çizelge 4.2.'nin devamı arkada

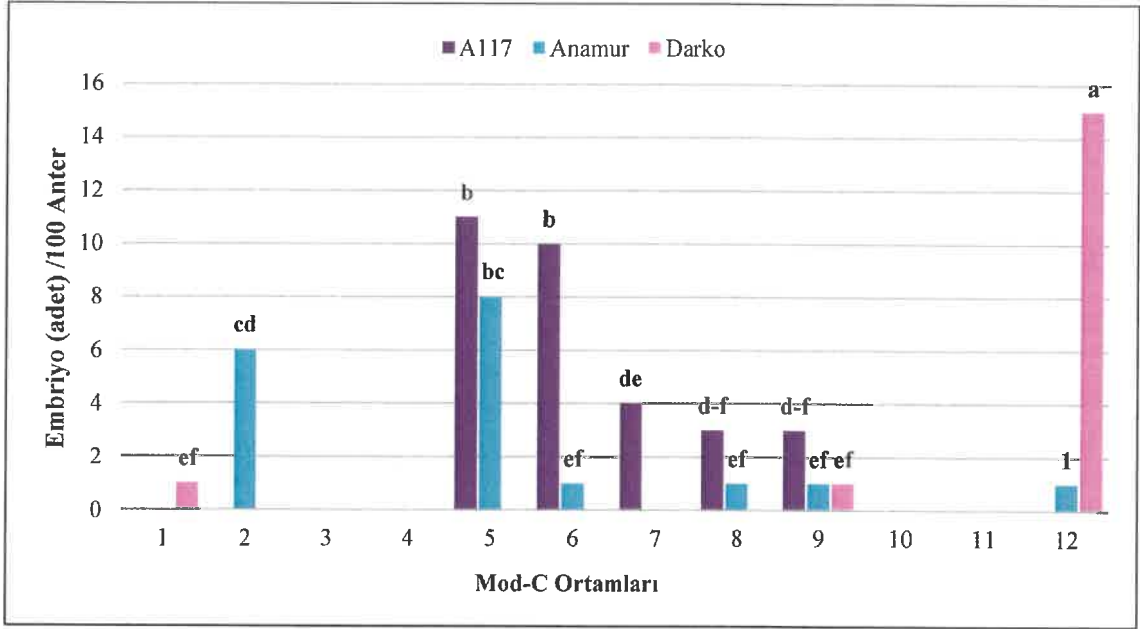
Çizelge 4.2.'nin devamı.

Bitkicik (adet) /100 anter	1 (K)	0 e	0 e	0 e	0 e	1 de	0 e
	2	0 e	0 e	5 bc	0 e	0 e	0 e
	3	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e
	4	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e
	5	6 b	0 e	6 b	0 e	0 e	0 e
	6	6 b	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e
	7	2 de	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e
	8	2 de	0 e	0 e	0 e	3 cd	0 e
	9	2 de	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e
	10	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e
	11	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e
	12	0 e	0 e	0 e	0 e	12 a	0 e
Aklimatize (adet) Bitki /100 anter	1 (K)	0 e	0 e	0 e	0 e	1 de	0 e
	2	0 e	0 e	5 bc	0 e	0 e	0 e
	3	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e
	4	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e
	5	6 b	0 e	6 b	0 e	0 e	0 e
	6	6 b	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e
	7	2 de	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e
	8	2 de	0 e	0 e	0 e	3 cd	0 e
	9	2 de	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e
	10	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e
	11	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e	0 e
	12	0 e	0 e	0 e	0 e	12 a	0 e

Çizelge 4.2.'deki genotip*ortam tipi*Mod-C ortamı şeklindeki üçlü interaksiyonlara göre anter gelişimi yönünden en yüksek başarı (% 68) Anamur F₁ çeşidinin 2 nolu katı ortamda kültüre alınan anterlerinden elde edilmiştir. Bunu katı 3 nolu ortamda kültüre alınan A117 F₁ çeşidi (% 65) ve katı 1 nolu ortamda kültüre alınan Darko F₁ (% 60) çeşidinin anterleri takip etmiştir.

İlkbahar denemelerinde anterden kallus geliştirme özelliği bakımından ise en yüksek başarı (%16, %13 ve %12) Darko F₁ çeşidinde 8, 9 ve kontrol olan 1 nolu katı ortamlarda kültüre alınmış olan anterlerde görülmüştür.

100 anter başına elde edilen en yüksek embriyo ortalaması (15 adet) Darko F₁ çeşidinin 12 nolu katı ortamında kültüre alınan anterlerde gerçekleşmiş olup yine aynı ortamdan 100 anter başına oluşan bitkicik (12 adet) ve aklimatize edilen bitki (12 adet) ortalamaları da başarılı bulunmuştur (Şekil 4.4). İlkbahar denemelerinde sadece katı ortam tipinden embriyo, bitkicik ve aklimatize bitki elde edilmiştir. Katı ortam tipinde 12 farklı Mod-C ortamında kültüre alınan 3 genotipin oluşturdukları 100 anter başına elde edilen embriyo sayısı ortalamaları şekil 4.4.'te verilmiştir.



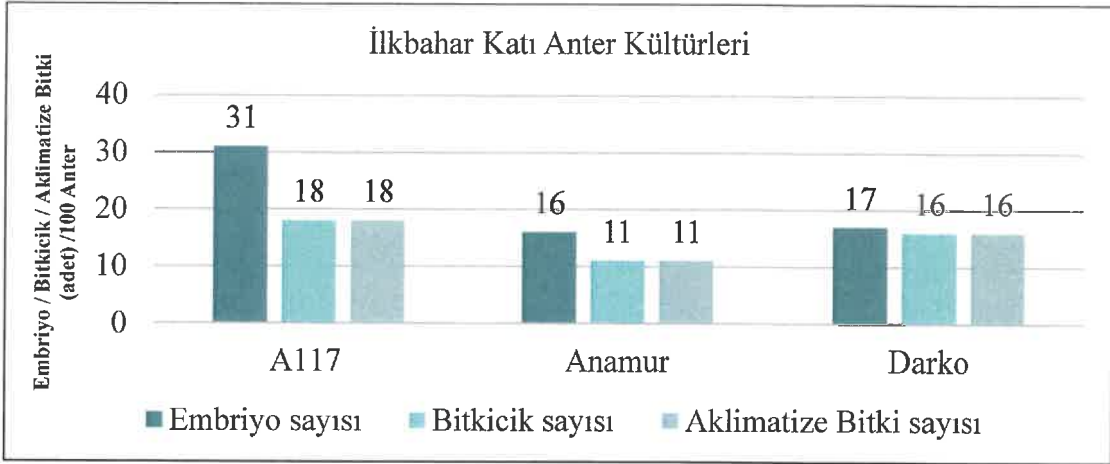
Şekil 4.4. İlkbahar dönemi katı ortam tipinde farklı Modifiye-C ortamlarında kültüre alınan genotiplerin 100 anter başına elde edilen embriyo ortalamaları üzerine etkisi ($p < 0.0001$)

Şekil 4.4. e göre karbonhidrat kaynağı olarak sukrozun kullanıldığı ve 1 nolu besin ortamı olarak numaralandırılan kontrol ortamında 100 anter başına elde edilen embriyo sayısı ortalaması 1 adet olmuştur. 12 nolu besin ortamında ise karbonhidrat kaynağı olarak ilave edilen 60 g/L maltozun ve bunun yanısıra eklenen 10 mg/L $AgNO_3$ ve 1 g/L aktif kömür bileşenlerinin, maltozla birlikte sinerjistik etkide bulunarak embriyo oluşumunu arttırdığı ve sağlıklı bitkiciklerin gelişimini sağlayabildiği düşünülmektedir.

Bunun yanında A117 genotipinin 12 nolu Mod-C ortamında embriyo oluşturmazken, Anamur genotipinin de 100 anter başına 1 adet embriyo gibi düşük bir verim oluşturması ve bu embriyonun bitkiciğe dönüşmemesinin genotip etkisinden kaynaklanmış olabileceği tahmin edilmektedir. Çünkü Darko çeşidi 100 anter başına embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki ortalamasında karbonhidrat kaynağı olarak maltozun kullanıldığı katı 12. ortamda en yüksek (15 adet embriyo/100 anter) ortalamasını verirken, A117 ve Anamur çeşitleri sukrozun kullanıldığı katı 5. ortamda en yüksek ortalamaları (sırasıyla 11 adet embriyo/100 anter ve 8 adet embriyo/100 anter) oluşturmuştur.

İlkbahar döneminde daha önce belirtildiği gibi sadece katı besin ortamlarından embriyo ve bitkicik oluşmuştur. Bu dönemde elde edilen toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları Şekil 4.5. ve Çizelge 4.3.'de belirtilmiştir.

Sonuç olarak ilkbahar deneme sonuçlarında maltozun etkinliği dikkat çekici bulunmuş olmakla birlikte, belirli ortamlara eklenen aktif karbon ve gümüş nitratin özellikle embriyo ve bitkicik oluşumu üzerine sinerjistik olarak pozitif etkiye neden olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle sonbahar denemelerinde maltozun farklı dozlarında da sözü edilen katkı maddelerinin etkisinin araştırılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.5. İlkbahar dönemi katı anter kùltürlerinde elde edilen toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları

Çizelge 4.3. İlkbahar dönemi katı anter kùltürlerinde elde edilen toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları

Genotip	Kùltüre Alınan Anter Sayısı	Elde Edilen Embriyo Sayısı (adet)	Elde Edilen Bitkicik Sayısı (adet)	Elde Edilen Aklimatize Bitki Sayısı (adet)
A117	1.200	31	18	18
Anamur	1.200	16	11	11
Darko	1.200	17	16	16
Toplam	3.600	64	45	45

4.2.2. Sonbahar anter kùltürleri

Sonbahar dönemi anter kùltürleri denemelerinde katı ortamdaki kùltürlerden sıvı ortamdakilere göre daha başarılı sonuçlar alınmıştır. Her iki kùltür tipinden elde edilen sonuçlara aşağıda ayrı ayrı yer verilmiştir.

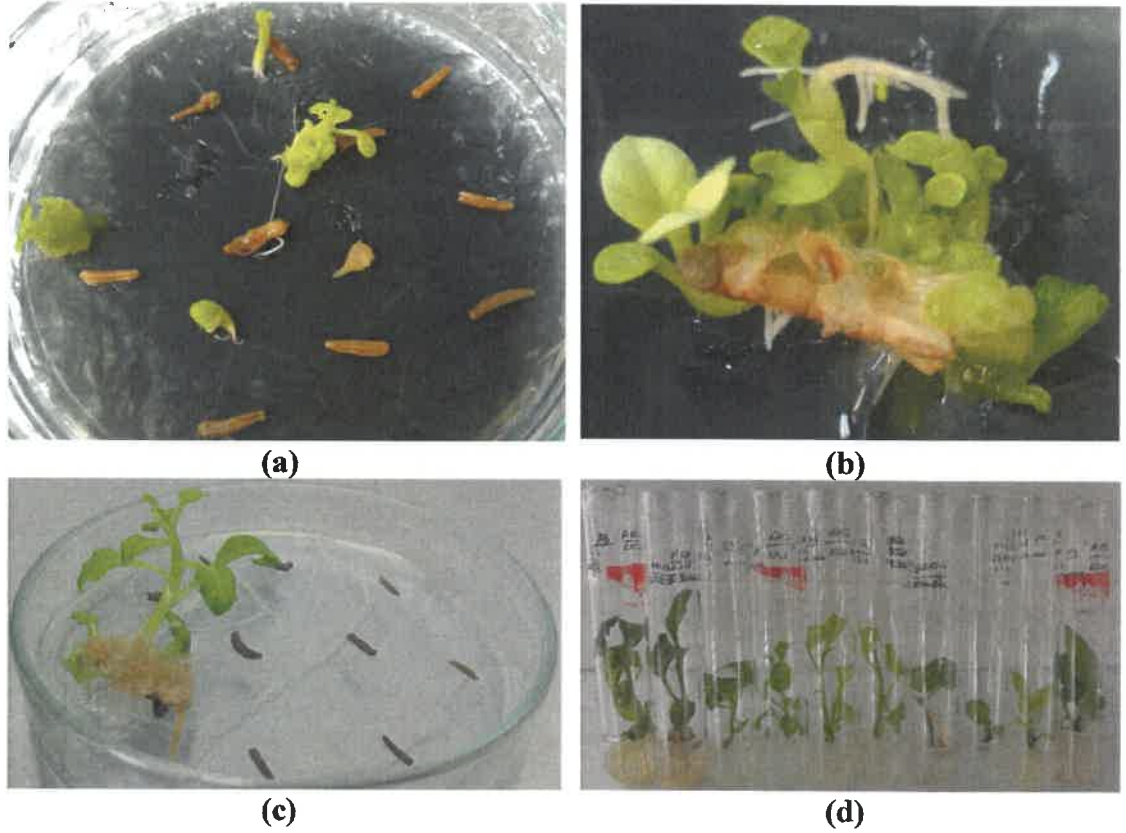
4.2.2.1 Sonbahar katı anter kùltürleri

İlkbahar döneminde genotiplerin hiçbirisinde shed-mikrospor kùltürlerinden anter gelişimi özelliği dahil incelenen özelliklerin hiçbirisinden tepki alınmadığı için bu kùltür tipine sonbahar dönemi çalışmalarında yer verilmemiştir. Ayrıca fide temininde yaşanan sorun nedeniyle ilkbahar döneminde kullanılan Darko genotipi de sonbahar dönemi çalışmalarına dahil edilmemiştir.

Sonbahar dönemi denemelerinde iki F₁ patlıcan çeşidine (A117 ve Anamur) ait anterlerin androgenesis yetenekleri katı ve sıvı olmak üzere iki farklı kùltür ortam tipinin her birisinin içerisinde ayrı ayrı oluşturulan farklı Mod-C (indükleme) ortamları ve iki tip R (rejenerasyon) ortamı kombinasyonları ile karşılaştırılmıştır. Ortam tiplerinden katı

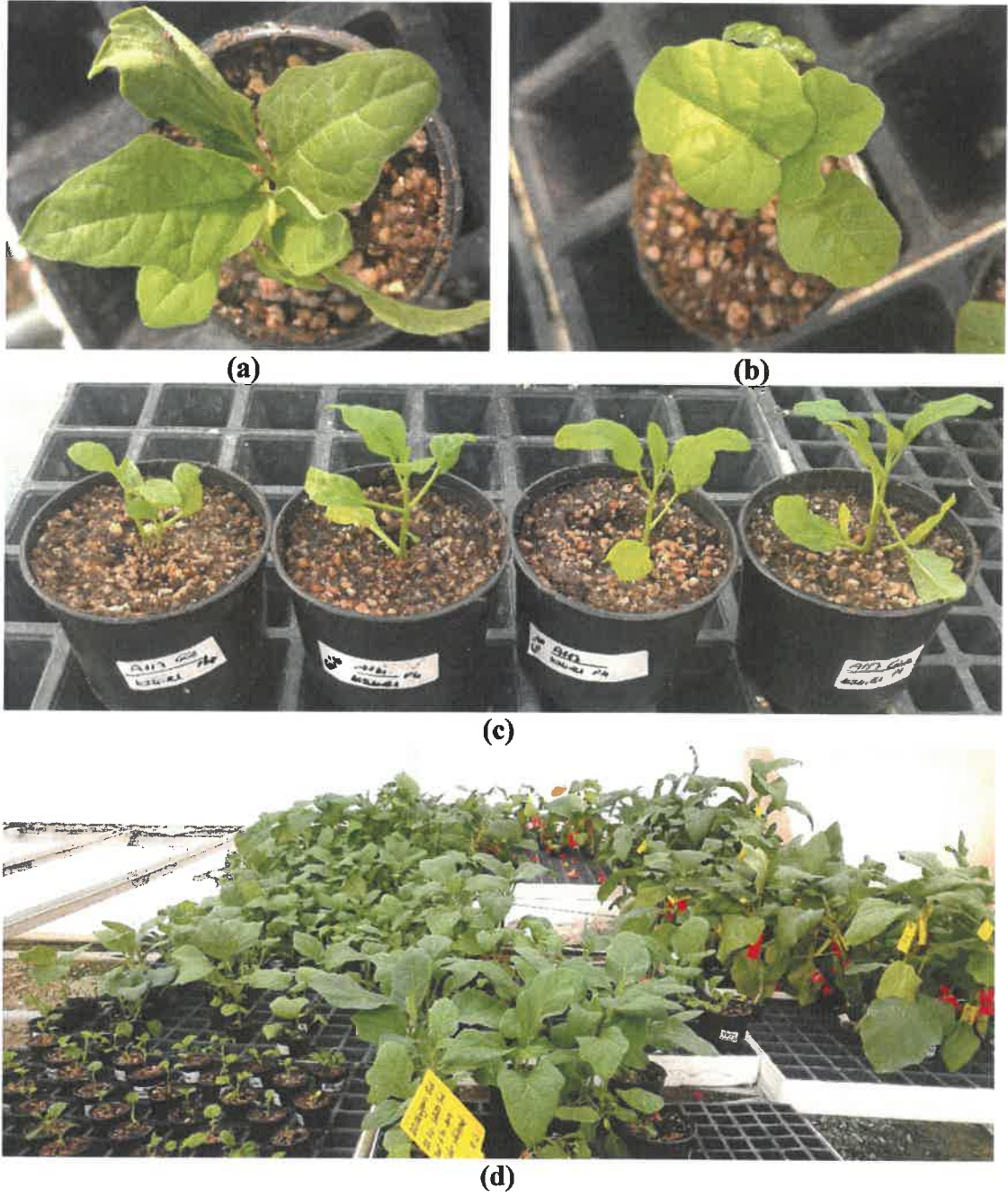
besin ortamında Çizelge 3.6. da belirtilen 24 Mod-C ortamının her birinde 200'er anter, sıvı besin ortamında ise yine Çizelge 3.6. da belirtilen aktif kömür içermeyen 12 Mod-C ortamının her birinde 200'er anter kültüre alınmış olup, böylece toplamda iki patlıcan çeşidi için 14.400 adet anterin ekimi yapılmıştır. Katı ortam tipinde 24, sıvı ortam tipinde 12 uygulama ortamının kullanılmasının nedeni; ilkbahar döneminde aktif karbon ilave edilen sıvı ortamların hiçbirinden olumlu sonuç alınmadığı için sonbahar döneminde sıvı kültürlerde aktif kömürlü uygulamaların çıkartılmış olmasıdır. Mod-C ortamları içerisinde 8 gün 35 °C'de karanlık koşullarda inkübe edilen anterler 8. günün sonunda büyütme odasına alınarak 12. günün sonuna kadar burada 16 saat aydınlık 8 saat karanlık koşullarda bekletilmiştir. 12. günün sonunda, anterlerin 100'er adedi klasik DDV-R ortamına, 100'er adedi ise Çizelge 3.7. de belirtilen farklı Mod-R ortamlarına aktararak; bu ortamların anter gelişimi (%), anter kallusu (%), 100 anter başına elde edilen embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki ortalamaları üzerine etkileri araştırılmıştır.

