T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

MAS (MOLEKÜLER MARKÖR YARDIMIYLA SELEKSİYON) VE ANTER KÜLTÜRÜ KULLANILARAK YAMULA PATLICANDA *FUSARİUM OXYSPORUM* SCHLECHT. F. SP. *MELONGENAE'*YE DAYANIMIN AKTARILMASI

Hazırlayan
Hasan KEKEÇ

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Hasan PINAR

Yüksek Lisans Tezi

Eylül 2019
KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

MAS (MOLEKÜLER MARKÖR YARDIMIYLA SELEKSİYON) VE ANTER KÜLTÜRÜ KULLANILARAK YAMULA PATLICANDA *FUSARİUM OXYSPORUM* SCHLECHT. F. SP. *MELONGENAE'*YE DAYANIMIN AKTARILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Hasan KEKEÇ

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Hasan PINAR

Eylül 2019
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

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

Hasan KEKEÇ



YÖNERGEYE UYGUNLUK

"MAS (Moleküler Markör Yardımıyla Seleksiyon) ve Anter Kültürü Kullanılarak Yamula Patlıcanda *Fusarium oxysporum* Schlecht. F. Sp. *Melongenae'* ye Dayanımın Aktarılması" adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi' ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Hasan KEKEÇ

Danışman

Dr. Öğr. Üy. Hasan PINAR

Bahçe Bitkileri Bölümü A.B.D. Başkanı

Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

KABUL-ONAY

Dr. Öğr. Üy. Hasan PINAR danışmanlığında **Hasan KEKEÇ** tarafından hazırlanan "**MAS (Moleküler Markör Yardımıyla Seleksiyon) ve Anter Kültürü Kullanılarak Yamula Patlıcanda *Fusarium oxysporum* Schlecht. F. Sp. *Melongenae'* ye Dayanımın Aktarılması**" adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Bahçe Bitkileri** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

13/09/2019

JÜRİ:

Danışman : Dr. Öğr. Üy. Hasan PINAR .....

Üye : Dr. Öğr. Üy. Nihat YILMAZ .....

Üye : Dr. Öğr. Üy. Fatih HANCI .....

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 17/09/2019 tarih ve 2019/53-15 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

17/09/2019

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca farklı bakış açıları ve bilimsel katkılarıyla beni aydınlatan, yönlendiren, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü laboratuvarlarında bana çalışma imkânı sağlayan danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üy. Hasan PINAR' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı hocalarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmamın en yoğun zamanlarında katkı ve desteklerini esirgemeyen Bahçe Bitkileri Doku Kültürü ve Moleküler Laboratuvarı ekip arkadaşlarım Merve A.YİĞİT ve Selin Çabuk' a ve diğer laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmamda kullanılmak üzere çalışma materyallerimi temin eden, projemi destekleyen

Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (Proje kodu: FYL-2017-7651) de teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında ve kararında olduğunda gibi master eğitimim süresince de ben den maddi-manevi güvenini ve desteğini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hasan KEKEÇ

Eylül 2019, KAYSERİ

MAS (MOLEKÜLER MARKÖR YARDIMIYLA SELEKSİYON) VE ANTER KÜLTÜRÜ KULLANILARAK YAMULA PATLICANDA *FUSARİUM OXYSPORUM* SCHLECHT. F. SP. *MELONGENAE'* YE DAYANIMIN AKTARILMASI

Hasan KEKEÇ

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Eylül 2019
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hasan PINAR

ÖZET

Bu çalışmada MAS(Moleküler Yardımıyla Seleksiyon) ve anter kültürü tekniği kullanılarak yamula patlıcanına *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melongenae*'ya dayanımın aktarılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda söz konusu hastalığa dayanıklı olabileceği düşünülen 80 patlıcan genotipi *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melongenae*'ya dayanım ile ilişkili SCAR426 markıırı ile test edilmiş ve bunlardan 4 adet genotipin dayanıklı bandı taşıdığı belirlenmiştir. Ardından 3 adet yamula patlıcanı genotipi ile 1 adet dayanıklı genotip melezlenmiş ve F1 bitkileri elde edilmiştir. Daha sonra GM populasyonu elde etmek üzere dayanıklı F1 bitkiler yamula patlıcanı genotipleri(ana ebeveyn) ile melezlenmiş ve 20 adet geriye melez populasyonu(GM1) elde edilmiştir. SCAR426 markırı ile yapılan testlemede 10 adet dayanıklı GM populasyonu belirlenmiş ve bunlardan 100'er adet anter kültüre alınmıştır. Kültüre alınan anterlerden toplam 26 adet bitki elde edilmiştir. Agronomik olarak double haploid olduğu belirlenen(çiçek yapısı ve çiçek tozu oluşumu) 10 adet genotip tekrar markır testlemesine tabi tutulmuş ve bunlardan SCAR426 markırı ile dayanıklılık bandı veren 6 adet genotipte bazı morfolojik ve pomolojik analizler yapılmıştır. Yapılan karakterizasyon çalışmalarından elde edilen bulgulara göre genotipler arasında önemli varyasyon elde edilmiştir. Çalışmada hem moleküler yardımıyla seleksiyon hemde anter kültürü tekniği patlıcan ve benzeri türlerde özellikle hastalığa dayanıklılık genlerinin aktarılmasında etkili yöntemler olduğu kanısına varılmıştır. Ayrıca çalışmada geliştirilen patlıcan hatları bundan sonraki *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melongenae*'ya dayanımın aktarılması için oluşturulacak ıslah proğramlarında kullanılabilecek niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: *Fusarium,* anter kültürü, ıslah, melezleme, moleküler markır, morfolojik karakterizasyon

MAS (MOLECULAR MARKOR ASSISTANCE SELECTION) AND ANTHER CULTURE TECHNIQUE USING THE YAMULA EGGPLANT FUSARIUM F. SP. IT IS ANIMED TO TRANSMISSION OF RESISTANCE TO MELONGENAE

Hasan KEKEÇ

Erciyes University, Institute of Natural and Applied Science
Master's Thesis, September 2019
Supervisor: Dr. Hasan PINAR

ABSTRACT

In this study, MAS (Molecular Selection) and anther culture technique by using the yamula eggplant Fusarium oxysporum f. sp. It is aimed to transfer resistance to Melongenae. For this purpose, 80 eggplants genotypes Fusarium oxysporum f. sp. It was tested with the mark of SCAR426 associated with resistance to Melongenae and 4 of these genotypes were found to be resistant bands. Afterwards, 3 genotypes of yamula eggplant and 1 resistant genotype were hybridized and F1 plants were obtained. Then, to obtain the GM population, resistant F1 plants were hybridized with the yamula eggplant genotypes (parent) and 20 backward hybrid populations (GM1) were obtained. In the test conducted with the SCAR426 mark, 10 resistant GM populations were identified and 100 anther cultures were taken from each. A total of 26 plants were obtained from cultured anthers. 10 genotypes that were found to be double haploid angronomically tested and re-marker some morphological and pomological analyzes were performed on 6 genotypes which gave SCAR426 marking resistance band. According to the findings obtained from characterization studies, significant variation was found among genotypes. In this study, both molecular assisted selection and anther culture techniques were found to be effective methods for transferring disease resistance genes in eggplants and similar species. In addition, the eggplant lines developed in the study Fususu oxysporum f. sp. Melongenae can be used in breeding programs for transferring strength.

Keywords: *Fusarium*, anther culture, breeding, hybridization, molecular marker, morphological characterization

İÇİNDEKİLER

MAS (MOLEKÜLER MARKÖR YARDIMIYLA SELEKSİYON) VE ANTER KÜLTÜRÜ KULLANILARAK YAMULA PATLICANDA *FUSARİUM OXYSPORUM* SCHLECHT. F. SP. *MELONGENAE'* YE DAYANIMIN AKTARILMASI

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK ..... İ
YÖNERGEYE UYGUNLUK ..... İİ
KABUL-ONAY ..... İİİ
TEŞEKKÜR ..... İV
ÖZET V
ABSTRACT ..... Vİ
İÇİNDEKİLER ..... Vİİ
SİMGELER VE KISALTMALAR ..... İX
ÇİZELGELER LİSTESİ X

1. BÖLÜM
GİRİŞ

2. BÖLÜM
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Patlıcanda Yapılmış Morfolojik Karakterizasyon Çalışmaları 9
2.2. Patlıcanda Fusarium Solgunluğu Hastalığı ve Dayanımı ile İlgili Yapılmış Moleküler Çalışmalar 12
2.3. Patlıcanda Yapılmış *In Vitro* Çalışmalar 14

3. BÖLÜM
MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal 19
3.2.Metot 19
3.2.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi 21
3.2.2. Morfolojik karakterizasyon 22
3.2.3. MAS (Moleküler Markör Yardımıyla Seleksiyon) 24
3.2.4. Anter Kültürü 28
3.2.4.1. Çiçek Tomurcuklarının Toplanması 28

3.2.4.2. Kültüre Alma ve İnkübasyon 28
3.2.4.3. Kültür Sırasında Kullanılan Malzemeler 29
3.2.4.4. Besin Ortamlarının Bileşimi 29

4. BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Morfolojik Karakterizasyon 31
4.2. MAS (Moleküler Markör Yardımıyla Seleksiyon) 38
4.2.1. Dayanıklık testleri 38
4.3. Anter Çalışmaları 39

5. BÖLÜM

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

KAYNAKLAR 45
ÖZGEÇMİŞ 54

SİMGELER ve KISALTMALAR

µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat
M	: Molar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
MS	: Murashige&Skoog Medium
NaOH	: Sodyum Hidroksit
ng	: Nanogram
PCR	: Polymerase Chain Reaction
QTL	: Quantative Trait Loci
RAPD	: Random Amplified Polymorfic DNA
RIL	: Recombinant Inbreed Line
SRAP	: Sequence Related Amplified Polymorfism
SSR	: Simple Sequence Repeat
SCAR	: Sequence Characterized Amplified Region
DH	:Double Habloid
oC	:Santigrat Derece
mg	:Miligram
UV	:Ultraviyole
µM	Mikromolar
H2O	:Su

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1.1. Kıtalara göre dünya patlıcan üretimi (FAO 2017) 2
Çizelge 1.2. Dünya patlıcan üretiminin ülkelere göre dağılımı (FAO 2017) 2
Çizelge 1.3. Türkiye patlıcan üretiminin yıllara göre dağılımı (TÜİK 2018) 3
Çizelge 3.1. Bitkilere uygulanan gübreleme rejimi 21
Çizelge 3.2. Bitkilere uygulanan ilaçlama rejimi 22
Çizelge 3.3. Çalışmada incelenen morfolojik; nitel özellikler 22
Çizelge 3.4. Çalışmada incelenen morfolojik; nicel özellikler 23
Çizelge 3.5. DNA Ekstraksiyon Çözeltisi 26
Çizelge 3.6. PCR Mix Konsantrasyonları 27
Çizelge 3.7. PCR Döngü Programı 27
Çizelge 4.1. Bitkide morfolojik karakterizasyon sonuçları 33
Çizelge 4.2. Meyvede morfolojik karakterizasyon sonuçları 36
Çizelge 4.3. Embriyo oluşturan anter oranı, ve gelişen bitki oranı 40

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Codominant ve dominant markörlerin karşılaştırılması 7
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan bazı patlıcan genotipleri 19
Şekil 3.2. DNA izolasyonu 26
Şekil 3.3. PCR, Görüntüleme cihazı 28
Şekil 3.4. Patlıcanda anter kültürü 29
Şekil 3.5. Besi ortamlarının hazırlanması 30
Şekil 4.1. Bitkide morfolojik karakterizasyon 35
Şekil 4.2. Meyvede morfolojik karakterizasyon Yamula patlıcanı;a,b,c Dayanıklı baba ebevyn: d,e Anaxbaba f1:f,g Gerimelez:h Double haplaid:ı,j 37
Şekil 4.3. Söz konusu genotiplerdeki Me8SCAR2:/Em5SCR: primer çifti ile dayanıklılık testlemesinin jel görüntüsü 38
Şekil 4.4. Patlıcan anterlerinin sabitlenmesinden bir görüntü 40
Şekil 4.5. GM1-3 Genotipten elde edilen anterlerin embriyoya dönüşümü ve haploid bitkilerin aklimatizasyonu 41

1. BÖLÜM

GİRİŞ

Patlıcan (*Solanum melongena* L.) 2300 tür içeren çok büyük bir bitki ailesi olan *Solanaceae* familyasının [1], 1000'den fazla türü içerisinde barındıran geniş fenotipik ve genotipik çeşitliliğe sahip *Solanum* cinsi içerisinde yer almaktadır [2]. *Solanum* içindeki çoğu tür Amerika'ya özgüdür; ancak, % 20'si Antik Dünya türleridir. *Solanum* cinsi birbiriyle yakından ilişkili üç ekili türü kapsar: *Solanum melongena* L., brinjal patlıcanı; *Solanum aethiopicum* L., kırmızı patlıcan; ve *Solanum macrocarpon* L., gboma patlıcanı [3]. Günümüzde yetiştiriciliği yapılan patlıcanın küçük, yeşil, yuvarlak, kalın kabuklu, sert etli ve meyvelerinin tadı acı olan Afrika yabani türlerinden olan *Solanum incanum* L.'dan geliştiği düşünülmektedir ve Hindistan ve güneydoğu Çin'de evcilleştirilmiştir. [4]. Orijini ve gen merkezlerinden biri olan Hindistan'da da M.Ö. III. yüzyıldan beri bilindiği ve 1500 yıldan beri de Asya'da kültürünün yapıldığı düşünülmektedir [5]. Yabani türleri, tüm kültür patlıcanları ile akrabalığa sahiptir ve bunların sayısı da 200 civarındadır [3]. Her ne kadar Birleşik Devletler'de egzotik bir bileşen olarak kabul edilse de patlıcan, gelişmekte olan dünyada, özellikle de "sebzelerin kralı" olarak kabul edildiği Çin ve Hindistan'da, birçok insanın günlük diyetinin önemli ve ucuz bir bileşenidir [6]. Patlıcanın tropik bölgelerde çok yıllık ve tropik iklim kuşağının dışında kalan bölgelerde tek yıllık olarak yetiştiriciliği yapılmaktadır [7].

Üretim açısından patlıcan (*Solanum melongenae* L.) *Solanaceae* familyası içerisinde patates ve domatesten sonra dünyada üçüncü sırada yer alan önemli bir sebzedir [8]. Patlıcan vitamin ve mineral içeriği bakımından oldukça değerlidir ve meyveleri güçlü bir antioksidan kaynağıdır. Patlıcan ayrıca fenolik bileşikler, fosfor(P), kalsiyum(Ca), potasyum(K) ve magnezyum(Mg) gibi mineral madde içeriği bakımından zengin sebze türlerinden biridir [9; 10]. Genotip ve lokasyonlara bağlı olarak patlıcanda kuru madde

miktarı 4,69-7,16 g/100 g, protein içeriği 0,41 – 0,68 g/100 g, fenolik miktarı 34,46 – 60,7 mg/100 g; P, K, Ca ve Mg içerikleri sırasıyla 43,1 – 275,4 – 31,0 ve 15,9 mg/100 g'a kadar çıkmaktadır [11; 12].Bu nedenle ülkemiz dahil pek çok ülkede büyük ekonomik değere sahiptir [13].

FAO 2017 yılı verilerine göre; Dünya' da yaklaşık 2 milyon ha alanda toplam 52 milyon ton patlıcan üretimi yapılmaktadır. Bu üretimin % 94'ü Asya kıtasında, %3'ü Afrika kıtasında ve yaklaşık %2'si Avrupa kıtasında gerçekleşmiştir.

Çizelge 1.1. Kıtalara göre dünya patlıcan üretimi (FAO 2017)

Kıtalar	**Üretim miktarı (Milyon ton)**	**Dünya toplam üretimindeki payı (%)**
Asya	49 081 305	94
Afrika	1 896 091	3.6
Avrupa	927 715	2
Amerika	402 271	0.4

Dünya'da en fazla patlıcan yetiştiriciliği yapan ülke 33 milyon ton üretimle Çin'dir. Bunu 12 milyon 500 bin ton ile Hindistan takip etmekte, 1 milyon 300 bin ton üretimle Mısır üçüncü sırada yer alırken, ülkemiz yaklaşık 900 bin ton üretim ile dördüncü sırada yer almaktadır [8].