Bu şartlarda yürütülen sonbahar dönemi anter kültür denemelerinde ilk embriyo oluşumları, tahmin edilenden farklı olarak ilkbahar denemelerinden daha erken şekilde 27. günden itibaren, sukroz içeren ortamlarda, 35. günden itibaren de maltoz içeren ortamlarda görülmeye başlanmıştır. Embriyolardan sağlıklı gelişim göstererek petri içerisinde bitkiciklere dönüşmeye başlayanlar, daha sağlıklı büyüebilmeleri için BGD içermeyen MS besin ortamı içeren kültür tüplerine aktarılmıştır (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6. Sonbahar döneminde oluşan embriyo ve bitkicikler (a-c) ve tüplere aktarılan bitkicikler (d)

Bu ortamda sağlıklı şekilde bitkiciğe dönüştürülen ve dış koşullara aktarılma büyüklüğüne ulaşan bitkicikler aklimatize edilerek seraya transfer edilmiştir (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. Sonbahar döneminde anter kültürlerinden üretilen ve aklimatize edilerek seraya transfer edilen bitkiler: (a, b) aklimatizasyon sonrası seraya aktarılan *ex vitro* rejenere bitkicikler (c) daha büyük saksılara şaşırtılan rejenerantlar ; (d) *in vitro* kökenli bitkilerin seradaki farklı gelişim aşamaları

Sonbahar denemelerine ait varyans analizleri ve interaksyonları; 2 genotipte yapılan katı ve sıvı anter kültürlerinin sonuçlarını kapsayacak şekilde, bu ortamlarda kültüre alınan anterlerin anter gelişimi (%), anter kallusu (%), 100 anter başına oluşan embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitkilerin ortalama değerleri esas alınarak yapılmıştır. Sonbahar dönemi katı anter kültürü denemelerine ait varyans analizleri ve interaksyon sonuçları Çizelge 4.4.'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Patlıcanda sonbahar döneminde katı ortamda yapılan anter kültürü denemelerine ait varyans analizleri ve interaksyonları

Faktörler	S.D.	İncelenen Özellikler				
		Anter Gelişimi (%)	Anter Kallusu (%)	Embriyo /100 anter	Bitkicik /100 anter	Aklimatize Bitki /100 anter
Varyasyon Kaynağı						
Genotip (G) A117-Anamur	1	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0001 ***
Mod-C Ortamları (CO) (1→24)	23	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0001 ***
R Ortamları (RO) (R. Mod-R)	1	0.0001 ***	0.0144 *	0.7252 öd	0.7911 öd	0.7704 öd
G*CO	23	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0001 ***	0.0001 ***
G*RO	1	0.1429 öd	0.8355 öd	0.1626 öd	0.3419 öd	0.4100 öd
RO*CO	23	0.0003 ***	0.0001 ***	0.0832 öd	0.0693 öd	0.0650 öd
G*CO*RO	23	0.0011 **	0.3482 öd	0.1071 öd	0.1376 öd	0.1310 öd
Varyasyon Katsayısı		% 0.56	% 1.30	% 1.99	% 2.49	% 2.51
Genotip (A117 - Anamur)						
A117		32.6 a	7.6 a	55.6 a	26.2 a	23.8 a
Anamur		24.3 b	4.4b	18.2 b	7.0 b	6.1 b

Çizelge 4.4.'ün devamı arkada

Çizelge 4.4.'ün devamı.

Mod-C Ortamları (1→24)						
1 (Kontrol)		60.0 a	8.8 c-e	44.8 c-e	21.0 c-f	18.0 c-f
2		52.3 b	11.5 b-d	17.8 e-1	5.5 fg	5.3 e-g
3		43.3 cd	11.0 c-e	9.0 g-1	1.8 g	1.5 g
4		15.4 hi	1.3 h	10.1 g-1	3.8 fg	2.7 fg
5		19.8 h	2.8 gh	33.8 d-h	17.0 d-g	14.5 d-g
6		29.0 fg	3.0 gh	53.0 cd	29.3 b-d	25.0 b-d
7		38.0 c-e	8.5 c-f	9.3 g-1	0.1 g	0.1 g
8		44.3 cd	9.0 c-e	12.5 f-1	0.1 g	0.1 g
9		34.5 ef	7.8 ef	15.5 e-1	4.0 fg	3.8 e-g
10		3.8 l	0.0 h	1.3 i	1.0 g	1.0 g
11		7.3 kl	0.0 h	10.3 g-1	2.8 g	2.8 fg
12		14.3 h-j	0.3 h	40.8 c-g	24.8 b-e	22.8 cd
13		42.5 cd	11.8 a-c	24.0 d-1	6.0 fg	5.5 e-g
14		35.3 ef	8.8 c-e	28.5 d-1	10.5 e-g	9.5 d-g
15		40.5 cde	10.0 c-e	8.5 hi	1.0 g	1.0 g
16		7.0 kl	0.0 h	12.5 f-1	6.3 fg	5.5 e-g
17		7.8 j-l	0.5 h	27.3 d-1	11.3 d-g	10.0 d-g
18		12.0 i-k	1.3 h	40.0 d-h	21.5 c-f	19.5 c-e
19		44.8 c	14.8 ab	72.5 bc	16.5 d-g	16.3 c-g
20		44.0 cd	15.0 a	95.8 b	35.5 bc	32.5 bc
21		37.5 de	8.3 d-f	44.5 c-f	16.5 d-g	14.5 d-g
22		6.0 kl	1.5 h	12.3 g-1	7.3 e-g	6.3 e-g
23		17.3 hi	2.5 gh	86.0 b	42.8 b	39.8 b
24		27.5 g	5.3 fg	175.8 a	112.8 a	101.0 a
R Ortamları (R, Mod-R)						
R		31.6 a	5.4 b	36.0	16.3	14.6
Mod-R		25.3 b	6.6 a	37.7	17.0	15.3
Genotip (A117, Anamur) x R Ortamları (1-R, 2-Mod-R) İnteraksiyonları						
A117*R		35.0	6.9	58.0	27.1	24.4
A117*Mod-R		30.3	8.3	53.1	25.3	23.1
Anamur*R		28.2	3.8	14.0	5.4	4.8
Ana.*Mod-R		20.4	4.9	22.4	8.6	7.5

Çizelge 4.4.'ün devamı arkada

Çizelge 4.4.'ün devamı.

Genotip (1-A117, 2-Anamur)*Mod-C Ortamları(1→24) İnteraksiyonları									
Anter Gelişimi (%)		Anter Kallusu (%)		Embriyo (adet) /100 anter		Bitkicik (adet) /100 anter		Aklimatize Bitki (adet) /100 anter	
1*1	69.0 a	1*2	18.5 a	1*24	290.0 a	1*24	185.0 a	1*24	169.0 a
1*2	64.5 a	1*19	18.0 a	1*23	151.5 b	1*23	74.0 a	1*23	68.5 b
1*19	60.5 ab	1*15	17.0 ab	1*2	118.0 bc	1*12	49.5 bc	1*12	45.5 bc
1*3	54.5 bc	1*2	15.5 a-c	1*19	114.5 bc	1*2	45.0 cd	1*2	42.5 cd
2*1	51.0 b-d	1*3	14.5 a-d	1*12	81.5 cd	2*24	40.5 c-e	2*24	33.0 c-e
1*13	48.0 c-e	1*13	14.0 a-e	1*1	74.0 c-e	1*1	35.5 c-f	1*6	30.5 c-f
1*15	48.0 c-e	1*14	13.0 b-f	2*20	73.5 c-e	1*6	35.5 c-f	1*1	30.0 c-g
1*7	46.5 c-f	1*1	12.5 b-f	1*21	65.0 d-f	1*18	33.0 c-g	1*18	29.0 c-h
1*8	45.5 c-f	2*2	11.5 c-g	2*24	61.5 d-g	2*2	26.0 c-h	1*19	23.5 c-i
2*2	45.0 c-f	2*19	11.5 c-g	1*18	60.5 d-h	1*21	25.5 c-i	1*21	23.0 c-j
1*2	43.0 d-g	2*21	10.5 d-h	1*6	55.0 d-i	1*19	24.0 c-i	2*2	22.5 c-j
2*8	43.0 d-g	1*24	10.0 d-h	2*6	51.0 d-j	2*6	23.0 d-i	2*6	19.5 d-j
2*21	42.5 d-h	1*8	9.5 e-i	1*14	49.5 d-k	1*14	20.5 d-i	1*14	18.5 e-j
2*2	40.0 e-i	1*9	9.5 e-i	1*17	47.5 d-l	1*17	20.0 d-i	1*17	17.5 e-j
1*6	39.0 e-j	2*13	9.5 e-i	1*13	37.5 d-m	1*5	18.5 e-i	1*5	15.5 e-j
2*9	37.5 f-k	1*7	8.5 f-j	1*5	34.5 e-m	2*5	15.5 e-i	2*5	13.5 e-j
2*13	37.0 f-k	2*7	8.5 f-j	2*5	33.0 e-m	1*16	12.5 f-i	1*16	11.0 e-j
1*14	37.0 f-k	2*8	8.5 f-j	2*19	30.5 e-m	2*23	11.5 f-i	2*23	11.0 e-j
1*24	33.5 g-k	2*2	7.5 g-k	1*16	25.0 f-m	1*22	11.0 f-i	1*13	10.0 e-j
2*14	33.5 g-k	2*3	7.5 g-k	2*21	24.0 f-m	1*13	11.0 f-i	1*22	10.0 e-j
2*15	33.0 h-l	2*9	6.0 h-l	1*2	22.5 f-m	2*18	10.0 f-i	2*18	10.0 e-j
1*21	32.5 i-l	1*21	6.0 h-l	1*9	20.5 f-m	2*19	9.0 g-i	2*19	9.0 f-j
2*3	32.0 i-l	2*1	5.0 i-m	2*23	20.5 f-m	1*2	8.5 g-i	1*2	8.0 f-j
1*9	31.5 i-l	2*14	4.5 j-n	2*18	19.5 f-m	1*9	7.5 g-i	1*9	7.0 g-j
2*7	29.5 j-m	1*23	3.5 k-n	1*11	19.5 f-m	2*21	7.5 g-i	2*1	6.0 h-j
2*19	29.0 k-m	1*6	3.5 k-n	1*22	19.0 g-m	2*1	6.5 h1	2*21	6.0 h-j
1*5	23.5 l-n	2*5	3.0 k-n	1*8	18.0 g-m	1*11	5.5 h1	1*11	5.5 ij
2*24	21.5 mn	2*15	3.0 k-n	2*1	15.5 h-m	2*4	4.6 h1	2*4	3.5 ij
1*4	21.5 mn	1*18	2.5 l-n	2*4	14.2 i-m	2*22	3.5 h1	2*2	2.5 ij
2*23	20.0 m-o	1*5	2.5 l-n	2*15	13.0 i-m	1*4	3.0 h1	2*22	2.5 ij
2*6	19.0 n-p	2*6	2.5 l-n	2*2	13.0 i-m	2*17	2.5 h1	2*17	2.5 ij
1*12	17.0 n-q	2*22	2.0 l-n	2*7	10.5 i-m	2*2	2.5 h1	1*1	2.0 ij
2*5	16.0 n-r	1*4	2.0 l-n	2*9	10.5 i-m	1*1	2.0 h1	1*4	2.0 ij
1*18	15.0 n-r	2*23	1.5 l-n	2*13	10.5 i-m	2*3	2.0 h1	1*3	1.5 ij
1*23	14.5 n-s	1*22	1.0 mn	1*3	9.5 i-m	1*3	1.5 h1	2*15	1.5 ij
2*12	11.5 o-t	2*4	0.5 mn	2*3	8.5 j-m	2*15	1.5 h1	2*3	1.5 ij
1*11	11.0 o-t	2*24	0.5 mn	1*7	8.0 j-m	2*13	1.0 h1	2*13	1.0 ij
2*4	9.3 p-u	2*17	0.5 mn	2*14	7.5 j-m	1*15	0.5 h1	2*14	0.5 ij
2*18	9.0 q-u	2*12	0.5 mn	2*8	7.0 j-m	2*14	0.5 h1	1*15	0.5 ij
2*17	8.0 q-u	1*17	0.5 mn	2*17	7.0 j-m	2*9	0.5 h1	2*9	0.5 ij
1*17	7.5 q-u	2*18	0.01 n	1*4	6.0 j-m	1*8	0.01 i	2*16	0.01 j

Çizelge 4.4.'ün devamı arkada

Çizelge 4.4.'ün devamı.

1*22	7.0 r-u	2*11	0.01 n	2*22	5.5 j-m	1*7	0.01 ı	1*7	0.01 j
1*16	7.0 r-u	2*16	0.01 n	1*15	4.0 k-m	2*8	0.01 ı	1*8	0.01 j
2*16	7.0 r-u	2*1	0.01 n	1*1	2.5 lm	2*12	0.01 ı	2*12	0.01 j
1*1	6.5 r-u	1*11	0.01 n	2*11	1.0 m	2*16	0.01 ı	2*1	0.01 j
2*22	5.0 s-u	1*16	0.01 n	2*1	0.1 m	2*1	0.01 ı	2*11	0.01 j
2*11	3.5 tu	1*1	0.01 n	2*16	0.1 m	2*11	0.01 ı	2*7	0.01 j
2*1	1.0 u	1*12	0.01 n	2*12	0.1 m	2*7	0.01 ı	2*8	0.01 j
R Ortamları (1-R. 2-Mod-R)*Mod-C Ortamları (1→24) İnteraksiyonları									
Anter Gelişimi (%)		Anter Kallusu (%)		Embriyo (adet) /100 anter		Bitkicik (adet) /100 anter		Aklimatize Bitki (adet) /100 anter	
1*1	66.5 a	2*2	21.0 a	2*24	177.0 a	2*24	118.5 a	2*24	105.5 a
1*2	60.0 ab	2*19	20.0 a	1*24	174.5 a	1*24	107.0 a	1*24	96.5 a
2*1	53.5 bc	2*2	14.5 b	1*2	106.5 b	2*23	51.5 b	2*23	48.5 b
1*15	49.5 cd	2*15	13.0 bc	1*19	91.0 bc	1*2	48.0 bc	1*2	43.5 bc
2*8	48.5 cd	2*13	12.5 bc	1*23	88.0 b-d	2*6	41.5 b-d	2*12	37.0 b-d
1*21	47.5 cd	1*21	12.0 bc	2*20	85.0 b-d	2*12	40.0 b-d	2*6	36.5 b-e
1*2	47.0 cd	1*14	11.5 b-d	2*23	84.0 b-d	1*1	37.5 b-e	1*1	33.0 b-f
1*7	45.0 c-e	2*8	11.5 b-d	1*1	79.0 b-e	1*23	34.0 b-f	1*23	31.0 b-g
2*19	45.0 c-e	1*3	11.5 b-d	2*6	77.5 b-e	1*19	29.0 b-g	1*19	28.5 b-h
1*13	44.5 c-e	1*13	11.0 b-e	2*12	64.5 b-f	2*5	29.0 b-g	2*5	24.5 c-ı
1*19	44.5 c-e	2*3	10.5 b-f	2*21	62.5 b-g	1*18	25.0 c-h	1*18	22.0 c-j
2*2	44.5 c-e	2*7	10.0 b-f	2*19	54.0 c-h	2*2	23.0 c-h	2*2	21.5 c-j
1*3	44.0 c-e	1*19	9.5 c-f	2*5	51.5 c-ı	2*14	20.5 d-h	2*14	18.5 d-j
2*3	42.5 d-f	2*1	9.0 c-g	2*14	51.5 c-ı	2*21	20.0 d-h	2*21	17.5 d-j
1*14	42.0 d-f	1*2	9.0 c-g	1*18	43.0 d-j	2*18	18.0 d-h	2*18	17.0 d-j
2*2	41.0 d-g	1*1	8.5 c-h	2*18	37.0 e-j	1*6	17.0 d-h	1*6	13.5 e-j
2*13	40.5 d-h	2*9	8.5 c-h	2*17	35.5 e-j	1*22	13.5 e-h	1*21	11.5 f-j
1*8	40.0 d-h	1*2	8.5 c-h	1*6	28.5 f-j	1*21	13.0 e-h	1*22	11.5 f-j
1*9	36.0 e-ı	1*7	7.0 d-ı	1*13	28.5 f-j	2*17	12.0 e-h	2*17	11.0 f-j
1*6	33.5 f-j	1*15	7.0 d-ı	1*21	26.5 f-j	1*16	11.5 f-h	1*16	10.0 f-j
2*9	33.0 f-j	1*9	7.0 d-ı	1*9	23.5 f-j	1*13	11.0 f-h	1*13	10.0 f-j
2*15	31.5 g-j	1*24	6.5 e-j	1*16	23.0 f-j	1*17	10.5 f-h	1*17	9.0 g-j
2*7	31.0 h-k	1*8	6.5 e-j	1*22	22.5 f-j	1*12	9.5 f-h	1*12	8.5 g-j
2*24	28.5 ı-l	2*14	6.0 f-k	1*2	21.0 f-j	1*9	7.5 gh	1*9	7.0 h-j
2*14	28.5 ı-l	2*21	4.5 g-l	2*13	19.5 f-j	2*4	5.6 gh	1*2	5.5 h-j
2*21	27.5 ı-m	1*6	4.5 g-l	1*17	19.0 f-j	1*2	5.5 gh	2*2	5.0 ij
1*24	26.5 ı-m	2*24	4.0 h-l	2*11	18.0 g-j	2*2	5.5 gh	2*11	5.0 ij
2*6	24.5 j-m	2*23	3.0 ı-l	1*12	17.0 g-j	1*5	5.0 gh	1*5	4.5 ij
1*12	21.5 k-n	2*5	3.0 ı-l	1*5	16.0 h-j	2*11	5.0 gh	2*4	4.5 ij
2*5	20.5 l-n	2*18	2.5 ı-l	1*8	15.5 h-j	2*1	4.5 gh	2*19	4.0 ij
1*18	20.0 l-n	1*5	2.5 ı-l	2*4	15.2 h-j	2*19	4.0 gh	2*1	3.0 ij
2*23	20.0 l-n	1*22	2.0 j-l	2*2	14.5 h-j	1*4	2.0 h	2*1	2.0 ij
1*5	19.0 l-o	1*23	2.0 j-l	1*7	13.0 h-j	2*3	2.0 h	2*3	1.5 ij

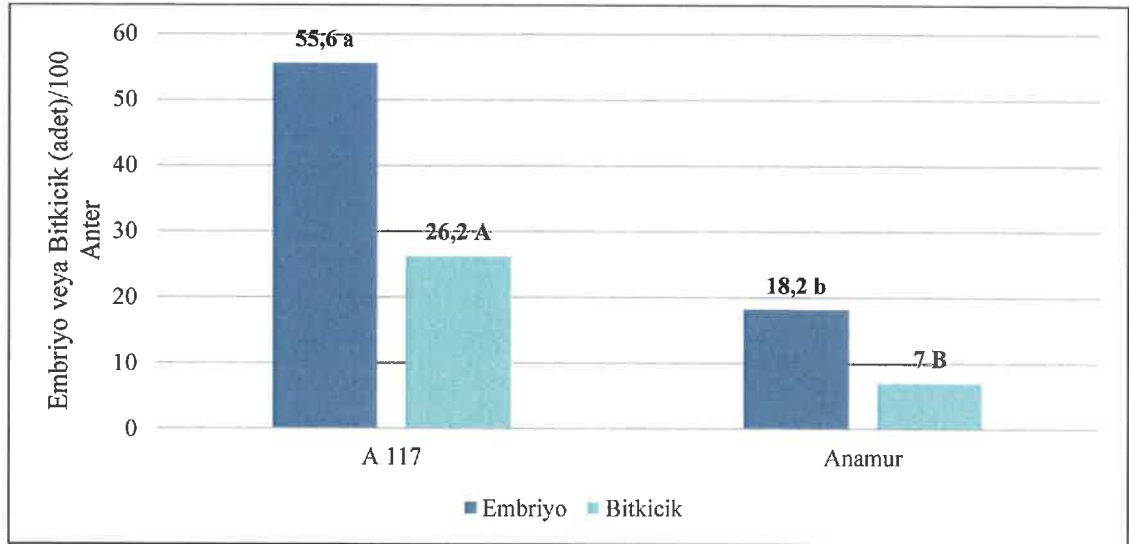
Çizelge 4.4.'ün devamı arkada

Çizelge 4.4.'ün devamı.