Çizelge 1.2. Dünya patlıcan üretiminin ülkelere göre dağılımı (FAO 2017)

Ülkeler	**Üretim Miktarı (Milyon ton)**
Çin	32 908 763
Hindistan	12 510 000
Mısır	1 307 793
Türkiye	883 917
İran	654 149
Endonezya	535 436

Artan dünya nüfusuyla birlikte diğer sebzelerde olduğu gibi patlıcan üretimi de yıldan yıla artmaktadır. Üretimin büyük çoğunluğunun gerçekleştiği Asya kıtası, tüketimde de büyük pay sahibidir. Dünya üzerinde patlıcan üretiminde ilk sıralarda bulunan ülkeler üretimlerinin çoğunluğunu kendi iç pazarlarında tüketmektedirler. Türkiye' de de yapılan üretimin büyük kısmı iç piyasada tüketilmektedir. Patlıcanın ihracat değeri de diğer sebzelere göre daha yüksektir. Ülkemiz patlıcan yetiştiriciliği için elverişli bir ekolojiye sahiptir [13].

Çizelge 1.3. Türkiye patlıcan üretiminin yıllara göre dağılımı (TÜİK 2018)

Yıllar	**Üretim Miktarı (bin ton)**
2018	836 284
2017	883 917
2016	854 049
2015	805 259
2014	827 380

Ülkemiz patlıcan üretiminin % 60'ı, yani 503.542 tonluk kısmı açıkta yetiştirilmektedir [14]. Ülkemizde örtüaltı yetiştiriciliği hızla gelişmektedir ve toplam örtüaltı alanı son 25 yıl içerisinde 6 kat artmıştır [15]. Diğer %40'lık kısmı (332.742 ton) ise örtüaltı yetiştiriciliğinden elde edilmektedir. 2017 yılı verilerine göre dekara patlıcan verim değeri, ülkemizde ortalama 4.349 kg'dır [14]. Ülkemizin bütün bölgelerinde patlıcan yetiştiriciliği yapılmaktadır. Üretimde yoğunluk Akdeniz, Güneydoğu Anadolu, Marmara ve Ege bölgelerindedir. Akdeniz bölgesindeki üretim ağırlıklı olarak örtü altında yapılırken diğer bölgelerde patlıcan üretimi açıkta yapılmaktadır. Ülkemizin en çok yetiştirilip tüketilen patlıcan çeşitleri; Kemer patlıcanı, Halkapınar patlıcanı, Bostan patlıcanı, Kırmastı patlıcanı, Yalova 49 patlıcanı, Gönen patlıcanı'dır. Son yıllarda ihraç edilen patlıcan çeşitleri de bulunmaktadır. Bunlardan bazıları; Long purple, Viserba, Black beauty'dır. Örtü altı üretimlerine Halkapınar, Göl, Halep ve Kemer gibi yerli çeşitlerle başlanmıştır [16].

Dünya'da ve ülkemizde yetiştiricilikte en önemli faktörlerin başında kalite ve verim gelmektedir. Bunun içinse doğru yetiştirme tekniklerinin bilinçli uygulanmasına ve genetik olarak üstün niteliklere sahip çeşitlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu da ancak üstün

niteliklere sahip olan genotiplerin melezlenmesiyle (hibrit çeşit) ile mümkün olup, bu durumda stabil ve sürekli olarak aynı kalite niteliklerine sahip üretim yapılma olanağı sağlamaktadır. Hibrit çeşitler sayesinde üstün özellikler birarada toplanabilmekte, verimin artırılmasının yanında abiyotik ve biyotik stres faktörlerine dayanıklılık, meyve kalitesi vb. olumlu özellikler de birleştirilebilmektedir [13].

Patlıcan yetiştiriciliğinde üretimi kısıtlayan birçok probleme karşılaşılmaktadır. Bu problemlerden biri olan Fusarium solgunluğu ülkemizde %50'ye yakın ürün kaybına neden olmaktadır [17]. Patlıcan (*Solanum melongena* L.) bitkisi, *Fusarium* spp. gibi birçok patojene ve haşerelere karşı direnç gösterememekte [18;19] ya da yetersiz seviyede kısmi direnç oluşturabilmektedir [20-24].

Patlıcanda solgunluk hastalığına *Fomg* [25], *F. oxysporum* f. sp. radicis-lycopersici [26] ve *Fusarium solani* [27] olmak üzere üç fungus sebep olmaktadır [28]. Funguslar tarafından neden olunan solgunluk hastalığı simptomları oldukça benzerdir, etmenler bazen aynı alanda ve hatta aynı bitkide bile birlikte bulunabilmektedir [29]. *Fusarium* solgunluk hastalıkları başlangıçta bitkide genel bir solgunluk göstermekte ve şiddetli enfeksiyonlar hastalığın ilerleyen dönemlerinde bitkinin ölümüne sebep olmaktadır. Fungal patojenler için iletim demeti simptomları daha karakteristiktir. Enfekteli bitki dallarından enine kesit alındığında ksilemde gözlenen kahverengileşme, Fusarium solgunluğunda floem dokusuna kadar ulaşabilmektedir. Buna ek olarak, Fusarium *oxysporum* f. sp. melongenae'nın neden olduğu güçlü infeksiyonlar bitkinin sürgün uçlarının ya da bazı dallarının tamamen kurumasına sebep olabilmektedir. Bu durumdaki bitkilerin vejetatif aksamı, bir kısmı sağlıklı bir kısmı solmuş, kurumuş, bir görünüm sergilemektedir. Bitkide bölgesel dal kurumalarından dolayı üreticiler Fusarium solgunluk hastalığını "yarım dal" olarak nitelendirmiştir. Fusarium Solgunluğu hastalığı dünyada ilk olarak Matuo and Ishigami (1958) tarafından bildirilmiştir [25].

Patlıcanda Fusaryum solgunluğu bu denli yaygın olmasına karşın, henüz etkili bir mücadele yöntemi belirlenememiştir. Solgunluk hastalığının kontrolünde ekim nöbeti ve toprak fumigasyonu önerilmektedir. Ancak toprak fumigasyonunun topraktaki yararlı mikroflorayı da olumsuz etkilemesinden ötürü kullanımı sınırlıdır, hem de ekonomik değildir [28]. Münavebe ekimde ise hastalıkla bulaşık alanlarda daha sonraki yıllarda

rotasyon yapılarak fungusa tolerant tür ekilse bile hastalık etmeni olan fungus uzun yıllar canlılığını sürdürebilmektedir [30; 25]. Diğer bir uygulanan yöntem de toprak kökenli patojenlere karşı etkili olduğu bilen solarizasyon uygulamasıdır. Ancak bu uygulama da büyük yetiştirme alanlarında uygulanamamaktadır [31; 32]. Fusarium solgunluk hastalığını kontrol altına almak için toprağın bulaşık olmaması ve dayanıklı çeşit kullanımı gerekmektedir. Güncel araştırmalarda, geleneksel bitki ıslah yöntemlerinin yerini, kaliteli meyve üretimi ve hastalıklara toleranslı bitki eldesi esasına dayalı genetik çalışmaların aldığı görülmektedir. Swarup (1995), patlıcan bitkisinin ıslahında en büyük hedeflerden birinin Fusarium solgunluk hastalığına dayanıklılık olduğunu bildirmiştir [33].

Bitki biyoteknolojisinde görülen yeni, hızlı gelişmeler, bitki gen kaynaklarına ait yapılan çalışmalarda, özellikle genetik çeşitliliğin korunması, karakterizasyonu, üretimi, ıslah gibi amaçlara büyük katkılar sağlamıştır. Bu gelişmeler sayesinde birçok bitki türünün karakterizasyonu genom analizleri ile yapılabilmekte, homozigotinin çok kısa sürede sağlanması, melezlerin embriyo kültürü ile yaşatılması, kalıtsal yapıları, gen aktarımı, somaklonal varyasyon ve somatik hibridizasyon gibi *in vitro* teknikler ile taksonomik bir sınırlama olmaksızın hızlı ve etkili bir şekilde değiştirilebilmekte, hızlı, yoğun ve virüslerden ari çoğaltım, gen kaynaklarının korunması ve birçok etkene karşı genotiplerin reaksiyonlarının kısa sürede test edilmesi sağlanabilmektedir [34-39].

Bitki genetik kaynaklarının karakterizasyonunda biyokimyasal markörler, morfolojik markörler ve moleküler markörler kullanılmaktadır. Bitkilerdeki genetik kaynakların karakterizasyonu için başlangıçta morfolojik, fizyolojik ve sitolojik özellikler kullanılmıştır. Daha sonra süreyi daha da kısaltmak ve aşamayı güçlendirmek amacıyla biyokimyasal markörler geliştirilmiştir. Son dönemde ise moleküler markör çalışmaları ciddi bir hız kazanmıştır [40].

Türlerin ve çeşitlerin spesifik özelliklerini tanımlamak için morfolojik karakterizasyon esastır ve UPOV (1991) bu nedenle patlıcan bitki çeşitliliği yapısında ve gen-fenotip ilişki analizinde başlangıç noktası olarak kabul edilir. Ayrıca, patlıcan çeşitlerinin genetik tabanı genişletilirken hibridizasyon için ebeveyn seçiminde bireysel katılımları ve çeşitlerin genetik bir rehber olarak tanımlanmasında da faydalıdır. Ayrıca, ürünlerin genetik tanımı, katma değer ve gelişmiş pazarlanabilirlik için önemlidir [41].

Patlıcanda, bunların ilgili türlerinde bitki morfolojisi (çiçeklenme, yaprak ve meyve), fizyolojisi ve biyokimyasal özellikler için gözlemlenen geniş morfolojik çeşitlilik vardır [24]. Meyve şekli, büyüklüğü, rengi ve tadı bireyler arasında değişkenlik gösteren en belirgin karakterlerdir [41].

Moleküler markörler, kendilerinin üretildiği bitkilerin hücrelerinde bulunan DNA'lardaki nükleik asit diziliş farklılığını çeşitli şekillerde gösterirler ve bitki populasyonundaki çeşitlilik veya o populasyon içindeki bitki genotipleri arasındaki ilişkilerin tespitinde %100' e yakın güvenirlilikle değerlendirilirler. DNA markörlerinde amaç, bireyler (çeşit, hat, tür vb.) arasındaki DNA seviyesindeki farklılığın ortaya çıkarılmasıdır.

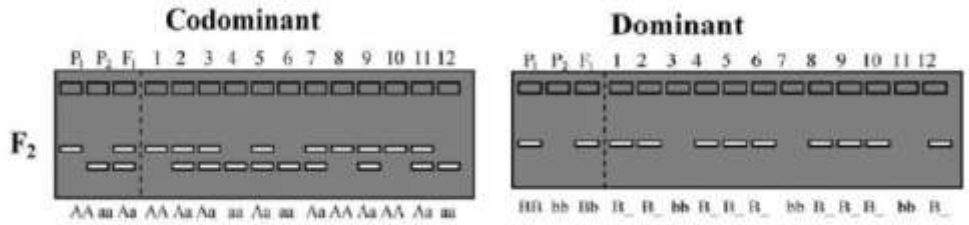
Kullanılacak markör sistemini etkileyen bazı özellikler vardır. Populasyonun tipi veya polimorfizmin seviyesi, lokus sayısı, farklı çevrelerdeki stabilitesi, kolaylık, altyapı, analiz maliyeti bu kriterlerden bazılarıdır [42].

Monomorfik markörler; genotipler arasında farklılık göstermeyen markörler, aynı veya farklı türlerin bireyleri arasında farklılık gösteren markörler ise polimorfik markörlerdir. Monomorfik markörlerden polimorfik markörler farklı genotipleri ayırt edebildiği için daha yararlıdırlar.

Markörlerin haritalamada kullanılabilmeleri için polimorfik olmaları gereklidir. Yani; bir melezleme çalışması sonucu ortaya çıkan yavrularda inceleme yapılabilmesi için alternatif formlarının bulunması gerekir. Polimorfizm DNA dizisinde yaklaşık her 300 ya da 500 nükleotidde bir oluşan varyasyonlardır. Bir özelliği kodlayan diziler içinde oluşan varyasyonlar gözle görülebilir fiziksel değişikliklere (hastalığa karşı dayanıklılık, tohum rengi, bitki boyu, vb.) sebebiyet verirler. Oysa varyasyonların çoğu herhangi bir özelliği kodlamayan diziler (intronlar) içerisinde gerçekleşir ve bir organizmanın fiziksel görünüşü veya fonksiyonu üzerinde hiçbir etkisi yoktur. Fakat bunlar DNA düzeyinde belirlenebilir ve markör olarak kullanılırlar. Bitki türüne ve markör tipine bağlı olarak markörlerin farklılık gösterme oranları değişiklik göstermektedir [43].

Homozigot ve heterozigotlar arasında ayrımlanabilmelerine göre polimorfik markörler dominant ve kodominant nitelik gösterirler. Dominant markörler var veya yok olarak belirlenirken, kodominant markörler boyut olarak farklılık gösterirler. Bütün bu

kurallara göre bakılırsa, bir DNA markörünün farklı formları (örneğin jel üzerindeki farklı boyuttaki bantlar) markör allelleri olarak adlandırılır. Böylece dominant bir markör sadece 2 allele sahipken, kodominant markörler farklı birçok allele sahip olabilmektedir. Kodominant markörlerle homozigot ve heterozigotlar arasındaki bu farklılık net bir şekilde görülebilmektedir (Şekil 1.1). Ancak dominant markörler bu ayrımı yapamamaktadır [44].



Şekil 1.1. Codominant ve dominant markörlerin karşılaştırılması

Temel anlamda, farklı iki DNA markır tekniği mevcut bulunmaktadır. DNA markörlerin bitkilerde kullanımı PCR (Polymerase Chain Reaction = Polimeraz Zincir Reaksiyonu) temelli olmayan RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) markörlerle başlamıştır. PCR tekniğinin ortaya çıkması ile birlikte PCR'a dayalı DNA markörler; RAPD (Tesadüfî Çoğaltılmış Polimorfik DNA), AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizm), Minisatellit, Mikrosatellit (SSR-Simple Sequence Repeats), ISSR ((Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm), SRAP (Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm), bitki organel genomları (kloroplast DNA-mitokondriyal DNA), CAPS (Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler) markörleri genetik tanımlamalarda kullanılmaya başlanmıştır [45]. PCR, *in vitro* koşullarda DNA'nın enzimatik olarak sentezletilmesidir. *Thermus aquaticus*'tan elde edilen sıcaklığa dayanıklı polimeraz enziminin (*Taq* DNA polymerase) keşfi PCR tekniğinin geliştirilmesinde kilit rol oynamıştır. Bu enzim sayesinde hücrede normal şartlar altında gerçekleşebilen doğal DNA replikasyonu laboratuvar şartlarında 'termocycler' adı verilen özel cihazlar yardımı ile gerçekleştirilmiştir. Yöntem, küçük miktardaki özellikli DNA parçasının, bir dizi enzimatik reaksiyon sonucu milyonlarca kez çoğaltılması kökenlidir. Çoğaltılabilen unsurlar DNA'nın rastgele sentezlenen veya istenilen bazı bölgeleridir, bütünü değildir [44]. Yeni yaygınlaşmaya başlayan SNP (Single Nucleotide Polymorphism), DNA zincirindeki tek nukleotit farklılığını kullanmaktadır. Bu teknik bitki genomuna ait DNA zincir bilgisini gerektirdiğinden, bitki bilimlerine girmesi gecikmiştir [42].

Haploid bitkilerin önemi ve bunlardan kaynaklanan doble-haploidlerin tamamen homozigot hatları, modern ıslah programlarında sayısız bitki türü için artmaktadır [46]. Patlıcanda haploid bitki elde etmenin ana yöntemi androgenezdir. Smelongena'da in vitro androgenez son 40 yıldır yaygın olarak kullanılmaktadır [47-49]. Bu teknikle normal ploidi seviyelerini kendiliğinden (2n) ya da kolhisin tedavisinden sonra yeniden katlayan haploid (n) bitkileri üretmek mümkündür. Bu, başlangıçtaki heterozigot materyalden homozigot materyal elde etmek için gereken süreyi azaltır [3]. *In vitro* kültür ile stabil gen kombinasyonları içeren homozigot hatların üretimi, normalde gerekli zamanın yarısından daha az olan 2-3 yıl içinde elde edilebilir [50]. Gametlerden çıkan double-haploid bitkiler sadece 1 set kromozomun genetik bilgisini taşır, bu yüzden genetik olarak homozigot olarak kabul edilebilirler [51]. Anter kültürü tekniği, gen havuzundaki bir varyasyondan farklı özelliklere sahip yeni saf hatlar ve yeni çeşitlerin ıslahı için önemli fırsatlar sağlar. Dünya genelinde önemli sebze türlerinden biri olan patlıcan anter kültürüne yüksek düzeyde olumlu yanıt veren sebze türlerindendir.