1*4	18.5 m-o	2*6	1.5 kl	2*15	12.0 h-j	2*1	2.0 h	1*3	1.5 ij
1*23	14.5 n-p	1*4	1.5 kl	1*3	11.0 h-j	1*3	1.5 h	2*16	1.0 j
2*4	12.3 n-q	2*4	1.0 l	2*1	10.5 h-j	2*22	1.0 h	2*13	1.0 j
1*17	10.0 o-r	2*22	1.0 l	2*8	9.5 h-j	1*15	1.0 h	2*22	1.0 j
1*16	9.5 o-r	2*17	1.0 l	2*9	7.5 ij	2*15	1.0 h	1*15	1.0 j
1*11	8.0 p-r	1*12	0.5 l	2*3	7.0 ij	2*13	1.0 h	2*15	1.0 j
2*12	7.0 p-r	1*18	0.1 l	2*7	5.5 j	2*16	1.0 h	1*4	1.0 j
2*11	6.5 p-r	2*11	0.1 l	1*14	5.5 j	1*14	0.5 h	1*14	0.5 j
1*22	6.0 p-r	2*16	0.1 l	1*15	5.0 j	2*9	0.5 h	2*9	0.5 j
2*22	6.0 p-r	1*17	0.1 l	1*4	5.0 j	1*11	0.5 h	1*11	0.5 j
2*17	5.5 p-r	1*16	0.1 l	2*1	2.5 j	1*8	0.01 h	2*7	0.1 j
1*1	5.5 p-r	1*11	0.1 l	1*11	2.5 j	2*8	0.01 h	2*8	0.1 j
2*16	4.5 qr	2*1	0.1 l	2*22	2.0 j	1*1	0.01 h	1*1	0.1 j
2*18	4.0 qr	2*12	0.1 l	2*16	2.0 j	2*7	0.01 h	1*7	0.1 j
2*1	2.0 r	1*1	0.1 l	1*1	0.1 j	1*7	0.01 h	1*8	0.1 j

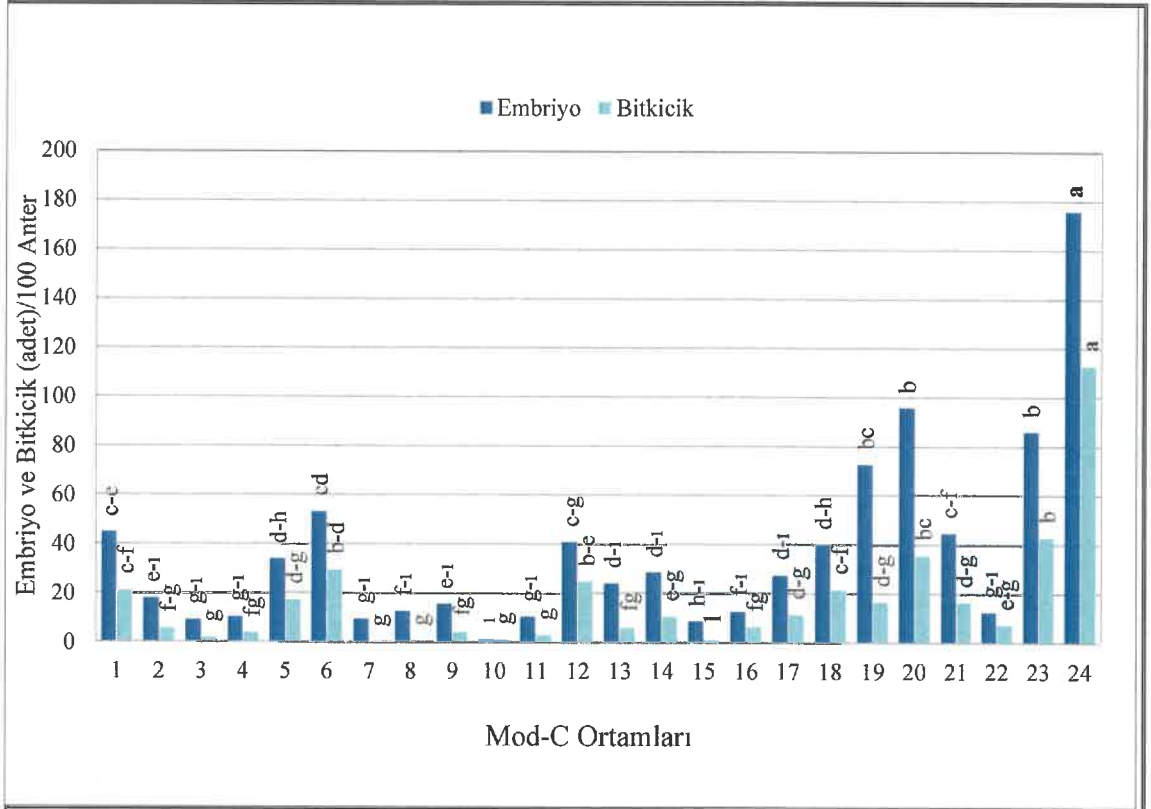
Genotip*Mod-C Ortamı*R Ortamları İnteraksiyonları (Bu interaksiyonların ortalamaları Çizelge 4.5.'de ayrıca verilmiştir)

Çizelge 4.4.'e göre genotipler arasında, Mod-C ve R ortamlarından bağımsız olarak, incelenen tüm özellikler açısından istatistiksel olarak çok anlamlı ($p < 0.001$) farklılıklar bulunmuş ve tüm özellikler açısından A117 genotipi daha başarılı sonuçlar ortaya koymuştur. A117 genotipinde özellikle 100 anter başına elde edilen embriyo (55.6 adet embriyo/100 anter) ve bitkicik (26.2 adet bitkicik/100 anter) verimleri, Anamur genotipinin embriyo (18.2 adet embriyo/100 anter) ve bitkicik (7 adet bitkicik/100 anter) verimlerinden daha yüksek olmuştur (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. Sonbahar dönemi katı anter kültürlerinde genotiplerin 100 anter başına elde edilen embriyo ve bitkicik sayısı ortalamaları üzerine etkisi ($P < ,0001$)

Mod-C ortamlarının incelenen özelliklerin tümü üzerinde genotip ve R ortamlarından bağımsız olarak, çok önemli ($p < 0.001$) istatistiksel farklılıklar oluşturduğu tespit edilmiştir. Bunlar arasından kontrol olan 1. ortam anter gelişimi (% 60), 20.ortam anter kallusu (% 15), 24.ortam ise 100 anter başına elde edilen embriyo (175.8 adet embriyo/100 anter), bitkicik (112.8 adet bitkicik/100 anter) ve aklimatize edilen bitki (101 adet aklimatize bitki/100 anter) ortalaması yönünden en başarılı Mod-C ortamları olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4.) (Şekil 4.9.). Katı kültür ortamlarında elde edilen embriyo ve bitkicikler başarılı şekilde aklimatize edilerek (Çizelge 4.4.) seraya aktarılmış ve seraya dikilen bu bitkiler kendilenererek tohumları ıslah programlarında kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir.

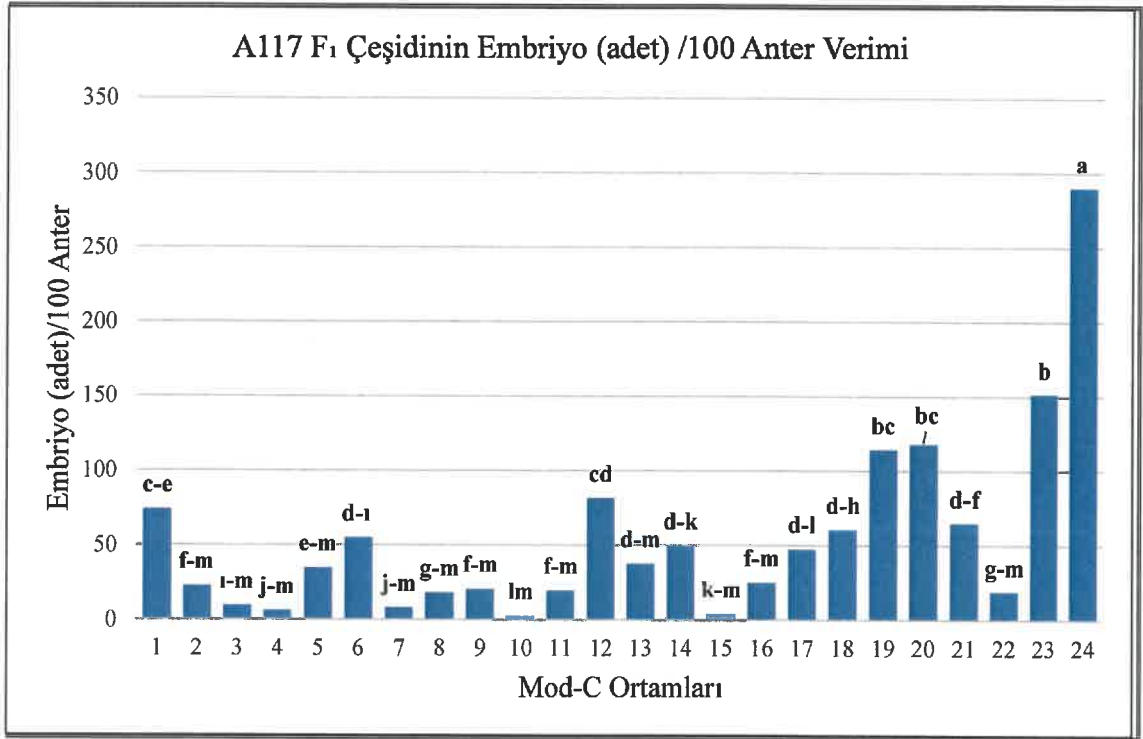


Şekil 4.9. Sonbahar dönemi katı anter kültürlerinde Mod-C ortamlarında kültüre alınan anterlerin 100 anter başına ürettikleri embriyo ve bitkicik ortalamaları ($P < .0001$)

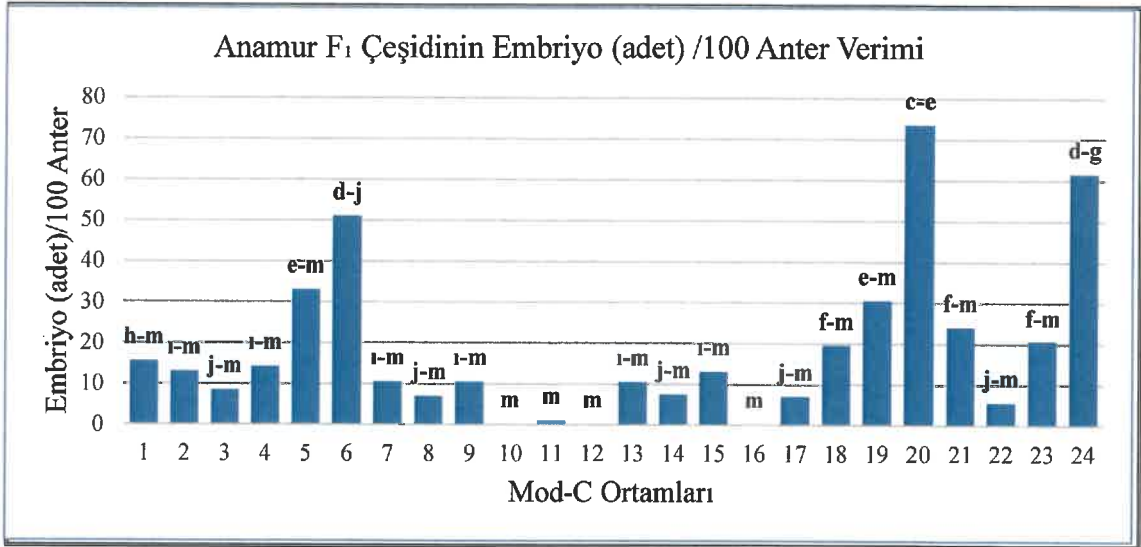
R ortamları incelenen özelliklerden genotip ve Mod-C ortamlarından bağımsız şekilde, sadece anter gelişimi ($p < 0.001$) ve anter kallusu ($p < 0.05$) yönünden önemli farklılık oluşturmuştur. Bunlardan klasik DDV-R ortamı olan ve R olarak ifade edilen rejenerasyon ortamı (% 31.6) anter gelişimi yönünden Modifiye R ortamlarından (% 25.3) daha başarılı bulunmuştur. Anterden kallus oluşumu yönünden ise Modifiye R ortamları (% 6.6), klasik R ortamından (% 5.4) nispeten daha yüksek sonuç vermiştir (Çizelge 4.4.).

İkili interaksiyonlar yönünden ise öncelikle genotip ile Mod-C ortamları arasındaki interaksiyondan bahsedilecektir. Genotip ile Mod-C ortamlarının etkileşimi incelenen özelliklerin tümü üzerinde istatistik açıdan çok önemli ($p < 0.001$) etkilere neden olmuştur. Anter gelişimi yönünden A117*1.ortam (% 69) ile A117*2.ortam (%

64.5), anter kallusu yönünden A117*2.ortam (% 18.5) ile A117*19.ortam (% 18), 100 anter başına elde edilen embriyo yönünden A117*24.ortam (290 adet embriyo/100 anter) ve A117*23.ortam (151.5 adet embriyo/100 anter), bitkicik yönünden A117*24.ortam (185 adet bitkicik/100 anter) ve A117*23.ortam (74 adet bitkicik/100 anter), aklimatize edilen bitki yönünden yine A117*24.ortam (169 adet aklimatize bitki/100 anter) ve A117*23.ortam (68.5 adet aklimatize bitki/100 anter) en başarılı genotip*Mod-C ortam kombinasyonları olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4.) A117 ve Anamur genotiplerinin Mod-C ortamları ile etkileşimlerinin 100 anter başına elde edilen embriyo verimi üzerine etkileri tek grafiğe sığmadığı için ayrı ayrı Şekil 4.10. ve Şekil 4.11. de belirtilmiştir.



Şekil 4.10. Sonbahar dönemi katı anter kültürlerinde A117 F₁ çeşidinin Mod-C ortamları ile etkileşimlerinin 100 anter başına elde edilen embriyo verimi üzerine etkileri ($p < .0001$)



Şekil 4.11. Sonbahar dönemi katı anter kültürlerinde Anamur çeşidinin Mod-C ortamları ile etkileşimlerinin 100 anter başına elde edilen embriyo verimi üzerine etkileri ($p < .0001$)

Genotip*R ortamları interaksiyonları denemede incelenen özelliklerin hiçbirisi üzerinde önemli farklılığa neden olmamıştır (Çizelge 4.4.).

Bir başka ikili interaksiyon tipi olan R ortamları ile Mod-C ortamları arasındaki etkileşimler incelendiğinde; bu etkileşimler embriyo ve bitkicik oluşumu ile aklimatize edilen bitki özellikleri üzerinde önemli bir farklılık oluşturmamıştır. Buna karşılık anter gelişimi ve anter kallusu özellikleri yönünden çok önemli ($p < 0.001$) farklılıklar tespit edilmiştir. Bunlardan klasik DDV-R ortamı R*1.ortam kombinasyonu anter gelişimi (% 66.5) ve Mod-R*2.ortam interaksiyonu ise anter kallusu (% 21) oluşturma yönünden en yüksek ortalamaların oluşmasını sağlamıştır.

Genotip, Mod-C ortamı ve rejenerasyon (R) ortamlarından oluşan üç farklı değişkeninin birbirleri ile olan interaksiyonları incelendiğinde ise bu üçlü interaksiyonun; anter gelişimi ($p < 0.01$) özelliği haricinde, incelenen diğer özelliklerin hiçbirisi üzerinde önemli bir farklılık oluşturmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1). İstatistiki anlamda önemli olmamakla birlikte sonbahar döneminde yapılan anter kültürü denemeleri üzerinde genotip*Mod-C*Rejenerasyon (R) ortamı şeklindeki üçlü interaksiyonların her bir gözlem parametresi üzerinde oluşturduğu ortalamalar Çizelge 4.5’de ayrıca verilmiştir.

Çizelge 4.5’e göre anter gelişimi yönünden A117*1.ortam (kontrol Mod-C ortamı)*R ortamı (kontrol klasik R ortamı) (% 78), anter kallusu yönünden A117*Mod-20C ortamı*Mod-20R ortamı (% 26), 100 anter başına elde edilen embriyo yönünden A117*Mod-24C ortamı*R ortamı (320 adet embriyo/100 anter) ile A117*Mod-24C ortamı*Mod-24R ortamı (290 adet embriyo/100 anter), bitkicik yönünden A117*Mod-24C ortamı* klasik R ortamı (200 adet bitkicik/100 anter) ile A117*Mod-24C ortamı*Mod-24R ortamı (170 adet bitkicik/100 anter), aklimatize edilen bitki yönünden yine A117*Mod-24C ortamı* klasik R ortamı (182 adet aklimatize bitki/100 anter) ile A11*Mod-24C ortamı*Mod-24R ortamı (156 adet aklimatize bitki /100 anter) en başarılı genotip*Mod-C ortam kombinasyonları olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. Sonbahar döneminde iki genotiple yapılan katı anter kültürleri sonuçlarına ait 3'lü interaksiyon (genotip*Mod-C ortamı*R ortamları) ortalamaları