Yamula patlıcanı, Kayseri ili ve çevresinde yetiştiriciliği yapılan standart bir patlıcan çeşididir. Orta Anadolu Bölgesinde (Aksaray, Kırıkkale, Niğde, Kırşehir, Nevşehir, Kayseri, Yozgat, Sivas) toplam patlıcan üretim alanı 4.186 da ve üretim miktarı ise 8.884 tondur. Yalnızca Kayseri ilinin patlıcan üretimi ise 1.270 da alanda 4.443 tondur (TÜİK, 2018). Özellikle Kayseri ve civarı illerin patlıcan üretimini Yamula patlıcanı oluşturmaktadır. Yamula patlıcanı sert meyve eti, kendine özgü çizgili yapısı gibi özellikleriyle ön plana çıkmakta ve özellikle yetiştirildiği bölgedeki insanlar tarafından taze tüketim, kurutmalık ve turşuluk olarak farklı biçimlerde tüketilmektedir. Ancak üretimin üreticilerin kendi tohumlarını kendilerinin eldesi suretiyle yapıldığından verim gitgide azalırken, hastalıklara hassasiyet, üretim bölgelerine giren yeni hastalık ve zararlılar üretimi kısıtlamaya başlamıştır. Bu standart çeşitte verimlilik ve kalite artırılmadığında bu patlıcan çeşidi üretiminin yapıldığı bölgelerde üretilemez olacaktır. Bunu önlemenin yolu ise söz konusu çeşidin ıslah edilmesidir. Ardından hastalık ve zararlılara dayanımın arttırılmasıdır.

Buradan hareketle bu çalışmanın amacı, MAS (Moleküler Markör Yardımıyla Seleksiyon) ve anter kültürü kullanılarak yamula patlıcanda *Fusarium oxysporum* schlecht. f. sp. melongenae'ye dayanımın aktarılmasıdır.

2. BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Patlıcanda Yapılmış Morfolojik Karakterizasyon Çalışmaları

Morfolojik çeşitliliği karakterize edebilme yeteneği, yetiştirme programlarında patlıcan genetik kaynaklarının etkin yönetimi ve sürdürülebilir kullanımı için vazgeçilmezdir. Birincil karakterizasyon, farklı bitki büyüme aşamalarında (yaprak alanı, meyve şekli, büyüklüğü ve rengi, bitkide dikenlilik ve tüylülük) görsel gözlemlerle kolayca kaydedilebilen basit bitki karakterlerinin ölçülmesini içerir. Sekonder karakterizasyon, haşere ve hastalık direnci, meyve tutumu, verim potansiyeli ve biyokimyasal (glikoalkaloid veya antioksidan) özellikler gibi agronomik öneme sahip daha karmaşık morfolojik özellikleri ele almaktadır [52]. Morfolojik tanımlayıcılar fenotipler arasında hızlı ve kolay bir ayrım yapılmasını sağlar. Genellikle görsel gözlemlerle kolayca kaydedilebilen ve tüm ortamlarda eşit olarak ifade edilebilen yüksek kalıtsal özelliklerdir. *S. melongena, S. aethiopicum* ve *S. macrocarpon* morfolojik tanımlayıcıları IPGRI/FAO, EGGNET ve UPOV tarafından geliştirilmiştir ve bu tanımlayıcılar uluslararası kabul görmüş tanımları sunar ve bunlar, rakamlar veya metrik ya da nitel ölçekte ölçülür [41].

Patlıcan genotipleri çoğunlukla morfolojik ve agronomik karakterler açısından değerlendirilmiştir. Bitki morfolojisinde; bitki büyüme alışkanlığı, canlılığı, tüylülüğü, meyve şekli, büyüklüğü, rengi ve verim potansiyelleri, fizyolojisinde çiçeklenme davranışı, su kullanımı ve biyokimyasal özelliklerinde meyve acılığı, glikoalkaloid içeriği özellikleri incelenmiştir [53].

Meyve rengi, büyüklüğü ve şekli, *Solanum* kültür çeşitleri ile yabani türleri arasında değişen en belirgin morfolojik karakterlerdir [54].

Chowdhury (1976) patlıcanları meyve şekillerine göre üç ana gruba ayırmıştır: yuvarlak, oval veya yumurta şeklindeki *Solanum* türleri (*S. melongena* var. esculentum), uzun ince şekildeki *Solanum* türleri (*S. melongena* var. serpentinum) ve cüce *Solanum* türleri (*S. melongena* var. depressum) [55].

Hibrit çeşitlerin büyük bir kısmı koyu mor ve siyah meyve renginde olup bunlarda genetik çeşitlilik düşüktür [24].

2001-2007 yılları arasında Artvin, Sinop, Samsun, Amasya, Kastamonu, Yozgat, Nevşehir, Kayseri, Mersin, Adana, Niğde, Osmaniye, Hatay, Tekirdağ, Edirne, Kırklareli, Çanakkale illerinden toplamda 1619 adet sebze materyali toplanmış, 1820 materyalde üretim ve yenileme çalışması yapılmıştır. Ayrıca 185 biber, 179 domates ve 150 patlıcan bitkisi materyalinde morfolojik karakterizasyon çalışması yürütülmüştür [56].

Hindistan yerli kaynaklarından 543 ve egzotik kökenli 79 genotipten oluşan toplamda 622 genotipin morfolojik çeşitliliğinin değerlendirildiği bir çalışmada 13 nicel ve 18 nitel olmak üzere 31 belirteç için geniş çeşitlilikte değişiklikler kaydedilmiştir. Bitki, çiçek ve meyve belirteçlerinde geniş bölgesel varyasyonlar, seçime göre verim karakterlerinin geliştirilmesi için yeterli kapsamı ortaya koymuştur. Araziler arasındaki genetik farklılıklar, zıtlık formlarının hibridizasyonu yoluyla yaratılan değişkenlikten yararlanılabilecek şekilde ıslah programları ile potansiyel olarak ilgili olduğunu ortaya çıkarmıştır [54].

Naujeer (2009) Mauritius'taki Ulusal gen bankasında korunan patlıcan genetik kaynaklarındaki morfolojik çeşitliliği değerlendirmek ve ölçmek için yaptığı çalımada 27 *S. melongena*, iki *S. macrocarpon*, bir *S. nigrum*, üç *S. violaceum* ve bir *S. torvum* genotiplerinin morfolojik karakterizasyonunu incelemiştir. (IBPGR 1990) patlıcan tanımlayıcı listesine göre 9 nicel ve 14 nitel özellik tanımlanmıştır. Hibridizasyon için genetik olarak farklı ebeveynlerin seçiminde agronomik öneme sahip bazı özelliklerin özellikleri ve üreme potansiyelleri arasında anlamlı ($P < 0.01$) korelasyonlar gözlenmiştir. Verim; yaprak alanı ($r = 0,2$), meyve uzunluğu ve genişliği ($r > 0,5$) ve meyve ağırlığı ($r = 0,8$) ile pozitif korelasyon göstermiş, ancak bitki başına düşen meyve sayısı ($r = - 0,6$) ve bitki boyu (r) ile ters orantılıdır = - 0,5). UPGMA kümeleme yöntemi ile oluşturulan fenogram, *S. melongena* genotipleri, ilgili türler ve yabani türler

arasındaki fenotipik ilişkiyi göstermiştir. *S. melongena* genotipleri meyve şekli, rengi ve büyüklüğüne göre Uzun, Yarı uzun, Yuvarlak ve Dikdörtgen şeklinde sınıflandırılmıştır. Temel Bileşen Analizi, meyve karakterlerinin patlıcan genotipleri arasında en etkili şekilde ayrım yapan ve dolayısıyla gen bankasında basit ama etkili bir patlıcan sınıflandırma sistemi oluşturulmasında yararlı olan büyük bir değişim katsayısı (> yüzde 40) olan önemli marker özellikleri olduğunu ortaya koymuştur [41].