Genotip	Mod. C Ort. No*	İncelenen Özellik									
		Anter Gelişimi (%)		Anter Kallusu (%)		Embriyo (adet) /100 anter		Bitkicik (adet) /100 anter		Aklimatize Bitki (adet) /100 anter	
		R	Mod-R	R	Mod-R	R	Mod-R	R	Mod-R	R	Mod-R
All17	1 (K)	78 a	60 b-e	14 c-g	11 e-j	134 bc	14 l-m	63 b-e	8 ı-m	55 b-e	5 k-l
	2	67 ab	62 bc	11 e-j	20 a-c	30 ı-m	15 l-m	10 ı-m	7 j-m	10 ı-l	6 k-l
	3	54 b-ı	55 b-h	17 b-e	12 d-ı	11 l-m	08 l-m	2 m	1 m	2 ı	1 ı
	4	23 t-ı	20 v-ı	2 m-o	2 m-o	8 l-m	4 m	3 l-m	3 l-m	2 ı	2 ı
	5	26 r-ı	21 u-^	2 m-o	3 l-o	25 j-m	44 f-m	9 ı-m	28 e-m	8 j-l	23 e-l
	6	40 j-q	38 k-s	6 ı-o	1 no	27 j-m	83 c-k	14 h-m	57 b-f	9 ı-l	52 b-f
	7	47 e-l	46 f-m	5 j-o	12 d-ı	12 l-m	4 m	1 m	1 m	1 ı	1 ı
	8	31 n-w	60 b-e	5 j-o	14 c-g	24 j-m	12 l-m	1 m	1 m	1 ı	1 ı
	9	33 m-v	30 o-x	9 g-l	10 f-k	37 f-m	4 m	15 g-m	1 m	14 h-l	1 ı
	10	9 ^-d	4 a-d	0 o	0 o	1 m	5 m	1 m	4 l-m	1 ı	4 ı
	11	9 ^-d	13 [-d	0 o	0 o	5 m	34 h-m	1 m	10 ı-m	1 ı	10 ı-l
	12	20 v-ı	14 z-c	0 o	0 o	34 h-m	129 bc	19 g-m	80 bc	17 g-l	74 bc
	13	55 b-h	41 ı-p	16 b-f	12 d-ı	55 e-m	20 k-m	22 f-m	1 m	20 f-l	1 ı
	14	45 f-m	29 p-y	17 b-e	9 g-l	1 m	99 c-g	1 m	41 d-k	1 ı	37 d-k
	15	58 b-f	38 k-s	13 d-h	21 ab	7 m	1 m	1 m	1 m	1 ı	1 ı
	16	9 ^-d	5 ^-d	0 o	0 o	46 f-m	4 m	23 f-m	2 m	20 f-l	2 ı
	17	10]-d	5 ^-d	0 o	1 no	38 f-m	57 e-m	20 g-m	20 g-m	17 g-l	18 g-l
	18	28 p-y	2 cd	0 o	5 j-o	86 c-j	35 g-m	50 b-h	16 g-m	44 c-h	14 h-l
	19	61 b-d	60 b-e	14 c-g	22 ab	133 bc	96 c-h	42 d-j	6 j-m	41 d-ı	6 k-l
	20	48 d-k	38 k-s	11 e-j	26 a	113 b-e	123 b-d	51 b-g	39 d-l	48 b-g	37 d-k
	21	38 k-s	27 q-z	8 g-m	4 k-o	44 f-m	86 c-j	24 f-m	27 e-m	21 f-l	25 d-l
	22	5 ^-d	9 ^-d	1 no	1 no	34 h-m	4 m	20 g-m	2 m	18 g-l	2 ı
	23	11]-d	18 w-^	3 l-o	4 k-o	170 b	133 bc	63 b-e	85 b	57 b-d	80 b
	24	36 k-t	31 n-w	12 d-ı	8 g-m	320 a	260 a	200 a	170 a	182 a	156 a
Anamur	1 (K)	55 b-h	47 e-l	3 l-o	7	24 j-m	7 m	12 ı-m	1 m	11 ı-l	1 ı
	2	53 c-j	27 q-z	6 ı-o	9 g-l	12 lm	14 lm	1 m	4 lm	1 ı	4 ı
	3	34 l-u	30 o-x	6 ı-o	9 g-l	11 lm	6 m	1 m	3 lm	1 ı	2 ı
	4	14 z-c	4 a-d	1 no	1 no	2 m	26 j-m	1 m	8 ı-m	1 ı	7 j-l
	5	12 \-d	20 v-ı	3 l-o	3 l-o	7 m	59 d-m	1 m	30 e-m	1 ı	26 d-l
	6	27 q-z	11]-d	3 l-o	2 m-o	30 ı-m	72 c-l	20 g-m	26 f-m	18 g-l	21 f-l
	7	43 h-o	16 y-b	9 g-l	8 g-m	14 lm	7 m	1 m	0 m	1 ı	0 ı
	8	49 c-k	37 k-s	8 g-m	9 g-l	7 m	7 m	0 m	0 m	0 ı	0 ı
	9	39 k-r	36 k-t	5 j-o	7 h-n	10 lm	11 lm	0 m	1 m	0 ı	1 ı
	10	2 cd	0 d	0 o	0 o	0 m	0 m	0 m	0 m	0 ı	0 ı
	11	7 _-d	0 d	0 o	0 o	0 m	2 m	0 m	0 m	0 ı	0 ı
	12	23 t-ı	0 d	1 no	0 o	0 m	0 m	0 m	0 m	0 ı	0 ı
	13	34 l-u	40 j-q	6 ı-o	13 d-h	2 m	19 k-m	0 m	2 m	0 ı	2 ı
	14	39 k-r	28 p-y	6 ı-o	3 l-o	11 lm	4 m	1 m	0 m	1 ı	0 ı
	15	41 ı-p	25 s-\	1 no	5 j-o	3 m	23 j-m	2 m	1 m	2 ı	1 ı
	16	10]-d	4 a-d	0 o	0 o	0 m	0 m	0 m	0 m	0 ı	0 ı
	17	10]-d	6 ^-d	0 o	1 no	1 m	14 lm	1 m	4 lm	1 ı	4 ı
	18	12 \-d	6 ^-d	0 o	0 o	0 m	39 f-m	0 m	20 g-m	0 ı	20 f-l
	19	28 p-y	30 o-x	5 j-o	18 b-d	49 e-m	12 lm	16 g-m	2 m	16 g-l	2 ı
	20	46 f-m	44 g-n	7 h-n	16 b-f	100 c-f	47 f-m	45 c-ı	7 j-m	39 d-j	6 k-l
	21	57 b-g	28 p-y	16 b-f	5 j-o	9 lm	39 f-m	2 m	13 ı-m	2 ı	10 ı-l
	22	7 _-d	3 b-d	3 l-o	1 no	11 lm	0 m	7 j-m	0 m	5 kl	0 ı
	23	18 w-^	22 u-^	1 no	2 m-o	6 m	35 g-m	5 k-m	18 g-m	5 kl	17 g-l
	24	17 x-a	26 r-ı	1 no	0 o	29 j-m	94 c-ı	14 h-m	67 b-d	11 ı-l	55 b-e

*Her bir genotip için her bir Mod-C ortamında 200'er anter kültüre alınmış, daha sonra bunların 100 adedi R, 100 adedi de Mod-R ortamına transfer edilmiştir.

Androgenesis için anter gelişimi, anter canlılığı ile olan bağlantısı nedeniyle önemli olmakla birlikte yapılan bu çalışmada, herhangi bir ortamdaki anter gelişiminin yüksek olmasının, o ortamın oluşturacağı embriyo ve bitkicik verimi ile doğrudan bağlantılı olmadığı ortaya konulmuştur. Çünkü bazen kahverengi-siyaha dönen anterler için fenotipik olarak canlı olmadıkları söylenebilecek olmasına rağmen bu anterlerden de embriyo ve bitkicik oluştuğu gözlemlenmiştir. Çizelge 4.5'e göre bu çalışmada kontrol grubunda anter gelişimi en yüksek oranda görülmesine rağmen, elde edilen en yüksek embriyo ve bitkicik oluşumuna bakıldığında, 24 nolu besin ortamının kontrol ortamından çok daha başarılı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.5). İstatistiki analizlere bakıldığında anter gelişimi açısından 24 numaralı besin ortamının çok başarılı olmadığı halde, en fazla embriyo ve bitkicik oluşturabilme yeteneğine sahip olması bunun bir kanıtıdır. Bu nedenle asıl üzerinde durulması gereken konunun, genotipler bazında embriyo oluşumunu teşvik ederek sağlıklı embriyo ve bitki oluşumlarını arttıracak ortamların geliştirilmesi olduğu düşünülmektedir. Çünkü son yıllardaki androgenesis çalışmalarında çeşitli genotiplerde yüksek oranlarda embriyolar elde edilebilmesine rağmen, oluşan embriyoların kalitesinin düşük olması, anormal embriyoların yüksek oluşumları ve bitkiye dönüştürülmesinde yaşanan sıkıntılar nedeniyle, bu embriyoların sağlıklı şekilde bitkiye dönüştürülmesine yönelik çözümler aranmaktadır. Dolayısıyla androgenesis çalışmaları için indüksiyon ortamları kadar rejenerasyon ortamlarının da optimize edilmesi gerekmektedir.

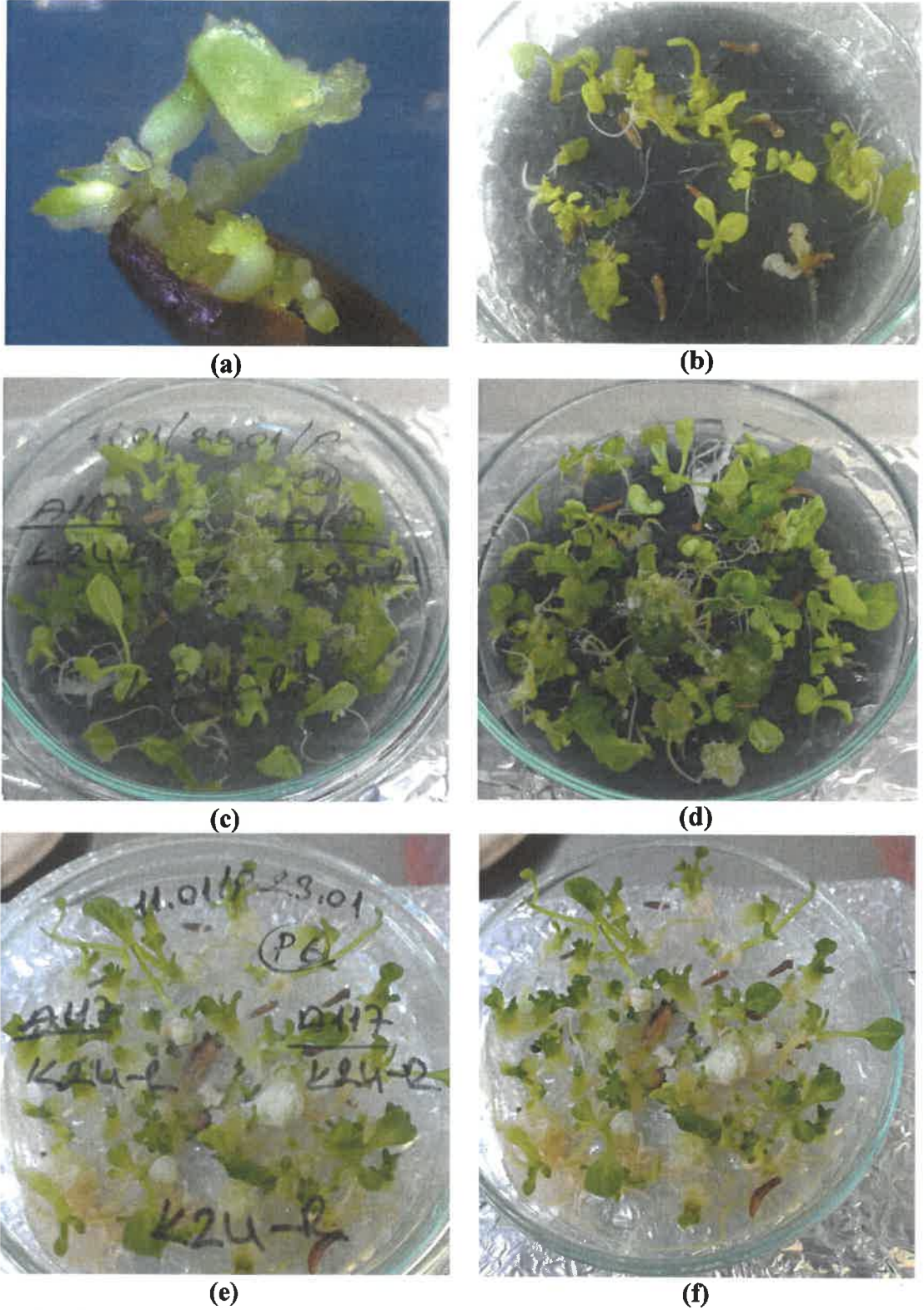
Öte yandan, patlıcan anter kültürü çalışmalarında filamentten kallus zaten istenmediği gibi anterden kallus gelişimi de mümkünse istenmez ve direkt embriyogenesis tercih edilir. Bu çalışmada verilen anter gelişimi ve anter kallusu gözlem sonuçları, kullanılan Mod-C ve R ortamlarının etkilerini ortaya koymak açısından önemlidir. Ayrıca patlıcanda yapılan izole edilmiş mikrospor kültürü çalışmalarında şimdiye kadar henüz direkt yolla embriyogenesis elde edilememiştir. Bu çalışmalarda DH patlıcan bitkilerini elde edebilmek için ilk etapta kallogenesis ve ardından organogenesis ile rejenera bitkiler geliştirilmeye çalışılmaktadır (Rivas-Sendra vd 2015). Bu nedenle bu tez çalışmasında belirlenen en yüksek anter kallusu oluşturan ortam bileşenleri, patlıcanda yapılabilecek izole edilmiş mikrospor kültürleri için embriyojenik anter kallusu elde etme konusunda yol gösterici olabilir.

Çizelge 4.5. de verilen Genotip*Mod-C*R ortamları üçlü interaksiyonları Çizelge 4.4'deki varyans analizlerine göre anter gelişimi haricindeki özelliklerin hiçbirisi üzerinde önemli farklılıklara neden olmamıştır. Ancak yine varyans analizlerine göre Genotip*Mod-C ortamlarından oluşan ikili interaksiyonların etkisi incelenen tüm özellikler üzerinde $p < ,0001$ düzeyinde önemli farklılıklar oluşturmuştur. Bu ikili interaksiyonlarda 100 anter başına en yüksek embriyo, bitkicik ve aklimatize bitki verimleri daha önce belirtildiği gibi A117*Mod-24C ve A117*Mod-23C interaksiyonlarından elde edilmiştir. 23 ve 24 numaralı Mod-C besin ortamlarının içeriğinde 90 g/L Maltoz, 5 veya 10 mg/L AgNO₃ ve 1 g/L aktif kömür yer almaktadır (Çizelge 3.6.). Ortam içeriklerinin bulunduğu Çizelge 3.6. da göz önüne alındığında, maltoz oranı arttıkça embriyo ve bitkicik verimi de artmaktadır. Ancak bu çalışmada en yüksek verimin alındığı 90 g/L maltoz oranının bile optimize edilerek, embriyo ve bitki gelişiminin daha da artırılabilceği düşünülmektedir. 23 ve 24 numaralı besin ortamlarının başarılı sonuç vermesinin ana sebebi; maltozun uygun dozunun kullanılmış olması olmakla birlikte, ortamların başarısında AgNO₃ ve aktif kömürün yine uygun dozlarda birlikte kullanılmış olmasıdır. Çünkü ilgili Çizelge 3.6., Çizelge 4.4. ve Çizelge 4.5.'in birlikte değerlendirilmesi durumunda, ortamda maltoz bulursa bile maltozun

sadece AgNO₃ veya sadece aktif kömür ile birlikte kullanıldığı ortamların, 23. ve 24. ortamların başarısını yakalamaktan uzak oldukları görülecektir. Bu nedenle maltoz, AgNO₃ ve aktif kömürün uçlü kombinasyonu ile yapılacak ilerideki çalışmalarda bu üç ortam bileşeninin oranlarında yapılacak olan değişikliklerle embriyo veriminin daha da arttırılabileceği düşünülmektedir.

100 anter başına meydana gelen bitkicik oluşumları incelenirse; Çizelge 4.5.'e göre A117 genotipinde 200 adet bitkicik oluşumu ile 24 nolu Mod-C ortamının aktarıldığı R ortamından ve bunu takiben 170 adet bitkicik oluşumu ile 24 nolu Mod-C ortamının aktarıldığı 24 nolu Mod-R ortamından elde edilmiştir. Anamur genotipinde ise 67 adet bitkicik oluşumu ile 24 nolu Mod-C ortamının aktarıldığı 24 nolu Mod-R ortamından elde edilmiştir. Burada genotiplerin besin ortamlarına verdikleri tepkiler incelenecek olursa; A117 genotipi aktif kömür ve gümüş nitratın kullanılmadığı klasik DDV-R besin ortamında daha yüksek sayıda embriyo ve bitkicik oluştururken, Anamur genotipinde ise en yüksek verim Mod-R'de daha yüksek sağlanmıştır.

Tüm androgenesis çalışmalarında olduğu gibi patlıcan anter kültürlerinde de en önemli etki genotipten kaynaklanmaktadır. Günümüze kadar yapılmış olan birçok çalışmada farklı genotipler kullanılarak patlıcanın androgenesise tepkisi incelenmiştir. Örneğin Salas vd. (2011) nin gerçekleştirdikleri çalışmada, 12 genotip kullanılarak bu genotiplerin androgenesise tepkileri incelenmiştir. Çalışmada 7 genotipten hiç embriyo oluşumu meydana gelmemiş, diğer 5 genotipten % 0.7-60.9 oranında embriyo elde edilmiştir. Bu çalışmada ise kullanılan genotiplerden embriyo ve bitkicik oluşturma açısından A117 genotipi, Anamur genotipinden daha fazla kapasiteye sahip bulunmuştur. Bu genotiplerde daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde; Özdemir-Çelik (2018) A117 ve Amadeo genotiplerini kullanarak yaptığı çalışmada; A117 genotipinden % 42.68 embriyo oluşumu, %16.81 bitki oluşumu ve elde ettiği embriyoların % 41.33 ünden de bitki elde etmiştir. Anamur genotipi yönünden ise; Geboloğlu vd. (2017)'nin çalışmasında, Anamur genotipinde karbonhidrat kaynağı olarak sukroz kullanılan uygulamada % 6.3 (0.63 embrioid/10 anter) ve bal kullanılan uygulamada ise % 2.2 (0.22 embrioid/10 anter) elde edildiği bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında ise A117 genotipinden 320 embriyo/100 anter, Anamur genotipinde ise 100 embriyo/100 anter elde edilmiştir. Bu sonuçların Dünyadaki androgenesis çalışmalarının mikروسpor embriyogenesis etkinliği ile karşılaştırılmasına gelince; patlıcan anter kültürü çalışmalarından şimdiye kadar elde edilen en yüksek embriyogenesis oranları Bandera F1'den geliştirilen DH36 hattından sağlanmıştır. Bu hattın % 237.5 (237.5 embriyo/100 anter) (Rivas-Sendra vd 2017), bu hattın ebeveyni olan Bandera F1'den % 146.5 (Rivas-Sendra vd. 2017), Ecavi F1'den % 60.9 (Salas vd. 2011) ve Cristal F1'den ise % 53 (Salas vd. 2012) oranında embriyo verimleri elde edilmiştir. Bu değerler de göz önüne alındığında bilindiği kadarı ile patlıcan anter kültürü çalışmalarında en yüksek embriyo ve bitkicik verimleri bu çalışma ile elde edilmiştir. Sonbahar döneminde katı ortamda en başarılı bulunan 24. ortamda elde edilen bazı embriyo görüntüleri Şekil 4.12. de verilmiştir.



Şekil 4.12. Sonbahar döneminde katı 24.ortamından elde edilen embriyo görüntüleri **a)** Embriyo verimi çok yüksek bir anter, **b)** Petride oluşan bitkicikler, **c-d)** A117 genotipinde 24 nolu Mod-C ortamında kültüre alındıktan sonra Mod-R ortamında gelişen embriyo ve bitkicikler, **e-f)** A117 genotipinde 24 nolu Mod-C ortamında kültüre alındıktan sonra DDV-R ortamında gelişen embriyo ve bitkicikler

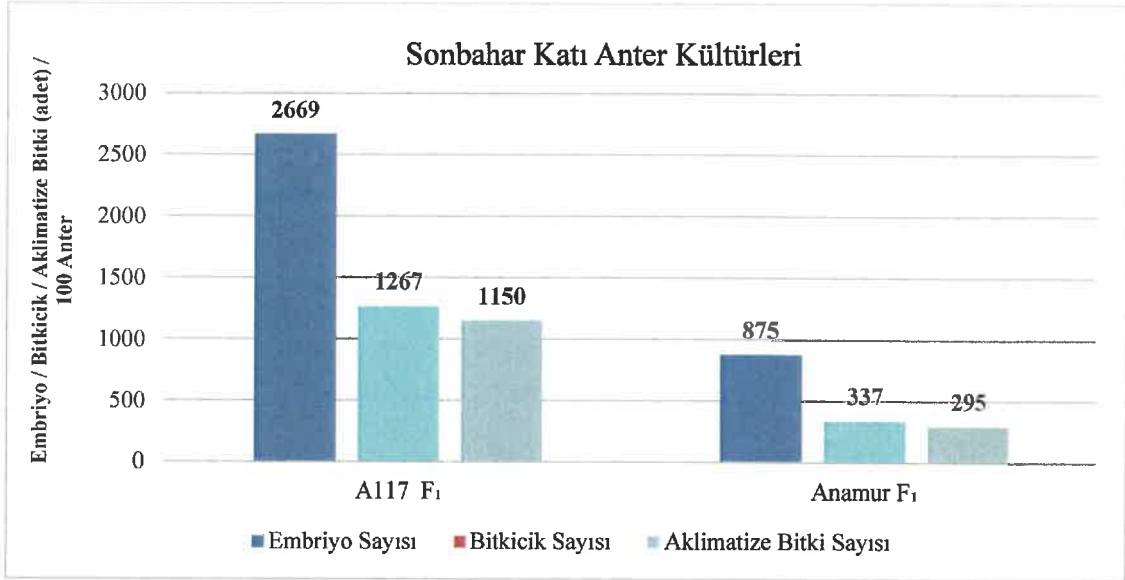
Sonbahar döneminde yapılan katı anter kültürlerinin sonuçlarını genel olarak değerlendirmek gerekirse; yapılan çalışmada elde edilen yüksek başarının ana kaynağı besin ortamı içerisinde karbon kaynağı olarak yer verilen maltozun varlığıdır. Scott vd (1995) maltozun etkinliğinin yavaş metabolize olmasından kaynaklandığını bildirmiştir (Arı vd 2016a). Maltozun bu çalışmadaki etkinliğini daha iyi ortaya koyabilmek için sonbahar denemelerinde elde edilen embriyo ve bitkicik verimleri kullanılan besin ortamlarındaki karbon kaynaklarına göre gruplandırılarak Çizelge 4.6. oluşturulmuştur. Bu noktada çalışmada kullanılan Mod-C ortamlarının aslında öncelikle karbon kaynaklarına göre 6'şarlık setlerden oluşturulduğunu (Çizelge 3.6.) ve daha sonra bu setler içerisinde farklı oranlarda AgNO₃ ve aktif kömür dozlarının kullanıldığını belirtmekte fayda görülmektedir.