67 Türk patlıcan genotipinin 30 morfolojik özelliği ve AFLP markerları ile genetik çeşitliliği değerlendirildiği çalışmada morfolojik analizler özellikle yarı uzun ve yuvarlak tipler için önemli değişkenlik göstermiştir. Moleküler karakterizasyon için, *S. macrocarpon, S. aethiopicum* ve *S. linnaeanum*'a genotipleri kontrol grupları olarak dahil edilmiştir. 10 primer kombinasyonu kullanılmış olup ve 0.03 ila 0.50 arasında değişen PIC değerlerine sahip 488 polimorfik fragment elde edilmştir. Polimorfik fragmentlerden 144'ü (% 29) *S. melongena* genotiplerine özgü iken 73, 49 ve 16 fragmentleri sırasıyla *S. macrocarpon, S. aethiopicum* ve *S. linnaeanum'*a özgüdür. AFLP verilerinin UPGMA küme analizi, benzerlik matris verileriyle çok yüksek bir korelasyona sahip (r = 0.97) bir dendrogram ile sonuçlanmıştır. Dendrogramdaki genetik benzerlik, beklendiği gibi *S. melongena* kümeleri dışında bulunan ilgili *Solanum* türleriyle 0.30 ila 0.95 arasında değişmiştir. *S. melongena* genotiplerinin genetik benzerliği, Türkiye ulusal koleksiyonunda mevcut olan iyi genetik çeşitliliği gösteren 0.68 ile 0.95 arasında değişmiştir [57].

92 patlıcan genotipinde Mahalanobis'in D^2 istatistikleri kullanılarak, yirmi bir karaktere dayanan morfolojik çeşitliliğin hesaplandığı bir çalışmada 92 patlıcan genotipi hiyerarşik olmayan kümeleme yoluyla on farklı kümeye ayrılmıştır. X kümesinde en fazla sayıda genotip (17), II ve III kümesinde de en az sayıda (3) genotip oluşmuştur. Küme arası en yüksek uzaklık küme II ile VIII arasında gözlemlenmiştir (30.86), bu kümelerdeki genotiplerin diğer kümelerdekinden daha farklı olduğunu göstermiştir. En düşük küme arası mesafe, V ve X kümeleri arasında gözlenmiştir (3.72), bu kümeler içinde yer alan genotipler arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermektedir. Küme II, üç genotipten oluşmuştur ve çiçeklenme başına çiçek sayısı için en yüksek ortalama değeri (4.67) ve bitki başına verimi (812.33) ve ilk çiçeklenme gününe kadar en düşük ortalama değer günlerini (108.22) üretmiştir. Bu nedenle, bu çalışma ile istenen özelliklere sahip yeni rekombinantlar üretebilecek, geçiş için ebeveyn olarak

genotiplerin seçilmesi için küme II, IV ve VIII'e daha fazla önem verilmesi gerekliliği ortaya çıkmıştır [58].

Türkiye'nin farklı eko-coğrafi bölgelerinden toplanan patlıcan popülasyonlarının morfolojik varyasyonlarındaki benzerlik ve farklılıkları tespit etmek üzere yürütülen bir çalışmada 75 patlıcan popülasyonu, IBPGR tarafından belirtilen standart morfolojik tanımlayıcılar kullanılarak tanımlanmıştır. Meyve karakterlerinde fenotipik çeşitlilik de değerlendirilmiştir. Bu popülasyonlar arasındaki ilişkileri belirlemek ve grupların tanımı için meyve özellikleri hakkında bilgi edinmek için Küme ve Temel Bileşen Analizi (PCA) yapılmıştır. Temel bileşen analizi, ilk dört temel bileşen ekseninin toplam çok değişkenli varyasyonun % 71.38'ini açıkladığını göstermiştir. Sonuçlar, patlıcan popülasyonlarında meyve özelliklerinde birçok farklılık olduğunu göstermiştir. popülasyonlar arasındaki morfolojik farklılıkları değerlendirmek için bir dendrogram hazırlanmıştır, 9 gruba toplanmıştır. Çalışma neticesinde yüksek seviyede bir çeşitlilik ortaya çıkmıştır [59].

2.2. Patlıcanda Fusarium Solgunluğu Hastalığı ve Dayanımı ile İlgili Yapılmış Moleküler Çalışmalar

Mutlu et al. (2008) çalışmalarında (1) patlıcandaki fusarium solma direncinin monojenik kalıtımını doğrulamak, (2) bu dirence bağlı moleküler markerleri belirlemek ve (3) çoğu bilgilendirici markörden SCAR markerlerını geliştirmeyi amaçlamıştır. Patlıcandaki fusarium solgunluğuna karşı direnç geninin SRAP, RGA, SRAP-RGA ve RAPD markırları ile etiketlendiği tarafımızdan bildirilmiştir. Segregasyon analizi verileri, monogenik direnç kalıtımını doğrulamıştır. Fusarium solgunluğu direnci için patlıcan F2 ve BC1 popülasyonlarından elde edilen DNA’ lar 2,316 primer kombinasyonu taranmıştır. Genin 2.6 cM' ında üç markır bağlanmıştır. Codominant SRAP markırı Me8/Em5 ve dominant SRAP-RGA markırı Em12/GLPL2, birbirlerine sıkıca bağlanmış ve direnç genine 1.2 cM mesafededir. Oysa ki RAPD markerı H12, genden 2,6 cM mesafede haritalanmıştır ve diğer iki marker ile aynı tarafta eşlenmiştir. Bu belirteçlerin patlıcan FOM direnç geninin haritalanması ve diğer solanum türleri arasında fusarium solgunluk direnç genleri arasındaki sinteninin keşfedilmesi için bir başlangıç noktası sağlayacağı düşünülmektedir [60].

Boyacı ve Abak (2008), patlıcanda *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *melongenae* Matuo and Ishigami'ya dayanıklılık kaynakları ve dayanıklılığın kalıtımını araştırmıştır. Çalışmalarını dört bölüm halinde yürütmüştür. Çalışmanın ilk aşamada yerli ve yabancı genotipler ile patlıcana akraba yabani türlerin yer aldığı 25 genotip test edilmiş, yabani genotiplerin bu hastalığa dayanıklı yerli ve yabancı genotipler ile bazı ıslah hatlarının ise duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında 15 patlıcan genotipi, *F. oxysporum*'nun 12 izolatı ile test edilerek genotip x izolat interaksiyonu araştırılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre; izolatlar zayıf ve agresif olarak iki farklı gruba ayrılmış, dayanıklı genotipler tüm izolatlar karşısında dayanıklılık sergilerken, duyarlı genotipler agresif izolatlar karşısında duyarlılık, zayıf izolatlar karşısında ise dayanıklılık sergilemişlerdir. Üçüncü aşamada ise *Solanum melongena* türüne ait dayanıklı genotipler LS 1934 ve LS 2436 ile duyarlı genotip NSFB-99 arasında dayanıklılığın kalıtımı araştırılmış ve dayanıklılığın her iki dayanıklı genotip için de monogenik dominant olduğu tespit edilmiştir. Son aşamada ise dayanıklı genotip LS 2436 ve duyarlı saf hat NSFB-99 arasında yapılan melezlemelerden elde edilen F2 ve BC1 populasyonunda 1200 primerle RAPD kullanılarak genetik haritalama yapılmış, dayanıklılık genine 2.6 cM uzaklıkta olan H-12 primeri markır olarak tespit edilmiştir [61].

Patlıcandaki bakteri solgunluğuna bağlı SCAR markerinin kalıtımı ve tanımlanması çalışmasında, kombinasyonlar (F1) bakteriyel solgunluk hastalığına yüksek dirençli ve duyarlı olan patlıcan ebeveynleri arasında yapılmıştır ve F2, BC1 ayrışma popülasyonları bitkileri serada *Ralstonia solanacearum'* un ırk1i ile aşılanmıştır. Patlıcandaki bakteri solgunluk mukavemetinin kalıtımının Mendel kalıtım modelini gösteren tek bir baskın gen tarafından kontrol edildiği belirlenmiştir. Ek olarak, bakteri solgunluğuna karşı dirençli bir patlıcan genine bağlı 762 bp uzunluğunda moleküler markır 'Bulked Segregant Analysis' BSA yöntemi ile taranmıştır ve ayrıca bakteriyel solmaya karşı direnç genine bağlı olan (SCAR) işaretçisi de elde edilmiştir. Bu marker ile direnç geni arasındaki genetik mesafenin 3,33 cM olduğu belirlenmiştir [62].