Çizelge 4.6. Sonbahar dönemi katı anter kültürlerinde Mod-C ve R ortamı gruplarına göre elde edilen toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları

Mod-C Besin Ortam Grupları	Karbon Kaynağı	Kültüre Alınan Anter Sayısı	Toplam Embriyo		Toplam Bitkicik		Toplam Aklimatize Edilen Bitki	
			R	Mod-R	R	Mod-R	R	Mod-R
A117								
1-6	120 g/L Sukroz	1200	235	168	101	104	86	89
7-12	30 g/L Maltoz	1200	113	188	38	97	35	91
13-18	60 g/L Maltoz	1200	233	216	117	81	103	73
19-24	90 g/L Maltoz	1200	814	702	400	329	367	306
ANAMUR								
1-6	120 g/L Sukroz	1200	86	184	36	72	33	61
7-12	30 g/L Maltoz	1200	31	27	1	1	1	1
13-18	60 g/L Maltoz	1200	17	99	4	27	4	27
19-24	90 g/L Maltoz	1200	204	227	89	107	78	90

Çizelge 4.6'ya göre maltozun en yüksek oranda 90 g/L (19-24 nolu Mod-C besin ortamlarında) kullanılması ile birlikte oluşan embriyo artışı, hemen hemen diğer 18 ortamın toplamından daha fazladır. 19-24 numaralı Mod-C besin ortamları kendi içinde incelendiğinde ise en fazla embriyo oluşumu yine 24 nolu besin ortamında gerçekleşmiştir. Bu ortamın içeriğini hatırlatmak gerekirse; MS + 90 g/L maltoz + 5 mg/L 2,4-D + 5 mg/L Kinetin + 10 mg/L AgNO₃ + 1 g/L aktif kömürden oluşmaktadır. Bu ortamda en fazla embriyo verimi 320 adet embriyo / 100 anter olarak gerçekleşmiştir. Bu ortam bileşenleri olan maltoz, AgNO₃ ve aktif kömür dozlarında yapılacak optimizasyonlarla embriyo veriminin daha da arttırılabileceği düşünülmektedir. Ancak genotiplerin farklı kimyasal bileşenlere verdikleri tepkiler değişiklik gösterdiği için yapılacak optimizasyonların genotipler bazında yapılması önemli olabilir.

Sonbahar katı anter kültürü denemelerinde sonuç olarak Çizelge 4.6. ve Çizelge 4.7. de sayıları belirtilen bitkiciklerden, aklimatize edilerek sera koşullarına A117 genotipinden toplam 1.150 adet, Anamur genotipinden toplam 295 adet olmak üzere toplam 1.445 adet bitki aktarılmıştır. Sonbahar döneminde elde edilen toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları Şekil 4.13. ve Çizelge 4.7. de belirtilmiştir.



Şekil 4.13. Sonbahar dönemi katı anter kültürlerinde elde edilen toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları

Çizelge 4.7. Sonbahar dönemi katı anter kültürlerinde elde edilen toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları

Genotip	Kültüre Alınan Anter Sayısı	Embriyo Sayısı		Bitkicik Sayısı		Aklimatize Bitki Sayısı	
		R	Mod-R	R	Mod-R	R	Mod-R
A117	4.800	1.395	1.274	656	611	591	559
Anamur	4.800	338	536	130	207	116	179
Toplam	9.600	1.733	1.810	786	818	707	738
Genel Toplam	9.600	3.543		1.604		1.445	

4.2.2.2 Sonbahar sıvı anter kültürleri

Sonbahar döneminde kurulan denemelerde iki F₁ patlıcan çeşidine (A117 ve Anamur) ait anterlerin androgenesis yetenekleri; sıvı kültür ortam tipinde farklı maltoz konsantrasyonlarından oluşan farklı Mod-C ve R ortamlarında kıyaslanmıştır. Ortamların her birinde 200'er anter kültüre alınmış olup iki patlıcan çeşidi için toplamda 4.800 adet anterin ekimi yapılmıştır. Mod-C ortamları içerisinde 8 gün 35 °C'de karanlık koşullarda inkübe edilen anterler, 8. günün sonunda büyütme odasına alınarak 12. günün sonuna kadar burada 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık koşullarda bekletilmiştir. 12. günün sonunda kültüre alınmış olan anterlerin 100'er adedi klasik DDV-R ortamına aktarılmış olup, 100'er adedi ise içerisinde farklı bileşenler barındıran Mod-R ortamlarına şaşırtılarak gelişen anter sayısı, anterden kallus oluşumu, embriyo oluşumu, bitkicik oluşumu ve aklimatize edilen bitki sayılarının ortalamaları ve toplamaları yönünden karşılaştırılmıştır.

İlkbahar döneminde elde edilen veriler sonucunda, sıvı ortam kültüründe aktif kömür içeren besin ortamlarında herhangi bir gelişim olmadığı ve anter gelişimini olumsuz etkilediği düşünüldüğünden, sonbahar dönemi sıvı kültürlerinde aktif kömür kullanılmamıştır. Aktif kömürün sıvı kültürdeki olumsuz etkisinin, sıvı ortamda patlıcan anterlerinin salgıladığı fenolik maddeler ile etkileşime girerek toksik etki oluşturmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Bunun bir diğer sebebinin bizim çalışma koşullarımızdan veya aktif kömür oranının fazlalığından kaynaklı olabileceği tahmin edilmektedir. Yapılan literatür çalışmalarında patlıcan anter kültüründe sıvı kültür koşullarında androjenik tepkinin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Sıvı ortamlar hazırlanırken katı ortamlar ile aynı içeriklere sahip ortamlar hazırlanmış, ancak sıvı ortamlara sadece agar ilave edilmemiştir.

Sonbahar dönemi sıvı anter kültür denemelerine ait varyans analizleri ve interaksyonları; iki genotipte yapılan sıvı anter kültürlerinin sonuçlarını yansıtacak şekilde, bu ortamlarda kültüre alınan anterlerin anter gelişimi (%) ve anter kallusu (%), 100 anter başına oluşan embriyo, bitkicik ve aklimatize bitkilerin ortalama değerleri esas alınarak yapılmıştır. Sonbahar dönemi sıvı anter kültürü denemelerine ait varyans analizleri ve interaksyon sonuçları olarak Çizelge 4.8.'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Patlıcanda sonbahar döneminde sıvı ortamda yapılan anter kültürü denemelerine ait varyans analizleri ve interaksiyonları

Faktörler	S.D.	İncelenen Özellikler				
		Anter Gelişimi (%)	Anter Kallusu (%)	Embriyo (adet) /100 anter	Bitkicik (adet) /100 anter	Aklimatize Bitki (adet) /100 anter
Varyasyon Kaynağı						
Genotip (G) (A117. Anamur)	1	0.4606 öd	0.9025 öd	0.3056 öd	0.3179 öd	0.3179 öd
Mod-C Ortamları (CO) (1→12)	11	0.0001 ***	0.0019 **	0.4112 öd	0.4454 öd	0.4454 öd
R Ortamları (RO) (R, Mod-R)	1	0.0001 ***	0.3273 öd	0.3056 öd	0.3179 öd	0.3179 öd
G*CO	11	0.0002 ***	0.8879 öd	0.3947 öd	0.4454 öd	0.4454 öd
G*RO	1	0.0671 öd	0.3273 öd	0.2619 öd	0.3179 öd	0.3179 öd
CO*RO	11	0.0001 ***	0.6916 öd	0.3947 öd	0.4454 öd	0.4454 öd
G*CO*RO	11	0.0045 **	0.2372 öd	0.4112 öd	0.4454 öd	0.4454 öd
Varyasyon Katsayısı		% 0.35	% 3.03	% 19.50	% 21.91	% 21.91
Genotip (A117. Anamur)						
A117		62.3	2.5	1.8	0.2	0.08
Anamur		60.9	2.4	0.8	0.0	0.0
C Ortamları (1→12)						
1 (Kontrol)		22.3 g	0 d	0.0	0.0	0.0
2		44.8 f	0.3 cd	0.0	0.0	0.0
3		45.5 f	0.5 b-d	0.0	0.0	0.0
4		75.8 b	3.0 b-d	0.0	0.0	0.0
5		68.0 b-d	3.0 b-d	0.0	0.0	0.0
6		89.8 a	7.3 a	0.0	0.0	0.0
7		71.8 bc	1.8 b-d	0.0	0.0	0.0
8		74.5 bc	3.5 bc	0.0	0.0	0.0
9		70.0 bc	3.8 b	0.0	0.0	0.0
10		59.0 de	2.0 b-d	0.0	0.0	0.0
11		52.5 ef	2.0 b-d	0.0	0.0	0.0
12		65.5 cd	2.5 b-d	10.5	1.0	0.5

Çizelge 4.8.'in devamı arkada:

Çizelge 4.8.'in devamı.

R Ortamları (R, Mod-R)									
R		53.2 b	2.1	1.8	0.2	0.08			
Mod-R		69.9 a	2.8	0.08	0.0	0.00			
Genotip (A117, Anamur) * R Ortamları (1-R, 2-Mod-R)									
A117*R		52.2	2.5	3.7	0.3	0.1			
A117*R-Mod		72.5	2.5	0.0	0.0	0.0			
Anamur*Katı		54.3	1.8	0.1	0.0	0.0			
Anamur*Sıvı		67.4	3.1	0.0	0.0	0.0			
Genotip (1-A117. 2-Anamur)*C Ortamları(1→12) İnteraksiyonları									
Anter Gelişimi (%)		Anter Kallusu (%)		Embriyo (adet) /100 anter		Bitkicik (adet) /100 anter		Aklimatize Bitki (adet) /100 anter	
1*6	96.0 a	2*6	8.0	1*12	21.0	1*12	2.0	1*12	1.0
2*6	83.5 ab	1*6	6.5	2*11	1.0	1*2	0.0	1*2	0.0
2*5	80.5 bc	2*5	5.0	1*1	1.0	1*3	0.0	1*3	0.0
1*4	76.5 b-d	1*9	4.5	1*2	0.0	1*4	0.0	1*4	0.0
1*8	75.5 b-d	1*4	4.0	1*4	0.0	1*5	0.0	1*5	0.0
2*4	75.0 b-d	1*8	3.5	1*6	0.0	1*6	0.0	1*6	0.0
1*9	74.5 b-e	2*8	3.5	1*7	0.0	2*1	0.0	2*1	0.0
2*8	73.5 b-e	1*11	3.0	2*1	0.0	2*2	0.0	2*2	0.0
2*7	72.5 b-e	2*9	3.0	2*2	0.0	2*3	0.0	2*3	0.0
1*7	71.0 b-f	1*12	3.0	2*3	0.0	2*4	0.0	2*4	0.0
1*12	69.5 c-f	2*1	2.5	2*4	0.0	2*5	0.0	2*5	0.0
2*9	65.5 d-g	1*7	2.0	2*5	0.0	2*6	0.0	2*6	0.0
1*1	64.0 d-g	2*4	2.0	2*6	0.0	2*7	0.0	2*7	0.0
2*12	61.5 e-h	2*12	2.0	2*7	0.0	2*8	0.0	2*8	0.0
1*11	58.0 f-ı	1*1	1.5	2*8	0.0	2*9	0.0	2*9	0.0
1*5	55.5 g-ı	2*7	1.5	2*1	0.0	2*1	0.0	2*1	0.0
2*1	54.0 g-ı	1*3	1.0	1*9	0.0	2*11	0.0	2*11	0.0
1*2	52.5 g-j	1*5	1.0	2*9	0.0	1*1	0.0	1*1	0.0
2*3	50.5 h-j	2*11	1.0	1*5	0.0	1*7	0.0	1*7	0.0
2*11	47.0 ı-k	2*2	0.5	1*11	0.0	1*8	0.0	1*8	0.0
1*3	40.5 j-l	1*1	0.0	1*1	0.0	1*1	0.0	1*1	0.0
2*2	37.0 kl	2*1	0.0	1*3	0.0	1*11	0.0	1*11	0.0
2*1	30.0 l	1*2	0.0	1*8	0.0	1*9	0.0	1*9	0.0
1*1	14.5 m	2*3	0.0	2*12	0.0	2*12	0.0	2*12	0.0

Çizelge 4.8.'in devamı arkada

Çizelge 4.8.'in devamı.

R Ortamları (1-R, 2-Mod-R)*Mod-C Ortamları (1→12) İnteraksiyonları									
Anter Gelişimi (%)		Anter Kallusu (%)		Embriyo (adet) /100 anter		Bitkicik (adet) /100 anter		Aklimatize Bitki (adet) /100 anter	
2*6	93.5 a	2*6	9.0	1*12	21.0	1*12	2.0	1*12	1.0
2*4	89.0 ab	1*6	5.5	2*11	1.0	1*2	0.0	1*2	0.0
1*6	86.0 ab	1*5	5.0	1*1	1.0	1*3	0.0	1*3	0.0
2*8	80.0 bc	2*8	4.5	1*2	0.0	1*4	0.0	1*4	0.0
2*7	78.0 b-d	1*9	4.0	1*4	0.0	1*5	0.0	1*5	0.0
2*1	77.0 b-e	2*1	4.0	1*6	0.0	1*6	0.0	1*6	0.0
2*12	76.0 b-e	2*9	3.5	1*7	0.0	2*1	0.0	2*1	0.0
2*9	76.0 b-e	2*4	3.5	2*1	0.0	2*2	0.0	2*2	0.0
2*5	70.0 c-f	1*4	2.5	2*2	0.0	2*3	0.0	2*3	0.0
1*8	69.0 c-f	1*8	2.5	2*3	0.0	2*4	0.0	2*4	0.0
2*11	66.0 d-g	1*12	2.5	2*4	0.0	2*5	0.0	2*5	0.0
1*5	66.0 d-g	2*12	2.5	2*5	0.0	2*6	0.0	2*6	0.0
1*7	65.5 d-g	1*11	2.0	2*6	0.0	2*7	0.0	2*7	0.0
1*9	64.0 e-g	2*7	2.0	2*7	0.0	2*8	0.0	2*8	0.0
1*4	62.5 fg	2*11	2.0	2*8	0.0	2*9	0.0	2*9	0.0
2*2	60.5 fg	1*7	1.5	2*1	0.0	2*1	0.0	2*1	0.0
2*3	55.5 g	2*3	1.0	1*9	0.0	2*11	0.0	2*11	0.0
1*12	55.0 g	2*5	1.0	2*9	0.0	1*1	0.0	1*1	0.0
1*1	41.0 h	2*2	0.5	1*5	0.0	1*7	0.0	1*7	0.0
1*11	39.0 h ₁	2*1	0.0	1*11	0.0	1*8	0.0	1*8	0.0
1*3	35.5 h ₁	1*1	0.0	1*1	0.0	1*1	0.0	1*1	0.0
1*2	29.0 h _{1j}	1*3	0.0	1*3	0.0	1*11	0.0	1*11	0.0
1*1	26.5 i _j	1*2	0.0	1*8	0.0	1*9	0.0	1*9	0.0
2*1	18.0 j	1*1	0.0	2*12	0.0	2*12	0.0	2*12	0.0

Genotip* C Ortamı*R Ortamı İnteraksiyonları (Bu interaksiyonların ortalamaları Çizelge 4.9.'da ayrıca verilmiştir)

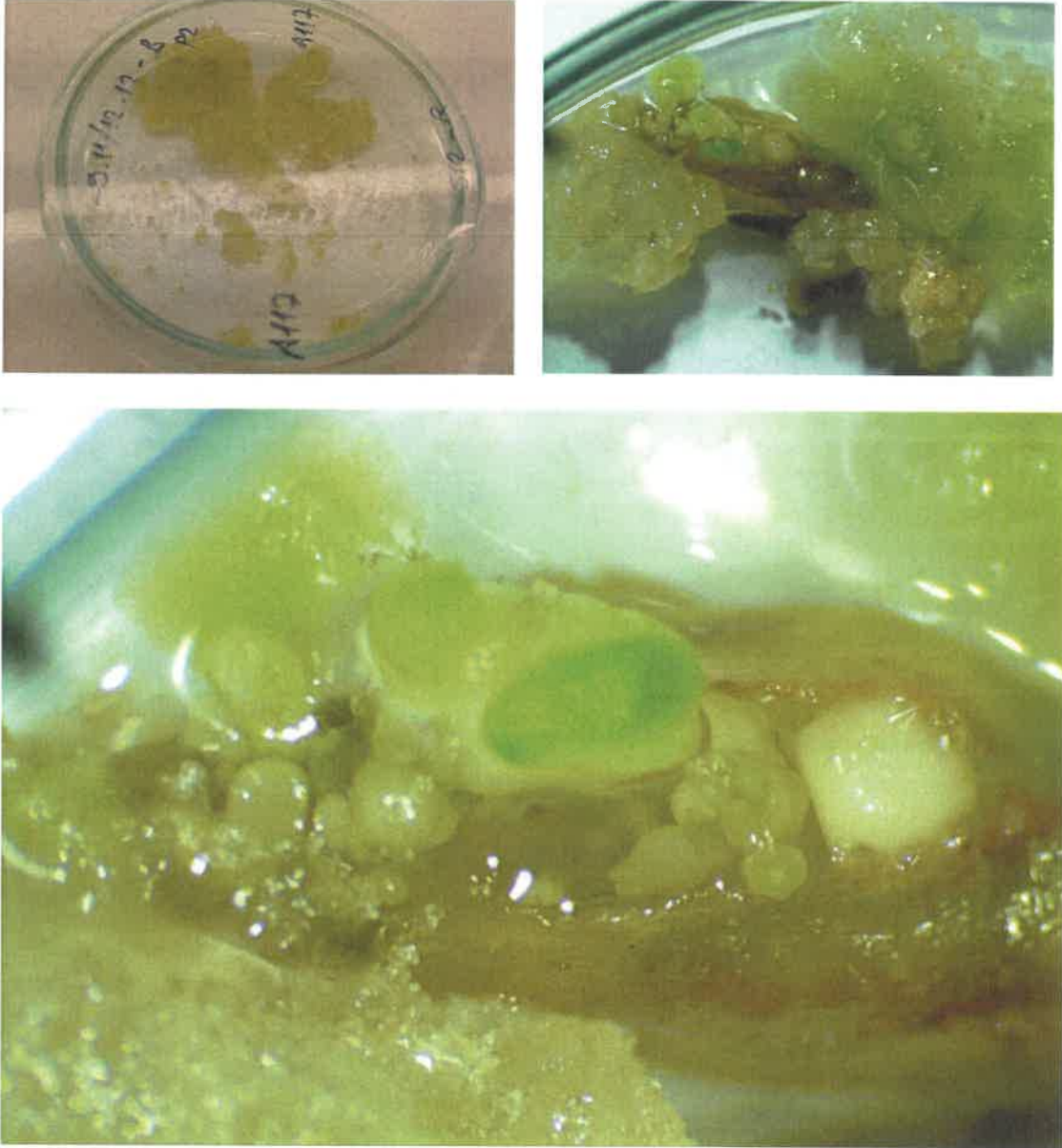
Çizelge 4.8.'e göre genotiplerin ve genotip*R ortamları interaksyonlarının incelenen özelliklerin hiçbirisi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar oluşturmadığı belirlenmiştir. Mod-C ortamları genotip ve R ortamlarından bağımsız şekilde anter gelişimi üzerinde $p < 0.001$ ve anter kallusu üzerinde $p < 0.01$ düzeyinde istatistiksel yönden anlamlı sonuçlar ortaya koyarken embriyo ve bitkicik oluşumu üzerinde ise anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Mod-C ortamlarından 6.ortam anter gelişimi (% 89.8) ve anter kallusu (%7.3) açısından istatistiksel olarak oldukça anlamlı farklılıklar oluşturmuştur.