Fusarium izolasyonlarının Tanzanya Arumeru bölgesindeki patlıcan yetiştiricilik alanlarından tanımlanması ve ayırt edilmesi için morfolojik karakterlere, ITS'nin moleküler dizi verisine ve 1-alfa gen eksonları ve intronları uzama faktörü ve patojenite testlerine dayanarak bir çalışma yapılmıştır. Yirmi dokuz Fusarium izolatı ile

çalışılmıştır (*Fusarium oxysporum*-(% 52), *F. solani*-(% 24) ve *F. incarnatum-equiseti* (% 24)). Patojenite testleri, üç tür grubunun temsilcilerinin patlıcanlara patojen olduğunu göstermiştir. *F. incarnatum-equiseti* ve *F. oxysporum'*un test edilen üyeleri Afrika patlıcanına (*S. macrocapon* ve *S. anguivi*) patojeniktir. *Fusarium solani, S. anguivi*' de solgunluğa neden olmuştur. İki izolat *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (FOM) olarak tanımlanmıştır [63].

Fusarium ve Verticillium'a karşı direnci / toleransı etkileyen QTL'lerin, '305E40' x '67 / 3 'hibritinden yetiştirilen ve daha önce önemli agronomik ve biyokimyasal özellikler için nitelendirilen F2 intraspesifik bir popülasyonun 156 bireyinde tanımlanması hakkında bir çalışma yapılmıştır. Dişi ebeveyn ('305E40'), Fusarium'a dirençli androjenik bir di-haploid hattır; bu hat, Rfo-Sa1 lokusunu taşıyan bir introgresyon hattının anter kültürü yoluyla elde edilmiştir. Erkek ebeveyn ('67 / 3 '), Fusarium'a tolerans gösteren patlıcan içi spesifik melez cv' Purpura 'x cv' CIN2'den F8 seçimidir. F2 popülasyonunun direnç derecesi, Fusarium ve Verticillium ile suni olarak aşılanmış veya doğal olarak Verticillium istilasına uğramış bir alanda yetiştirilen her F2 bireyinin F2: 3 progenileri kullanılarak değerlendirilmiştir. Beklendiği gibi, Fusarium'a karşı direnç için Rfo-Sa1 lokusunun genomik bölgesinde bulunan büyük bir QTL (PVE ≥% 10) tanımlanmıştır, Fusarium ve Verticillium'a yanıtı etkileyen diğer majör / minör QTL de tespit edilmiştir. Bu QTL'e bağlı markerlera, marker destekli ıslah bağlamında başvuruda bulunabileceği tespit edilmiştir [64].

2.3. Patlıcanda Yapılmış *In Vitro* Çalışmalar

Anter kültürü tekniği hibrit çeşit üretiminde saf hatların eldesinde klasik ıslah yöntemlerine göre önemli avantajlar sağlamaktadır ve daha hızlı sonuç vermektedir [65-66-50; 67]. Anter kültüründe başarı oranı besin ortamı, donör bitkinin yetişme koşulları, genotip, büyüme düzenleyiciler, ön uygulamalar, stres faktörleri, inkübasyon koşulları ve anterin alındığı dönem gibi çok faktöre paralel olarak değişmektedir [68; 67]. Patlıcanda ilk androgenik yanıtın 1973 yılında alındığı bildirilmiştir. Geçen 50 yılda besin ortamı, genotip, büyüme düzenleyiciler, stres uygulamaları gibi çokça konuda birçok çalışma yapılmış ve yüksek başarı oranlarına ulaşılmıştır [67].

Patlıcanda anter kültürü çalışmalarında anterlerin 35°C'de karanlıkta 8 gün inkübe edildiği, kinetin ve 2,4-D içeren besin ortam başarılı protokollerden biridir [47]. Çoğu

araştırmacı bu protokolün modifiye edimiş halini patlıcanın da içinde bulunduğu birçok sebze türünde başarıyla uygulamıştır [67].

Solanum hibritlerinin hızlı çoğalması için doku kültürleri kullanma olasılığının tartışıldığı bir çalışmada, patlıcan, *Solanum melongena*'nın yanı sıra *Solanum*'un F1 hibridinden kesilen hipokotil segmentleri, çeşitli büyüme düzenleyiciler ile takviye edilmiş modifiye Murashige ve Skoog'un bazal besin ortamında (MS) kültüre alınmıştır. Köklemenin ardından sürgün tomurcuklarının yenilenmesi, indoleasetik asit (IAA) ile desteklenmiş MS ortamında kültürlenen eksplantlarda elde edilmiştir. Naftalenasetik asit (NAA) ve naftoksiasetik asit (NOA) sırasıyla köklenme ve kallus oluşumunu teşvik etmiş ve sürgün tomurcuk rejenerasyonunu tamamen bastırmıştır. Test edilen birçok sitokinin arasında, kinetin (Kn), filiz tomurcuk rejenerasyonunun uyarılmasında etkili olmuştur. Sitokinin-oksin etkileşimi, ortamdaki hormonların oranına bağlı olarak sürgünlerin ve köklerin gelişimini teşvik etmiş veya inhibe etmiştir. Kökleri olan rejenere bitkicikler, çiçeklendikleri ve meyve verdikleri topraklarda başarıyla kurulmuştur [69].

'Paprika, Patlıcan, Salatalık, Kabak ve Soğanda Doubled Haploıd Islah Hatları Üretimi' adlı çalışmada *in vitro* androgenesis ve ginojenesiste elde edilen ana sonuçlara göre; kırmızı biber ve patlıcan anter kültürlerinde, indüksiyon ortamına maltozun dahil edilmesi, mikrospor embriyogenesisinin indüklenmesini geliştirmiş ve yenilenen bitkilerin sayısını arttırmıştır. Kırmızı biber ve patlıcan haploidlerinin *in vitro* genom replikasyonu için etkin, tekrarlanabilir ve ekonomik bir yöntem hazırlanmıştır. *In vitro* çiçek tomurcuğu ve yumurtalık kültürleri sonuçlarına dayanarak, thidiazuron uygulamasının sadece embriyo indüksiyonunu arttırmadığı, aynı zamanda spontan doubled haploit oranında da arttığı sonucuna varılabileceği ortaya konmuştur [70].

Anter kültürü yoluyla elde edilen haploid patlıcan bitkilerinin kromozom sayılarının katlanması amacıyla kolhisin uygulamaları yapılmıştır. %0.5 ve %1 dozunda kolhisin çözeltisi içinde 1 veya 2 saat süreyle bekletilen mikro çelikler, *in vitro* koşullarda katlanmaya çalışılmıştır. Bir kısım haploid bitki ise dış koşullara alıştırılmış, serada bu bitkiler önce budanmış ve ardından koltuk tomurcuklarına kolhisin emdirilmiş pamuklar 1 veya 2 saat süreyle yerleştirilmiştir. Kolhisin dozları yine %0.5 ve %1 olacak biçimde ayarlanmıştır. Uygulamaların sonucunda, yaşayan bitki ve dihaploid bitki sayıları

değerlendirilerek, *in vitro* ve *in vivo* kolhisin uygulamaları karşılaştırılmıştır. Ayrıca kromozom katlaması için en uygun doz ve süreler hakkında da bilgi verilmiştir [71].

Yaygın üretilen patlıcan ve ilişkili primer ve sekonder gen havuzundan 12 genotipin androjenik tepkisinin incelendiği bir çalışmada bütün genotiplerin anterleri aynı deneysel şartlar altında kültürlenmiştir ve anterlerin callus, embriyo ve bitki üretme yeteneklerinin yanı sıra üretilen embriyoların kalitesi ve kökeni de incelenmiştir. Çalışmada, 12 üyeden 11'inin anterleri somatik callus üretirken, sadece 5 tanesi mikrospor türevli embriyolar üretmiştir, embriyo kalitesi, embriyo indüksiyonu ve bitki çimlenmesi sıklığı açısından değişken sonuçlar vermiştir [72].