R ortamlarından Mod-R ortamı (%69.9) klasik R ortamına (%53.2) göre anter gelişimi yönünden daha başarılı bulunmuştur. R ortamları genotip ve Mod-C ortamlarından bağımsız olarak sadece anter gelişimi yönünden $p < 0.0001$ düzeyinde farklılık ortaya koymuştur. R ortamları Genotip*Mod-C ($p < 0.001$) ve Mod-C*R ortamlarından oluşan ($p < 0.001$) ikili ve Genotip*Mod-C*R ortamları ($p < 0.01$) üçlü interaksyonları sadece anter gelişimi üzerinde istatistiksel açıdan anlamlı ($p < 0.001$ veya $p < 0.01$ düzeyinde) farklılıklar meydana getirirken, diğer incelenen özellikler açısından ise fark oluşturmamıştır (Çizelge 4.8.). Bununla birlikte sonbahar döneminde yapılan sıvı anter kültürü denemeleri üzerinde genotip*Mod-C*R ortamları şeklindeki üçlü interaksyonların her bir gözlem parametresi üzerinde oluşturduğu ortalamalar Çizelge 4.9'da ayrıca verilmiştir.

Çizelge 4.9. Sonbahar dönemi sıvı anter kültürleri sonuçlarına ait 3'lü interaksyon (genotip*C ortamı*R ortamı) ortalamaları

Genotip	Mod-C Ort. No	İncelenen Özellik											
		Anter Gelişimi (%)				Anter Kallusu (%)		Embriyo (adet) /100 anter		Bitkicik (adet) /100 anter		Aklimatize Bitki (adet) /100 anter	
		R	Mod-R	R	Mod-R	R	Mod-R	R	Mod-R	R	Mod-R		
A117	1 (K)	15	r	14	r	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	24	qr	81	a-f	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	25	qr	56	j-n	0	2	0	0	0	0	0	0
	4	69	e-k	84	a-e	5	3	0	0	0	0	0	0
	5	47	l-p	64	f-l	1	1	0	0	0	0	0	0
	6	95	ab	97	a	8	5	0	0	0	0	0	0
	7	58	ı-m	84	a-e	1	3	0	0	0	0	0	0
	8	68	e-k	83	a-e	2	5	0	0	0	0	0	0
	9	73	d-j	76	c-ı	6	3	0	0	0	0	0	0
	10	47	l-p	81	a-f	0	3	2	0	0	0	0	0
	11	46	l-p	70	e-j	3	3	0	0	0	0	0	0
	12	59	h-l	80	a-g	4	2	42	0	4	0	2	0
Anamur	1 (K)	38	n-q	22	qr	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	34	o-q	40	m-q	0	1	0	0	0	0	0	0
	3	46	l-p	55	j-n	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	56	j-n	94	a-c	0	4	0	0	0	0	0	0
	5	85	a-e	76	c-ı	9	1	0	0	0	0	0	0
	6	77	b-h	90	a-d	3	13	0	0	0	0	0	0
	7	73	d-j	72	d-j	2	1	0	0	0	0	0	0
	8	70	e-j	77	b-h	3	4	0	0	0	0	0	0
	9	55	j-n	76	c-ı	2	4	0	0	0	0	0	0
	10	35	o-q	73	d-j	0	5	0	0	0	0	0	0
	11	32	p-r	62	g-l	1	1	0	2	0	0	0	0
	12	51	k-o	72	d-j	1	3	0	0	0	0	0	0

Çizelge 4.9.'a göre üçlü interaksiyonlar varyans analiz tablosundan (Çizelge 4.8.) da görüldüğü gibi anter gelişimi haricinde hiçbir özellik yönünden önemli bir farklılık oluşmamıştır. Ancak genotipler arasında anter gelişimi yönünden de fark oluşmamıştır. A117*Mod-6C*Mod-6R interaksiyonu anter gelişimi yönünden en yüksek ortalamayı (% 97) oluşturmuştur. 100 anter başına elde edilen en yüksek ve aslında neredeyse tek embriyo oluşumu (42 adet embriyo/100 anter), bitkicik (4 adet bitkicik/100 anter) ve aklimatize bitki (2 adet aklimatize bitki/100 anter) oluşumu A117*Mod-12C*klasik R ortamı kombinasyonunda meydana gelmiştir. Bu ortamda oluşan bazı tepki ve emriyolar Şekil 4.14. te verilmiştir.

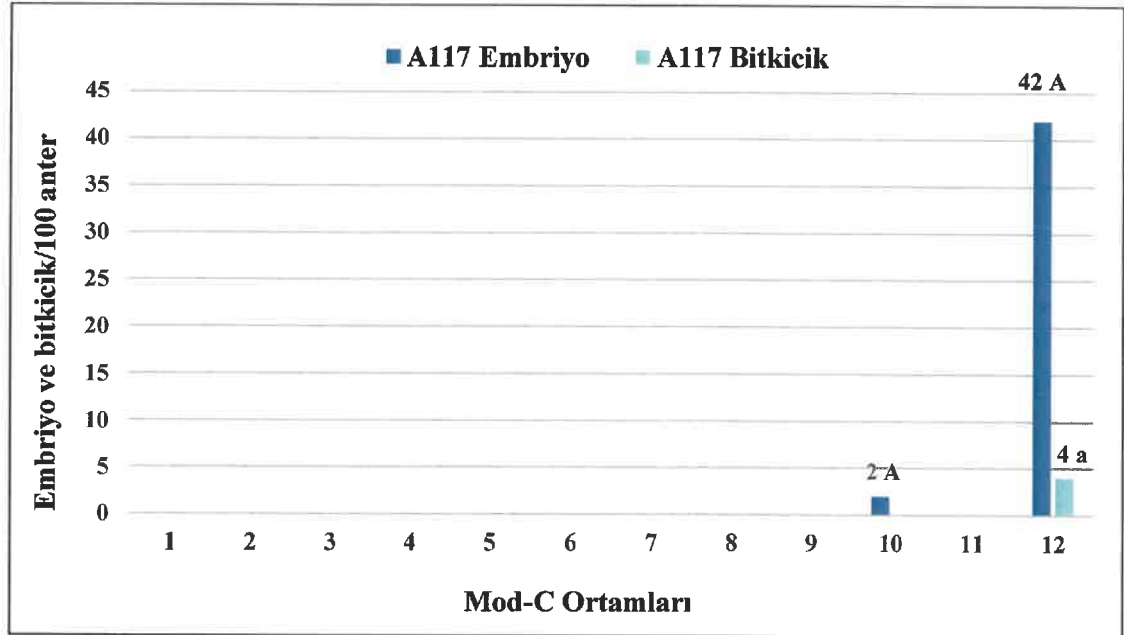


Şekil 4.14. Sıvı kültürlerde en başarılı embriyo veriminin elde edildiği A117 genotipinin 12 nolu Mod-C ortamından sonra Mod-R ortamında kültüre alınan anterlerdeki farklı gelişim aşamalarındaki embriyolar

Sonbahar dönemi sıvı anter kültürü denemelerinde genotipler bazında oluşan toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları Çizelge 4.10. da ve Şekil 4.15. te verilmiştir.

Çizelge 4.10. Sonbahar dönemi sıvı anter kültürlerinde elde edilen toplam embriyo, bitkicik ve aklimatize edilen bitki sayıları

Genotip	Kültüre Alınan Anter Sayısı	Embriyo Sayısı		Bitkicik Sayısı		Aklimatize Bitki Sayısı	
		R	Mod-R	R	Mod-R	R	Mod-R
A117	2.400	44	0	4	0	2	0
Anamur	2.400	0	2	0	0	0	0
Toplam	4.800	44	2	4	0	2	0
Genel Toplam	4.800	46		4		2	



Şekil 4.15. Sonbahar dönemi sıvı anter kültürlerinde A117 genotipinden elde edilen toplam embriyo ve bitkicik sayıları

Çizelge 4.10. ve Şekil 4.15'te görüldüğü gibi sıvı kültürlerde çok fazla embriyo ve bitkicik oluşmamıştır. Ancak bu sıvı kültür çalışması, literatürde henüz ele alınmamış bir konu olan patlıcanda sıvı anter kültürü için bir ön çalışma niteliğindedir. Ayrıca izole edilmiş mikrospor kültürleri de sıvı kültürde yürütüldüğü için bu çalışmadaki bulgular, bu konuda yapılacak çalışmalar için farklı bir fikir verebilir. Özellikle S12 ortamı etrafında maltoz ve $AgNO_3$ in farklı dozlarının denenmesi ile elde edilebilecek embriyo ve bitkicik sayısını arttırmak mümkün olabilir.

5. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında patlıcanda (*Solanum melongena* L.) etkin bir şekilde haploid embriyo ve bitkicik elde etme verimini arttırmaya yönelik protokol geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla katı ve sıvı anter kültürleri ile shed-mikrospor kültürünün etkinlikleri kıyaslanmıştır. Gerçekleştirilen kapsamlı anter kültürü denemeleri iki yetiştiricilik sezonunda (ilkbahar ve sonbahar dönemlerinde) yapılmış olup, ilk denemeler ilkbahar döneminde kurulmuş, bu denemelerin bulguları ışığında sonbahar denemelerine yön verilmiştir. İlkbahar ve sonbahar denemelerinde farklı genotipler, farklı besin ortamı tiplerinde oluşturulan farklı Mod-C ve Mod-R ortamlarında karşılaştırılmış ve genotiplere ait anterlerin besin ortamlarına verdikleri tepkiler gerek sezon, gerekse ortam tipleri ve gerekse modifiye ortamlar bazında araştırılmıştır. Tez çalışmasında kurulan tüm denemelere ait genel sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

- İlkbahar döneminde katı, sıvı ve çift-fazlı (shed-mikrospor) ortam tipinin her birisinde A117 F₁, Anamur F₁ ve Darko F₁ patlıcan çeşitlerine ait toplam 10.800 anter 12 farklı besin ortamında kültüre alınmıştır. Bunlardan sıvı ve shed-mikrospor kültürlerinden embriyo elde edilemezken, sadece katı ortamda kültüre alınan 3.600 anterden 64 embriyo, 45 bitkicik ve 45 adet aklimatize bitki elde edilmiştir.
- İlkbahar denemeleri arasındaki shed-mikrospor kültüründe, anter gelişimi dahil hiçbir gelişim görülmediği için shed-mikrospor kültürüne sonbahar döneminde yer verilmemiştir. Ancak bundan sonra yapılabilecek shed-mikrospor çalışmaları için öncelikle aktif kömürün bu çalışmada olduğu gibi sıvı faz ortamında değil, sadece katı faz ortamında ve farklı konsantrasyonlarda kullanılması ile inkübasyon şartlarında optimizasyon yapılması önerilmektedir.
- İlkbahar denemelerinde ayrıca sıvı kültür denemelerinde aktif kömürlü besin ortamlarında anterlerde herhangi bir gelişim olmaması, buna karşılık aktif kömürsüz bazı besin ortamlarında anterlerin canlılık ve sağlıklı renklerini koruması nedeniyle sonbahardaki sıvı kültür denemelerinin aktif kömürsüz olarak kurulmasına karar verilmiştir. Çünkü bu çalışmada kullanılan 1 mg/L konsantrasyondaki aktif kömürün sıvı besin ortamlarında patlıcan anter gelişimini durdurduğu ve gelişimi olumsuz yönde etkilediği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, patlıcanda bundan sonra yapılabilecek sıvı anter kültürü çalışmalarında aktif kömürün 1g/L'den daha düşük miktarlarda kullanılarak yapılacak ortam optimizasyonunun, embriyo oluşumu ve kalitesi üzerine olumlu etkide bulunabileceği düşünülmektedir.
- İlkbahar dönemindeki sıvı ve katı ortam denemelerinde maltozun kullanıldığı besin ortamlarında anterlerin gelişimi ve canlılıkları üzerinde olumlu farklılıklar gözlemlendiği için sonbahar denemelerinde, ilkbahar denemelerinde kullanılan maltoz dozundan daha düşük ve daha yüksek dozların da kullanılmasına karar verilmiştir.
- Sonbahar döneminde A117 F₁ ve Anamur F₁ patlıcan çeşitlerinin her birisi için 24 katı ve 12 sıvı anter kültürü ortamında toplam 14.400 anter kültüre alınmıştır. Bunlardan katı ortamlardaki kültürlerden sıvı ortamdaki kültürlere göre çok daha fazla başarı sağlanmıştır. Katı ortamlarda kültüre alınan iki çeşide ait 9.600

anterden toplam 3.543 embriyo, 1.604 bitkicik ve 1.445 adet aklimatize bitki elde edilmiştir. Sıvı anter kültürü denemelerinden ise 46 embriyo, 4 bitkicik ve 2 aklimatize bitki elde edilmiştir.

- Çalışmadaki en yüksek embriyo ile bitkicik verimleri ve dolayısıyla aklimatize bitki verimi; ortam tiplerinden katı besin ortamlarında, genotipler arasından A117 F₁ çeşidinde ve besin ortamları arasından 24. Mod-C ortamında gerçekleşmiştir. 24. Mod-C ortamında ilk 12 gün kültüre alındıktan sonra rejenerasyon ortamına aktarılan anterlerden klasik rejenerasyon ortamı olan R ortamına aktarılanlardan 100 anter başına elde edilen en yüksek embriyo sayısı A117 genotipinde 320 embriyo/100 anter, modifiye rejenerasyon ortamı olan Mod-R ortamına aktarılanlardan ise 260 embriyo/100 anter elde edilmiştir. Bilindiği kadarı ile bu sonuçlar patlıcan anter kültürlerinde şimdiye kadar elde edilen tüm embriyo verimlerinden daha yüksektir. En başarılı ortam olarak belirlenen 24 nolu Mod-C ortamı MS + 90 g/L maltoz + 5 mg/L 2,4-D + 5 mg/L Kinetin + 10 mg/L AgNO₃ + 1 g/L aktif kömürden oluşturulmuştur.
- Özellikle sonbahar denemelerinde elde edilen yüksek embriyo ve bitkicik verimindeki başarının en önemli kaynaklarından birisi, besin ortamı içerisinde karbon kaynağı olarak yer verilen maltozun varlığı ve artan dozudur. Çünkü maltoz dozu arttıkça embriyo ve bitkicik verimi de artmıştır. Hatta bu çalışmada kullanılan ve en yüksek verimin alındığı 90 g/L maltoz oranının bile optimize edilerek, embriyo ve bitkicik oluşumunun daha da artırılabilceği düşünülmektedir.
- 24 numaralı Mod-C besin ortamının başarılı sonuç vermesinin ana sebebi; maltozun uygun dozunun kullanılmış olması ile birlikte, bu maltozlu ortama aktif kömür ve AgNO₃ in yine uygun dozlarda birlikte ilave edilmiş olmasıdır. Çünkü yapılan farklı ortam denemelerinde, ortamda maltoz bulunsa bile maltozun sadece AgNO₃ veya sadece aktif kömür ile birlikte kullanıldığı ortamların, 24. ortamın başarısını yakalamaktan uzak oldukları tespit edilmiştir. Dolayısıyla, özellikle katı ortam tipinde; maltoz, aktif kömür ve AgNO₃ in uygun dozlarda kullanılması, embriyo ve bitkicik oluşumu üzerine olumlu sinerjistik etkide bulunduğu sonucunu ortaya koymaktadır. Bu etki sayesinde patlıcan anter kültüründe embriyo verimi 320 embriyo / 100 anter oranına kadar yükseltilmiştir.
- Son yıllarda patlıcan dahil farklı bitki türlerinde yapılan androgenesis çalışmalarında; çeşitli genotiplerde yüksek oranlarda embriyolar elde edilebilmesine rağmen, oluşan embriyoların genellikle kalitesinin düşük ve anormal embriyo oranının yüksek olması ile embriyoların bitkiye dönüştürülmesinde yaşanan sıkıntılar nedeniyle, bu embriyoların sağlıklı şekilde bitkiye dönüştürülmesine yönelik çözümler aranmaktadır. Dolayısıyla patlıcan androgenesis çalışmaları için de indüksiyon ortamları kadar rejenerasyon ortamlarının da optimize edilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada hem indüksiyon hem de rejenerasyon ortamlarında optimizasyon yapılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda; indüksiyon ortamının sabit tutularak, rejenerasyon ortamlarında yapılacak çeşitlendirmeler ile de yeni optimizasyonların yapılabileceği düşünülmektedir.

- Bu çalışma ile patlıcanda ilk defa sıvı anter kültürü denemelerinden embriyo, bitkicik ve aklimatize bitki elde edilmiştir. Katı kültürlerle oranla, sıvı kültürlerde her ne kadar fazla sayıda embriyo ve bitkicik oluşmamış olsa da, bu sıvı kültür çalışması literatürde henüz ele alınmamış bir konu olan patlıcanda sıvı anter kültürü için bir ön çalışma niteliğindedir. Ayrıca izole edilmiş mikrospor kültürleri de sıvı kültürde yürütüldüğü için bu çalışmadaki bulgular, bu konuda yapılacak çalışmalar için farklı fikirler verebilir. Özellikle sıvı 12. Mod-C ortamı etrafında maltoz ve $AgNO_3$ ın farklı dozlarının optimizasyonu ile daha yüksek oranda embriyo ve bitkicik verimi sağlanabilir. Yine optimizasyon konusunda ileride yapılabilecek sıvı anter kültürlerine fikir vermesi açısından, sıvı besin ortamlarının anter canlılığını olumlu yönde etkilediğinin gözlemlendiğini belirtmekte fayda görülmektedir. Bu gözlemden hareketle, Mod-C ortamında sıvı ortam tipini kullanarak sağlıklı gelişimleri sağlanan anterlerin, R ortamına transferinde katı ortam tipi kullanımının etkinliği araştırılabilir. Ayrıca, sıvı kültürlerin birçok faydası olmakla birlikte, doku kültürü çalışmalarında maliyeti arttıran agar kullanımına olan ihtiyacı ortadan kaldırması nedeniyle de sıvı kültürlerin yaygınlaştırılması önemli olabilir.
- Patlıcan anter kültürü çalışmalarında anterden kallus gelişimi mümkünse istenmez ve direkt embriyogenesis tercih edilir. Bu çalışmada ortaya konulan anter kallusu sonuçları, kullanılan Mod-C ve R ortamlarının etkilerini ortaya koymak açısından önemlidir. Ayrıca patlıcanda yapılan izole edilmiş mikrospor kültürü çalışmalarında şimdiye kadar henüz direkt yolla embriyogenesis elde edilememiştir. Bu çalışmalarda DH patlıcan bitkilerini elde edebilmek için ilk etapta kallogenesis ve ardından organogenesis ile rejenere bitkiler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu nedenle bu tez çalışmasında belirlenen en yüksek anter kallusu oluşturan ortam bileşenleri, patlıcanda yapılabilecek izole edilmiş mikrospor kültürleri için embriyojenik anter kallusu elde etme konusunda yol gösterici olabilir.

6. KAYNAKLAR

- Achar, P.N. 2002. A Study of Factors Affecting Embryo Yields from Anther Culture of Cabbage. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 69: 183-188.
- Adelberg, J. 2005. Efficiency in thin-film liquid system for Hosta micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 81 (3): 359-368.
- Alpsoy, H.C., Şeniz V. 2007. Researches on the *in vitro* androgenesis and obtaining haploid plants in some eggplant genotypes. *Acta Hort.* (ISHS) 729:137-141.
- Alpsoy, H.C. 1999. Bazı Patlıcan Genotiplerinde *in vitro* Androgenesis ve Haploid Bitki Elde Edilmesi Üzerinde Araştırmalar. Uludağ Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü (Doktora Tezi), Bursa. 78 Sayfa.
- Altaye, T. 2015. Determination of genetic diversity and population structure in eggplant. MSc Thesis, Izmir Institute of Technology, İzmir, 50 p.
- Anonim 1: <http://www.tuik.gov.tr> [Son erişim tarihi: 10.05.2019].
- Anonymous 1: <http://www.fao.com> [Son erişim tarihi: 10.05.2019].
- Anonymous 2: <http://en.wikipedia.org/wiki/Solanaceae> [Son erişim tarihi: 20.04.2019].
- Arı, E. 2006. Türkiye’de doğal olarak yetişen *Anemone coronaria* var. *coccinea*’da anter kültürü çalışmaları, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana, 169 s.
- Arı, E., Adelberg, J., Delgado, M., Kroggel, M. 2015. Selection of the best black mondi (*Ophiopogon planiscapus* ‘Nigrescens’) clone in tissue culture conditions for micropropagation. Proceedings of the 25th International Eucarpia Symposium Section Ornamentals “Crossing Borders”, ss. 423-428, 28 Haziran-2 Temmuz, Melle, Belçika.
- Arı, E., Büyükalaca, S. 2010. *Anemone coronaria* var. *coccinea*’da androgenesis çalışmaları için uygun çiçek tomurcuğu morfolojisinin tespit edilmesi. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 23(2), 71-78.
- Arı, E., Bedir, H., Yıldırım, S., Yıldırım, T. 2016b. Androgenic responses of 64 ornamental pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes to shed-microspore culture in the autumn season. *Turkish Journal of Biology*, 40(3), 706-717.
- Arı, E., Yıldırım, T., Mutlu, N., Büyükalaca, S., Gökmen, Ü. Akman, E. 2016a. Comparison of different androgenesis protocols for doubled haploid plant production in ornamental pepper (*Capsicum annuum* L.). *Turkish Journal of Biology*, 40(4): 944-954.
- Aybak, H. Ç. 2005. Patlıcan Yetiştiriciliği. Hasad Yayıncılık 2. Baskı ss:108
- Bajaj, Y.P.S. 1983. *In Vitro* Production of Haploids (D.A. Evans, W.R.Sharp, P.V. Ammurato, Y. Yamada, Editors). Handbook of Plant Cell Culture Techniques of Propagation and Breeding, Vol.1, Collier Macmillan Publishers, London, 228-287.
- Bakos, F., Fabian, A. and Barnabas, B. 2007. Isolated microspore cultures of a Hungarian durum wheat (*Triticum turgidum* L.) cultivar, Martondur 1. *Acta Agronomica Hungarica*, 55 (2): 157-164.

- Bal, U., Ellialtıoğlu Ő., Abak K. 2009. Induction of symmetrical nucleus division and multi-nucleate structures in microspores of eggplant (*Solanum melongena* L.) cultured *in vitro*. *Scientia Agricola*, 66: 535-539.
- Bal, U. 2002. Domateste (*Lycopersicon esculentum* Mill.) izole edilmiş mikrospor kültürü, ovaryum kültürü ve *Solanum sisymbriifolium* Lam. ile tozlama yöntemleri ile haploid embriyo oluşumunun uyarılması. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, Tekirdağ, 156s.
- Başay, S., Ellialtıoğlu Ő. Şeniz V. 2010. Yerli ve yabancı patlıcan çeŐitlerinde anter kültürü yoluyla haploid embriyo oluşumu. VIII. Sebze Tarımı Sempozyumu, 23-26 Haziran 2010, Van. Bildiri Kitabı (Eds, YaŐar F., avuŐođlu Ő., Biim M.) pp. 588-590.
- Başay, S., Ellialtıoğlu Ő.Ő. 2013. Effect of genotypical factors on the effectiveness of anther culture in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Turkish Journal Biology*, 37: 499-505.
- Başay, S., Şeniz V., Tezcan H. 2011. Reactions of selected eggplant cultivars and lines to *Verticillium* wilt caused by *Verticillium dahliae* kleb., *Afr. J. Biotechnol.* 10 (18): 3571-3573
- Bhojwani, S.S., and Razdan, M.K. 1996. Haploid Production. *Studies in Plant Science*, 5. Plant Tissue Culture: Theory and Practice, A Revised Edition. Elsevier.
- Bhowmik, P., Dirpaul, J., Polowick, P., Ferrie, A. 2011. A high throughput *Brassica napus* microspore culture system: influence of percoll gradient separation and bud selection on embryogenesis. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 106: 359-362.
- Binarova, P., Hause, G., Cenklova, V., Cordewener, J. H., Campagne, M. L. 1997. A short severe heat shock is required to induce embryogenesis in late bicellular pollen of *Brassica napus* L. *Sexual plant reproduction*, 10(4), 200-208.
- Blakeslee, A.F., Belling, J., Farnham, M.E. and Bergner, A.D. 1922. A haploid mutant in the Jimson weed *Datura stramonium*. *Science* 55: 646-647.
- Bourgin, JP., Nitsch JP. 1967. Obtention de *Nicotiana* haploids à partir d'etamines cultivées *in vitro* . *Ann Physiol Veg* 9:377-382
- Boyacı, H. F. 2007. Patlıcanlarda fusarium solgunluğuna dayanıklılık kaynakları ve dayanıklılığın kalıtımı. ukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana, 97 syf.
- Boyacı, HF., Topçu V, Abak K., 2010. Burdur Gl Patlıcanı Populasyonlarında Morfolojik özelliklerde eŐitlilik. VIII. Sebze Tarımı Sempozyumu, 23-26 Haziran, Van, 255-260.
- Bravo, L., 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), pp.317-333.
- Büyükalaca, S., mlekioğlu, N., Abak, K., Ekbi, E., Kılıç, N. 2004. Effect of silver nitrate and donor plant growing conditions on production of pepper (*Capsicum annum* L.) haploid embryos via anther culture. *Europ. J. Hort. Sci*, 69(5), 206-209.

- Cham, B.E. 2007. Solasodine rhamnosyl glycosides specifically bind cancer cell receptors and induce apoptosis and necrosis, treatment for skin cancer and hope for internal cancers. *Research Journal of Biological Sciences* 2:503-514
- Chambonnet, D. 1988. Production of haploid eggplant plants. Bulletin interne de la Station d'Amelioration des Plantes Maraicheres d'Avignon-Montfavet, Paris, pp 1-10
- Chambonnet, D. 1985. Culture D'antheres *in vitro* chez trois *Solanaceaes* maraicheres: le piment (*Capsicum annuum* L.), l'aubergine (*Solanum melongena* L.), la tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) et obtention de plantes haploides. Academie de Montpellier, Doktora Tezi, 90 s.
- Chen, Y., Kenaschuk, E., and Procnier, J.D., 1998. Plant Regeneration from Anther Culture in Canadian cultivars of Flax (*Linum usitatissimum* L.). *Euphytica*, 102: 183-189.
- Choudhury, B., 1995. Eggplant (Evolution in Crop Plants edited by Smartt, J., and Simmonds, N.W.), pp.464-465.
- Cistue, L., Ramos, A., Castillo, A.M., and Romagosa, I., 1994. Production of Large Number of Doubled Haploid Plants from Barley Anthers Pretreated with High Concentrations of Mannitol. *Plant Cell Reports*, 13: 709-712.
- Coleman, A. W., Goff, L. J. 1985. Applications of fluorochromes to pollen biology. I. Mithramycin and 4', 6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) as vital stains and for quantitation of nuclear DNA. *Stain technology*, 60(3), 145-154.
- Collonnier, C., Fock, I., Kashyap, V., Rotino, G.L., Daunay, M.C., Lian, Y., Mariska, I.K., Rajam, M.V., Servaes, A., Ducreux, G., Sihachakr, D., 2001. "Applications of Biotechnology in eggplant", *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Vol.65, pp.91-107.
- Çömlekçioğlu, N., Buyukalaca, S., Abak, K. 2001. Effect of silver nitrate on haploid embryo induction by anther culture in pepper (*Capsicum annuum* L.). In XIth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of capsicum and eggplant, Antalya, Turkey (pp. 133-136).
- Corral-Martinez P., Segui-Simarro J.M. 2012. Efficient production of callus-derived doubled haploids through isolated microspore culture in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Euphytica* 187: 47-61.
- Corral-Martinez, P. and Segui-Simarro, J.M. 2014. Refining the method for eggplant microspore culture: effect of abscisic acid, epibrassinolide, polyethylene glycol, naphthaleneacetic acid, 6-benzylaminopurine and arabinogalactan proteins. *Euphytica*, 195: 369-382.
- Çetinkaya Ş. 2009. Örtüaltı Patlıcan Yetiştiriciliği. BATEM. Antalya. 104:7-9.
- Darlington, C.D., and La Cour, L.F., 1963. Methoden der Chromosomen Untersuchungen. Frankische Verlagshandlung. W. Kellerund Ca. Stutgard.
- Daunay, M.-C., Dalmon, A., Lester, R.N., 1999. Management of a collection of *Solanum* species for eggplant (*Solanum melongena*) breeding purposes (*Solanaceae* IV edited by Nee, M., Symon, D.E., Lester, R.N., & Jessop, J.P., *Royal Botanic Gardens, Kew*), pp. 369-383.

- Daunay, M.C., Janick, J., and Laterrot, H. 2007. Iconography of the *Solanaceae* from Antiquity to the 17th Century: A Rich Source of Information on Genetic Diversity and Uses. 6th International Solanaceae Conference, Genomics meets Biodiversity, Madison (WIS), *Acta Hor.*, July 23-27, 2006.
- Daunay, M.C., Lester, R.N., Gebhardt, C.H., Hennart, J.W., Jahn, M., Frary, A. and Doğanlar, S., 2001. Genetic Resources of Eggplant (*Solanum melongena* L.) and Allied Species: A New Challenge for Molecular Geneticists and Eggplant Breeders (*Solanaceae* V edited by Van Den Berg, R.G., Barendse, G.W. and Mariani, Nijmegen University Press, Nijmegen, The Netherlands), pp. 251–274 .
- Daunay, M.C. and Jules J. 2007. "History and iconography of eggplant." *Chronica Horticulturae* 47, no. 3: 16-22.
- Dias, J.C.D. 2003. Protocol for broccoli microspore culture. In: *Doubled Haploid Production in Crop Plants*. Springer Netherlands. p. 195-204.
- Doğanlar, S., Farry A., Daunay M.C., Lester R.N., Tanksley S.D. 2002. Conservation of gene function in the Solanaceae as revealed by comparative mapping of domestication traits in eggplant. *Genetics*, 161: 1713-1726.
- Doksöz, S. 2015. *In vitro* androgenesis yöntemi ile farklı patlıcan genotiplerinde dihaploid hatların elde edilmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Tokat, 49 syf.
- Dolcet-Sanjuan, R., Claveria, E. and Huerta, A. 1997. Androgenesis in *Capsicum annuum* L. effects of carbohydrate and carbon dioxide enrichment. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 122 (4): 468–475.
- Doll, R. 1990. "An overview of the epidemiological evidence linking diet and cancer." *Proceedings of the Nutrition Society* 49, no. 02: 119-131.
- Dumas de Vaulx R., Chambonnet D. 1982. Culture *in vitro* d'antheres d'aubergine (*S. Melongena* L.); Stimulation de la production de plantes qu moyen de traitements a 8 +35°C associes a de faibles teneurs en substances de croissance. *Agronomie*, 2 (10): 983-988.
- Dumas de Vaulx R., Chambonnet D., Pochard E. 1981. *In vitro* anther culture in red pepper (*Capsicum annuum* L.): improvement of the rate of plant production in different genotypes by treatments at 35 °C. *Agronomie*, 1:859–864.
- Dunwell J.M. 1976. A comparative study of environmental and developmental factors which influence embryo induction and growth in cultured anthers of *Nicotiana tabacum*. *Envir. And Exp. Bot.* 16: 109-118.
- Dunwell, F. F. 1991. *The Hudson River Highlands*. Columbia University Press.
- Dunwell, J. M. 1985. Anther and ovary culture. In *Cereal tissue and cell culture* (pp. 1-44). *Springer*, Dordrecht.
- Dunwell, J. M., Perry, E. 1973. The influence of *in vivo* growth conditions of *N. tabacum* plants on the *in vitro* embryogenic potential of their anthers. *John Innes Inst. Rep*, 64, 69-70.
- Ekiz, H., Boyacı H.F. 2001. Pepper and eggplant varieties in greenhouses on the coast of mediterranean in Antalya. XIth Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant, 9-12 April, Antalya, 241-245.

- Ellialtıoğlu, Ő., Başay, S., KuŐvuran, Ő. 2012. Patlıcanda polen dimorfizmi ve anter kŐltŐrŐ i liŐkisinin incelenmesi. TABAD, 5: 149–152.
- Ellialtıoğlu, Ő. 2005. Domates ve Patlıcanda Anter KŐltŐrŐ Yoluyla Haploid Bitki Oluşumunu Etkileyen Bazı Faktörler Őzerinde Araştırmalar. TŐrkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu destekli Proje No: TOGTAG-2607 (Yayınlanmamış Proje).
- Ellialtıoğlu, Ő., Başay S., KuŐvuran, Ő. 2006. Anter KŐltŐrŐnden Elde Edilen Haploid Patlıcanların Katlanması Amacıyla Kullanılan *in vitro* ve *in vivo* Kolhisin Uygulamalarının Karşılaştırılması. VI. Sebze Tarımı Sempozyumu, Kahramanmaraş, 19-22 EylŐl, pp.386-390.
- Ellialtıoğlu, Ő., Sarı, N., Abak, K. 2001. Bitki Biyoteknolojisi-I Doku KŐltŐrŐ ve Uygulamaları. Haploid Bitki Őretimi, M. Babaoğlu, E. GŐrel, S. Őzcan, S.Ő.Vakfi Yayınları, Konya, (374 sayfa) pp.137-189.
- Ellialtıoğlu, Ő.Ő., Tıpırdamaz, R., 1999. Patlıcan Anter KŐltŐrŐnde Absizik Asit Miktarını Azaltıcı Uygulamaların Androjenetik Embriyo Oluşumuna Etkisi. Biyoteknoloji (*KŐkem*) Dergisi, Cilt:24, Sayı:1, pp.23-32.
- Ellialtıoğlu, Ő., Başay, S., KuŐvuran, Ő. 2012. Patlıcanda polen dimorfizmi ve anter kŐltŐrŐ i liŐkisinin incelenmesi. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, (1), 149-152.
- Emiroğlu, Ő. 1982. Haploidi ve bitki ıslahındaki Önemi. Ege Őniversitesi Ziraat FakŐltesi Yayınları, yardımcı ders kitabı, Ofset Basım Evi, Bornova, İzmir, 38s.
- Er, C. 1992. Bitki ıslahında doku kŐltŐrleri. T.C. Tarım ve KŐyiŐleri Bakanlığı Yayını, Ankara, 83 s.
- Eti S. 1987. Őber das Pollenschlauchwachstum und die Entwicklung der Samenanlagen in Beziehung zum Frauchtansatz und zur Fruchtqualitaetbei der Mandarinensorte "Clemantine" (*Citrus reticulata* Blanco). Dissertation Univ. Hohenheim. 127 s.
- Fadel, F., Wenzel, G. 1990. Medium-genotype-interaction on androgenetic haploid production in wheat. *Plant Breeding*, 105(4), 278-282.
- Ferrie, A.M.R. and Caswell, K.L. 2011. Isolated microspore culture techniques and recent progress for haploid and doubled haploid plant production. *Plant Cell Tiss Organ Cult.*, 104:301–309.
- Ferrie, A.M.R. and Keller, W.A. 1995 Microspore Culture for Haploid Plant Production. In:Gamborg OL, Phillips GC (eds) *Plant Cell, Tissue and Organ Culture: Fundamental Methods*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp 155-164.
- Ferrie, A.M.R. and Keller, W.A. 1997. Production of Haploids in Brassica spp. via Microspor Culture. *Plant Tissue Culture Manuel*, E6: 117. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Finnie, S. J., Powll, W., Dyer, A. F. 1989. The effect of carbohydrate composition and concentration on anther culture response in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant breeding*, 103(2), 110-118.
- Foroughi-Wehr, B., Friedt, W., and Wenzel, G. 1982. On the genetic improvement of androgenetic haploid formation in *Hordeum vulgare* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 62(3), 233-239.

- Frery, A., Doğanlar, S. and Daunay, M.C. 2007. "Eggplant", Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants, Vol.5, pp.231-257.
- Galenbus, V.L. 1951. Anadolu patlıcanları. Türkiye'nin Zirai Bünyesi (Anadolu). Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. Neşriyatı No. 20. s.738-745
- Gamborg, O.L., Miller, R.A. and Orjima, K. 1968. Nutrient Requirement of Suspension Cultures of Soybean Root Cells. *Experimental Cell Research*, 50: 150-158.
- Geboloğlu, N., Boncukçu, S. D., Durna, P., ve Bayram, M. 2017. Patlıcanda şeker, bal ve büyüme düzenleyicilerin anter kültüründe embriyoid oluşumuna etkisi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 6, 275-280.
- Gönülşen, N. 1987. Bitki doku kültürleri yöntemleri ve uygulama alanları. Ege Tar. Arş. Ens. Md. Yayınları, 78.
- Gu, S.R. 1979. Plantlets from isolated pollen culture of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Acta Bot. Sin.* 21: 30-36.
- Guha, S. and Maheshwari, S. 1964. *In vitro* production of embryos from anthers of *Datura*. *Nature*, 204: 497.
- Guo, Y.-D., and Pulli, S. 2000. Isolated Microspore Culture and Plant Regeneration in Rye (*Secale cereale* L.). *Plant Cell Reports*, 19: 875-880.
- Guo, Y.-D., Sewon, P., and Pulli, S. 1999. Improved Embriyogenesis from Anther Culture and Plant Regeneration in Timothy. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 57: 85-93.
- Günay, A. 1992. Özel Sebze Yetiştiriciliği. A.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Ankara. Cilt:4. S:6
- Gürel, A., Hayta Ş., Nartop P., Bayraktar M. ve Fedakar S.O. 2013. Bitki Hücre, Doku ve Organ Kültürü Uygulamaları. Ege Üniv. Yayınları Müh. Fak. Yayın No: 58, Ders Kitabı, İzmir, 221 s.
- Güvenç İ. 2016. Sebzeçilik: Temel Bilgiler Muhafaza ve Yetiştiricilik. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi-Bahçe Bitkileri Bölümü, Avşar Kampüsü, Kahramanmaraş, pp.206
- Hagberg, A. and Hagberg, G. 1980. High frequency of spontaneous haploids in the progeny of an induced mutation in barley. *Hereditas*, Sweden, 93(2), 341-343.
- Hansson B. 1978. Temperature shock a method of increasing the frequency of embryoid formation in anther culture of swedc rape (*Brassica napus* L.) *Sver. Utsüdesfören. Tidskr.*, 88 (3), 141-148.
- Hatipoğlu, R. 1999, Bitki Biyoteknolojisi, Ç.Ü.Z.F. Genel Yayın, Adana, pp.1-178
- Heberle-Bors, E. 1985. *In vitro* haploid formation from pollen: a critical review. *Theoretical and applied genetics*, 71(3), 361-374.
- Heidstra, R., Yang, W.C., Yalcin, Y., Peck, S., Emons, A., Kammen, A. and Bisseling, T. 1997. Ethylene provides positional information on cortical cell division but is not involved in Nod factorinduced root hair tip growth in Rhizobium-legume interaction. *Development* (127): 1781-1787.
- Hoekstra, S., van Zijderveld, M.H., Louwerse, J.D., Heidekamp, F. and van der Mark, F. 1992. Anther and microspore culture of *Hordeum vulgare* L. cv. Igri. *Plant Science*, 86: 89-96.

- Holme, I.B., Olesen, A., Hansen, N.J.P., and Andersen, S.B. 1999. Anther and Microspore Culture Response of Wheat Lines from Northwestern and Eastern Europe. *Plant Breeding*, 118: 111-117.
- Hosemans, D., Bossoutrot, D. 1983. Induction of haploid plants from *in vitro* culture of unpollinated beet ovules (*Beta vulgaris* L.) *Z. Pflanz.*, 91:74-77.
- Isouard, G, Raquin, C, Demarly, Y. 1979. Obtention de plantes haploides et diploides par culture *in vitro* d'anthers d'aubergine (*Solanum melongena* L.). C R Acad Sci Paris 288: 987-989
- Kakizaki, Y. 1931. Hybrid vigor in eggplants and its practical utilization. *Genetics* 16:1-25
- Kaloo, G. 1993. Eggplant (*Solanum melongena* L.). Genetic improvement of vegetable crops. Pergamon Press, pp 587-604.
- Karakullukçu, Ş. 1991. Değişik Patlıcan Genotiplerinde *in vitro* Androgenesis ve Haploid Bitki Oluşumunu Uyarıcı Bazı Etmenler Üzerinde Araştırmalar. Ankara
- Karakullukçu, Ş., Abak, K. 1993a. Patlıcanda anter kültürü üzerinde araştırmalar. I. Elverişli tomurcuk gelişim döneminin belirlenmesi. *Doğa TU Agric. Forestry* 17: 801-810.
- Karakullukçu, Ş., Abak, K. 1993b. Patlıcanda anter kültürü üzerinde araştırmalar. II. Şeker ve büyümeyi düzenleyicilerin etkileri. *Doğa TU Agric. Forestry* 17: 811-820.
- Karakullukçu, Ş., Abak, K. 1992. Bazı Patlıcan Çeşitlerinin Anter Kültürüne Tepkileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı, Cilt:42, Fas.:1-2-3-4, pp.7-12.
- Kasha, K.J. ve Kao, K.N. 1970. High Frequency Haploid Production in Barley (*Hordeum vulgare* L.) *Nature* (Lond.), 225:874-876.
- Kashyap, V., Kumar, S.V., Collonnier, C., Fusari, F., Haicour, R., Rotino, G.L., Sihachakr, D., Rajam, M.V. 2003. "Biotechnology of eggplant". *Scientia Horticulturae*, Vol.97, pp.1-25.
- Kasperbauer, M. J. and Wilson, H. M. 1979. Haploid plant production and use. In: Durbin, R. D (Ed.). *Nicotiana procedures for experimental use*. Washington, DC: USDA Technol. Bul. 1586. pp. 33-39.
- Kaygısız, H. 2000. Sebzeçilik. Hasad Yayıncılık, 2. Baskı ss:204 Sayfa: 161-182.
- Keller, W. A., Armstrong, K. G. 1979. Stimulation of embryogenesis and haploid production in *Brassica campestris* anther cultures by elevated temperature treatments. *Theor. appl. Genet.*, 55, 65-67.
- Kermicle, J. L. 1969. Androgenesis conditioned by a mutation in maize. *Science*, 166 (3911), 1422-1424.
- Khan, R. 1979a. *Solanum melongena* and its ancestral forms. P. 629-636 In: J.G. Hawkes, R.N. Lester and A.D. Skelding (eds.), *Solanaceae I. The Biology and Taxonomy of the Solanaceae*. Academic Press, pub. for the Linnean Society of London.
- Khan, R. 1979b. *Solanum melongena* and the problem of its origin and phylogenetic affinities. *J. Indian Bot. Soc.* 58 (2): 99-109.
- Khan, R. 1979c "The biology and taxonomy of the Solanaceae." *The Biology and Taxonomy of the Solanaceae*.

- Kim, M., Jang, I-C., Kim, J., Park, E-J., Yoon, M., and Lee, K-M. 2008. Embryogenesis and plant regeneration of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) through isolated microspore culture. *Cell Biology and Morphogenesis*, 27 (3): 425-434.
- Kim, M., Kim, J., Yoon, M., Choi, D-I and Lee, K-M. 2004. Origin of multicellular pollen and pollen embryos in cultured anthers of pepper (*Capsicum annuum*). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 77(1):63-72.
- Kiviharju, E., and Pehu, E. 1998. The effect of cold and heat pretreatments on anther culture response of *Avena sativa* and *A. sterilis*. *Plant cell, tissue and organ culture*, 54(2), 97-104.
- Knapp, S., Bohs, L., Nee, M., Spooner, D.M. 2004. "Solanaceae – a model for linking genomics with biodiversity", *Comp Funct Genom*, Vol.5, pp.285-291.
- Kott, L.S., Polsoni, L., Ellis, B., and Beverdorf, W.D. 1988. Autotoxicity in Isolated Microspore Cultures of *Brassica napus*. *Canadian Journal of Botany*, 66: 1665-1670.
- Kuo K-W, Hsu S-H, Li Y-P, Lin W-L, Liu L-F, Chang L-C, Lin C-C, Lin C-N, Sheu H-M. 2000 Anticancer activity evaluation of the Solanum glycoalkaloid solamargine: triggering apoptosis in human hematoma cells. *Biochemical Pharmacology* 60:1865-1873
- Kyo, M., & Harada, H. (1985). Studies on conditions for cell division and embryogenesis in isolated pollen culture of *Nicotiana rustica*. *Plant physiology*, 79(1), 90-94.
- Lawande, K.E., and Chavan, J.K. 1998. Eggplant (Brinjal) (Handbook of Vegetable Science and Technology edited by Salunkhe, D.K., Kadam, S.S.), pp.225-243
- Lichter, R. 1981. Anther culture of *Brassica napus* in a liquid culture medium. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 103(3), 229-237.
- Maheswari, S.C., Rashid, A. Ve Tyagi, A.K. 1982. Haploids from Pollen Grains-Retrospect and Prospect. *American Journal of Botany*. 69 (5):865-879.
- Misra, N.R., Varghese, T.M., Maherchandani, N., Jain, R.K. 1983. Studies on induction and differentiation of androgenic callus of *Solanum melongena* L. In: Sen SK, Giles KL (eds) *Plant cell culture in crop improvement*. Plenum, New York, NY, pp 465–468
- Mityko, J, Andrasfalvy, A, Csillery, G, Fari, M. 1995. Anther culture response in different genotypes and F1 hybrids of pepper (*Capsicum annuum* L). *Plant Breed* 114:78–80
- Miyoshi, K. 1994. Efficient callus induction and subsequent plantlet formation from isolated microspore of eggplant (*Solanum melongena* L.). In: V In Intern. Congr. of Plant Tissue and Cell Culture, Fransa, 12-17 Haziran, Abstract S3-25, p. 87.
- Morrison, R.A., Koning, R.E. and Evans, D.A. 1986. Anther culture of an interspecific hybrid of *Capsicum*. *Journal of Plant Physiology*, 126 (1): 1-9.
- Mueller, L.A., Solow, T.H., Taylor, N., Skwarecki, B., Buels, R., Binns, J., Lin, C., Wright, M.H., Ahrens, R., Wang, Y., Herbst, E.V., Keyder, E.R., Menda, N., Zamir, D., ve Tanksley, S.D. 2005. "The SOL Genomics Network. A Comparative Resource for Solanaceae Biology and Beyond", *Plant Physiology*, Vol.138, pp. 1310-1317.

- Murashige, T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiol. Plant*, 15: 473-497.
- Nadkarni, K.M. 1927. Indian Materia Medica. Bombay.
- Nitsch, C. 1981. Production of Isogenic Lines: Basic Technical Aspects of Androgenesis (E. and A. Thorpe, editors). Plant Tissue Culture, Methods and Applications in Agriculture. Academic Press. P: 241-252.
- Nitsch, C. 1981. Production of Isogenic Lines: Basic Technical Aspects of Androgenesis (E. and A. Thorpe, editors). Plant Tissue Culture, Methods and Applications in Agriculture. Academic Press. P: 241-252.
- Nitsch, J.P. and Nitsch, C. 1969. Haploid plants from pollen grains. *Science*, 163: 85-87.
- Nothmann, J. 1986. Eggplant (CRC Handbook of Fruit Set and Development edited by Monselise, S.P.), pp. 145-152.
- Nowaczyk, P. and Kisińska, A. 2006. Effect of selected factors on the effectiveness of *Capsicum annuum* L. anther culture. *Journal of Applied Genetics*, 47(2): 113-117.
- Özdemir, B. 2012. Patlıcan (*Solanum melongena* L.)'da mikrospor kültüründe ovaryum ko-kültür yönteminin haploid embriyo oluşumunun uyartılması üzerine etkisi. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Antalya, 63s.
- Özdemir-Çelik, B. 2018. Farklı Uygulamaların Patlıcan (*Solanum Melongena* L.)'da Mikrospor Kültürü ile Haploid Embriyo Ve Bitki Üretimi Üzerine Etkileri. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Antalya, 86 s.
- Özzambak, E., Atasayar, A. 1994. Anther culture of Tomatoes and Eggplants. *Acta-Horticulturae*, 336:229-233.
- Paksoy, M., Ellialtıoğlu, S., Sari, N., Abak, K. 1995. Factors effecting *in vitro* culture of the anthers of some Brassica species. *Turkish Journal of Botany* (Turkey).
- Parra-Vega, V. Gonzalez Garcia, B. and Segui Simarro, J.M. 2013. Morphological markers to correlate bud and anther development with microsporogenesis and microgametogenesis in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(2):627-633.
- Pelletier, G., Henry, Y. 1974. Cold pretreating on flower buds of *Nicotiana tabacum* L. Haploid Information Service, 10, 5-8.
- Pierik, R.L.M. 1989. *In Vitro* Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 344 pages.
- Pochard, E. and Dumas de Vaulx R. 1971. Monoploidie Chez Le Piment (*Capsicum Annuum* L.); Realisation Pratique D'un Cycle De Selection Accelere Par Passage A L'etate Monoploide En Troisieme Generation. *Z. Pflanzenzüchtg.*, 65, s: 23-46.
- Porcelli, S. 1986. Problemi e prospettive della melanzana. Cenni introduttivi. *Agricoltura Ricerca* 60: 1-2.
- Prem, D., Gupta, K., Agnihotri, A. 2005. Effect of various exogenous and endogenous factors on microspore embryogenesis in Indian mustard (*Brassica juncea* L., Czern & Coss). *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 41: 266-273.
- Raigon, Maria D., Jaime Prohens, Julio E. Munoz-Falcon, Fernando Nuez. 2008. "Comparison of eggplant landraces and commercial varieties for fruit

- content of phenolics, minerals, dry matter and protein." *Journal of food composition and analysis* 21, no. 5: 370-376.
- Raina, S.K., Iyer, R.D. 1973. Differentiation of diploid plants from pollen callus in anther cultures of *Solanum melongena* L.. *Z Pflanzenzücht*, 70:275–280.
- Raquin, C. 1983. Utilization of different sugars as carbon source for *in vitro* anther culture of Petunia. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 111(5), 453-457.
- Research Group of Haploid Breeding. 1978. Induction of haploid plants of *Solanum melongena* L.. Proceedings of the "symposium on plant tissue culture, Pekin, 25-30 Mayıs, Sci. Press, pp.227-232.
- Rihova, L., and Tupy, J. 1999. Manipulation of Division Symmetry and Development al Fate in Cultures of Potato Microspores. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 59: 135-145.
- Rivas-Sendra, A., Campos-Vega, M., Calabuig-Serna, A., and Segui-Simarro, J. M. 2017. Development and characterization of an eggplant (*Solanum melongena*) doubled haploid population and a doubled haploid line with high androgenic response. *Euphytica*, 213:89.
- Rotino, G., Falavigna, A., Fiume, F., Nervo, G., Restaino, F. 1987b. Possibility of eggplant (*Solanum melongena* L.) improvement through *in vitro* techniques. *Genetica Agraria, Roma*, Vol: XLI, N:3: 314-315.
- Rotino, G., Falavigna, A., Restaino, F. 1987a. Production of anther-derived plantlets of eggplant, *Capsicum Newsletter*, 6: 89-90.
- Rotino, G.L. 1996. Haploidy in eggplant. In: Jain, S.M., Sopory, S.K., Veilleux, R.E. (Eds.), *In vitro* Production in Higher Plants, vol. 3. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 115–141.
- Rotino, G.L. 2016. Anther Culture in Eggplant (*Solanum melongena* L.): Maria Antonietta Germanà and Maurizio Lambardi (eds.), *In Vitro* Embryogenesis in Higher Plants, *Methods in Molecular Biology*, vol. 1359, DOI 10.1007/978-1-4939-3061-6_25, © Springer Science+Business Media New York, pp. 453-466.
- Saji, K.V., and Sujatha, M. 1998. Embriyogenesis and Plant Regeneration in Anther Culture of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Euphytica*, 103: 1-7.
- Saji, K.V., and Sujatha, M. 1998. Embriyogenesis and Plant Regeneration in Anther Culture of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Euphytica*, 103: 1-7.
- Salas, P., Prohens, J. and Segui-Simarro, J.M. 2011. Evaluation of androgenic competence through anther culture in common eggplant and related species. *Euphytica*, 182:261–274.
- Salas, P., Rivas-Sendra, A., Prohens, J. and Segui-Simarro, J.M. 2012. Influence of the stage for anther excision and heterostyly in embryogenesis induction from eggplant anther cultures. *Euphytica*, 184:235–250.
- Salas, P., Rivas-Sendra, A., Prohens, J. and Segui-Simarro, J.M. 2012. Influence of the stage for anther excision and heterostyly in embryogenesis induction from eggplant anther cultures. *Euphytica*, 184:235–250.

- Sangwaan, R.S. and Sangwaan-Norrel B.S. 1990 Anther and Pollen Culture. In: Bhojwani S.S. (ed), Plant Tissue Culture: Applications and Limitations, Elsevier Science Publ. Amsterdam, s.220-242
- Sangwan, R. S., Camefort, H. 1978. Action d'un choc thermique sur le contenu en acides amines des antheres et des grains de pollen embryogenes du *Datura metel* L. et du *Nicotiana tabacum* L. Comptes rendus hebdomadaires des seances. Serie D. Sciences naturelles.
- Scott, P., Lyne, R. L., Ap Rees, T. 1995. Metabolism of maltose and sucrose by microspores isolated from barley (*Hordeum vulgare* L.). *Planta*, 197(3), 435-441.
- Segui-Simarro, J.M. and Nuez, F. 2005. Meiotic metaphase I to telophase II is the most responsive stage of microspore development for induction of androgenesis in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Acta Physiol Plant*, 27:675–685.
- Segui-Simarro, J.M., Corral-Martinez, P., Parra-Vega, V. and Gonzalez-Garcia, B. 2011. Androgenesis in recalcitrant solanaceous crops. *Plant Cell Rep*, 30(5): 765-778.
- Sekara, A., Cebula, S. ve Kunicki, E. 2007. Cultivated eggplants – origin, breeding and genetic Resources, a review. *Folia Hort*. 19: 97–114.
- Silva Lauxen, M., Kaltchuk-Santos, E., Hu, C.Y., Callegari-Jacques, S.M. and Bodanese-Zanettini, M.H. 2003. Association between floral bud size and developmental stage in soybean microspores. *Brazilian Archives of Biology and Technol*, 46: 515–520.
- Smykal, P. 2000. Pollen embryogenesis – the stress mediated switch from gametophytic to sporophytic development. Current status and future prospects. *Biol Plant*, 43: 481–489.
- Soriano, M., Cistue, L., Valles, M.P. and Castillo, A.M. 2007. Effects of colchicine on anther and microspore culture of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant, Cell, Tissue and Organ Culture*, 91: 225-234.
- Stösser, R., Kaşka, N., Anvari, S. F., Eti, S. 1985. Bahçe Bitkilerinde Döllenme Biyolojisi Uygulamalı Kurs Notları, 18-22 Mart 1985, Adana (Yayınlanmamış).
- Summers, W.L., Jaramillo, J., and Bailey, T. 1992. Microspore Developmental Stage and Anther Length Influence the Induction of Tomato Anther Callus. *Hortscience*, 27 (7): 838-840.
- Sunderland, N., Dunwell, M. 1977. Anther and pollen culture. In: “Plant Tissue and Cell Culture” , Street, H.E., (ed.),Blackwell Publ., pp: 223-265.
- Supena, E.D.J. Ve Custers, J.B. 2011. Refinement of shed-microspore culture protocol to increase normal embryos production in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Scientia Horticulturae*, 130(4):769-774
- Supena, E.D.J., Muswita, W., Suharsono, S. and Custers, J.B. 2006a. Evaluation Of Crucial Factors For Implementing Shed-Microspore Culture of Indonesian hot pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 107(3):226-232.
- Supena, E.D.J., Suharsono, S., Jacobsen, E. and Custers, J.B. 2006b. Successful development of a shed-microspore culture protocol for doubled haploid production in Indonesian hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Cell Reports*, 25 (1): 1-10.

- Terziođlu, Ő., Ellialtıoğlu, Ő., Abak, K. 2000. İnkübasyon koşullarının biber anter kùltüründe embriyo oluşumu üzerine etkisi. III. Sebze Tarımı Sempozyumu, 11-13.
- Thomas, T.D. 2008. The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotechnology Advances*, 26 (6):618-631.
- Tuberosa, R., Sanguinetti, M. C., Conti, S. 1987. Anther culture of Eggplant (*Solanum melongena* L.) Lines and Hybrids. *Genetica Agraria* 41: 267-274.
- Tulecke W. 1953. A Tissue Derived From the Pollen of *Gingko Biloba*. *Science*, 117:599-600.
- Vagera, J. and Havranek P. 1985. *In vitro* induction of androgenesis in *Capsicum annuum* L. and its genetic aspects. *Biologia Plantarum* 27 (1): 10-21.
- Vergne, P., Delvallee, I. and Dumas, C. 1987. Rapid Assessment of Microspor and Pollen Development Stage in Wheat and Maize Using DAPI and Membrane Permeabilization. *Stain Technology*, 62: 299-304.
- Yeung E.C. and Thorpe A.T. 1981. *In vitro* Fertilisation and Embriyo Culture. In: Thorpe A.T. (ed) *Plant Tissue Culture, Methods and Applications in Agriculture*. Academic press. Inc. Newyork, 253-271.
- Yorgancılar, Ö., Yorgancılar, A., Dikmen, S., Dikmen, S., Çarıkçı, M., Evcen, F., Van, F., Uzun, P , Yumurtacı, A , Kutlu, İ , Sirel, Z . 2016. Buğdayda F2 Generasyonunda Anter Kùltürü Tekniği Kullanılarak Saf Hatların Elde Edilmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25 (ÖZEL SAYI-1), 237-242. DOI: 10.21566/tarbitderg.280498
- Zhou, H., Zheng, Y. and Konzak, C.F. 1991. Osmotic Potential of Media Affecting Green Plant Percentage İn Wheat Anther Culture. *Plant Cell Reports*, 10 (2):63-66.

ÖZGEÇMİŞ

GÜLSÜN ELİF VURAL

gelifvural@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans (2016-2019)	Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Antalya
Lisans (DGS) (2014-2016)	Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri, Antalya
Önlisans (2007-2009)	Yalova Üniversitesi, Peyzaj ve Süs Bitkileri Bölümü Yalova

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Laboratuvar Sorumlusu 2016-Halen	Antalya Tarım A.Ş. Gaziler/ANTALYA
Laboratuvar Sorumlusu 2010-2012	Masterplant A.Ş. Mustafa Kemal Paşa/BURSA

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- ÖZSAN, T., VURAL, G.E., GÖZEN V., ONUS, A.N. 2018. 'In Vitro Micro Tuber Formation in Potato (*Solanum tuberosum* L.): is there any relation between Methyl Jasmonate, Sugars and Explants?', International Journal of Biotech Trends and Technology, vol.8, pp.1-8, 2018

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1. ÖZSAN, T., VURAL, G.E., ONUS, A.N. 2017. 'Patateste (*Solanum Tuberosum* L.) *in vitro* Tohumluk Mikro Yumru Oluşumu', 6. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, Adana, Türkiye, 5-7 Ekim 2017, ss:59-59
2. ÖZSAN, T., VURAL, G.E., ONUS, A.N. 2017. 'Kök Kerevizinde (*Apium graveolens* L.) Metil Jasmonat ve Aktif Kömürün *in vitro* Etkisi', Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Dergisi, ss:1-5., 2017