Başay ve Ellialtioğlu (2013), çalışmalarında patlıcandaki androgenezin etkinliğinin genotiplere güçlü bir şekilde bağlı olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmanın birinci bölümünde bitki materyalleri olarak *Verticillium dahliae* Kleb.' e toleransı bulunan Topan, Halep Karası ve Teorem F1 çeşitleri ve 2 ıslah hattı [Vd-1 ve Vd-2 (LS 2346)] kullanılmıştır. Anterler, 8 gün boyunca 35 ° C'de karanlıkta tutulmuştur, daha sonra C ortamında 4 gün boyunca 25 ° C'de 12 saatlik bir ışık periyodu ile inkübe edilmiştir ve daha sonra 30 g/L sukroz ve 0.1 mg/L kinetin içeren R ortamına aktarılmıştır. Haploid embriyolar Topan ve Halep Karası' ndan sırasıyla % 4.16 ve % 2.63 oranında elde edilmiştir. Topan ve Halep Karası patlıcan çeşitlerinin anter kültürüne verdikleri tepkiler Teorem F1 çeşidi ve Vd-1 ve Vd-2 hatlarının tepkilerinden daha iyidir. Bu sebeple Topan ve Halep Karası çeşitleri donör ebeveyn olarak kullanılmış ve karşılıklı olarak diğer 3 genotiple (Teorem F1, Vd-1 ve Vd-2) melezlenmiştir. Melezler arasında gametik embriyogenez, sadece TopanxTeorem F1 ve Teorem F1xTopan kombinasyonlarından sırasıyla % 0.87 ve % 2.57 oranında elde edilmiştir. Haploid embriyoların gelişimi ve bitki oluşumu sırasıyla % 0.69 ve % 2.57 oranında gerçekleşmiştir [50].

“Faselis F_1”, “Amadeo F_1” ve “Aydın Siyahı” olmak üzere üç farklı patlıcan çeşidi kullanılarak, mikrospor kültürü yoluyla haploid embriyo uyartımı elde etmede etkili bir protokol geliştirmek amacıyla yapılmış çalışmada embriyo oluşumunun uyarılması için, ovaryum ko-kültür sisteminin patlıcanda mikrospor kültürü üzerine etkisinin ortaya konması amaçlanmıştır. Ayrıca mikrospor kültürü yoluyla haploid embriyo elde etmek için yapılan denemelerde, uygun tomurcuk gelişme devresi

ve optimum mikrospor izolasyon yönteminin belirlenmesine çalışılmıştır. Bu amaçla, ilk olarak uygun mikrospor gelişme dönemi belirlenmiştir. Bu tomurcuklardan çıkarılan anterler 35°C'de 8 gün karanlık koşullarda 0.3 M mannitol solüsyonu içinde ön uygulamaya maruz bırakılmıştır. Ön uygulama işleminden sonra NLN ortamında izole edilip kültüre alınan mikrosporlara haploid embriyo oluşumunu uyartmak için ilk olarak 5 mg/l 2,4-D + 5 mg/l KIN ve 5 mg/l NAA+ 5 mg/l BAP hormon konsantrasyonlarını içeren kültür ortamlarının etkileri araştırılmıştır. Bu ortamlarda Aydın Siyahı çeşidinde herhangi bir gelişme gözlenmezken, Faselis ve Amadeo çeşitlerinde ise yalnızca simetrik çekirdek bölünmesi uyartılabilmiştir. Ovaryum ko-kültür denemeleri için, buğday ovaryumlarının bu kültür ortamlarına ilave edilmesiyle Faselis ve Amadeo çeşitlerinde simetrik bölünme yanında çok çekirdekli yapıların oluşumu, Aydın Siyahı'nda ise simetrik bölünme uyartılmıştır. Ancak hiçbir çeşitte, ortam ve koşulda mikrosporlardan embriyo oluşumu sağlanamamıştır [73].

Rivas-Sendra et al., 2017 çalışmalarında ticari bir melezden androjenezden patlıcanda doubled haploid (DH) popülasyonu geliştirmiştir. Morfolojik varyasyon, üreme yeteneği ve androjenik yeteneği değerlendirmiştir. DH popülasyonu yaprak, çiçek ve meyve ile ilgili vejetatif özelliklerde ve meyve ve tohum oluşumu veya çimlenme oranı gibi üreme özelliklerinde ayrışma göstermiştir. DH popülasyonu ve daha sonraki nesiller, androjenik cevapta, düşük ve yüksek bir varyasyon göstermiştir. Bu popülasyondan, morfoloji ve üreme kabiliyeti bakımından donör hibritine oldukça benzeyen, ancak hibritten dört kat daha fazla callus üreten ilk patlıcan yüksek androjenik DH hattını (DH36) tanımlamıştır. Yüksek androjenik hat DH36' nın, hem temel hem de uygulamalı araştırmalar için patlıcan androgenezi ve embriyogenez çalışmasını kolaylaştırmak için bir model hat olarak kullanılabilirliğini tespit etmişlerdir [74].

Patlıcanda (*Solanum melongena* L. Cv. Bulat Putih) kotiledon eksplantlarından sürgün oluşumu potansiyeline 6-benzilaminopurin (BAP) ve Kinetin'in etkisinin araştırıldığı çalışmada, sonuçlar hem BAP hem de Kinetin'in kotiledon eksplantlarından kallus rejenerasyonunu indükleyebildiğini göstermiştir. Öte yandan, 2.0 mg / L konsantrasyonundaki Kinetin, eksplant başına 1.50 ± 0.22 sürgün değerinde sürgünleri başarıyla uyarırken, BAP tek başına sürgün oluşumunu tetiklememiştir. Bu çalışma tek

başına kinetinin, BAP'ın bulunmadığı ortamda patlıcan sürgünlerini başlatmak için yeterli olduğunu göstermiştir [75].

Özdemir-Çelik ve Onus (2019), 'Patlıcanda (*Solanum melongena* L.) Mikrospor Kültürü Üzerine Bir Ön Araştırma' adlı çalışmalarında iki adet patlıcan (*Solanum melongena* L.) çeşidinin mikrospor kültür tekniğine tepkisinin belirlenmesini amaçlamıştır. Bu amaçla, ilk olarak uygun mikrospor gelişme dönemindeki mikrosporlar (çoğunluğu vakuol mikrospor ve genç çift çekirdekli polen) anterlerden izole edilerek 35°C'de 3 gün karanlık koşullarda ön uygulamaya maruz bırakılmıştır. Ön uygulama işleminden sonra mikrosporlar %2 sakkaroz, 0.5 mg/l naphthaleneacetic acid (NAA) ve 0.5 mg/l 6-benzylaminopurine (BAP), pH 5.9, içeren NLN ortamında kültüre alınmış ve bir ay boyunca 25°C'de karanlıkta bekletilmiştir. Kültür süreci boyunca mikrospor embriyogenesis indüksiyon süreci mikroskobik olarak analiz edilerek bu gelişimsel sapmanın ilk evrelerine odaklanılmıştır. Mikrosporların indüksiyondan hemen sonra kallus haline gelmeden önce simetrik bölünme ve çok çekirdekli yapılar meydana getirdiği daha sonra ise mikrosporların direkt embriyo oluşturmadıkları ve kallus oluşturduğu tespit edilmiştir. Araştırmada bir ay sonunda mikrosporlardan yalnızca kallus oluşumu meydana gelmiştir ve petri başına toplam kallus sayısı belirlenmiştir. G07-1 çeşidinde ortalama 288 kallus/petri elde edilirken G07-2 çeşidinde 64 kallus/petri meydana gelmiştir [76].

3. BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

Bu araştırma, 2016 – 2019 yıllarında Erciyes Üniversitesi, Seyrani Ziraat Fakültesi Araştırma Birimi Bahçe Bitkileri Bölümü Doku Kültürü ve Moleküler Genetik Laboratuvarlarında yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Araştırmada bitkisel materyal olarak 3 adet Yamula Patlıcanı (*Solanum melongena* L.) ve 80 adet fusariuma dayanıklılığı taşıdığı düşünülen genotip kullanılmıştır (Çizelge 3.1).



Şekil 3.1.Çalışmada kullanılan bazı patlıcan genotipleri

3.2.Metot

Bu 80 genotipin *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*'ya karşı dayanıklılığı belirlenmek üzere SCAR moleküler markır sistemi, Me8SCAR2:/Em5SCR: primer çifti ile dayanıklılık testlemesi yapılmıştır. Test sonucu dayanıklılığı belirlenen (Şekil 3.2) 4 adet genotiple yamula patlıcanı genotipleri melezlenmiş ve ardından melezlenen yamula patlıcanı hattının tekrar geriye melezlemelerinden GM1F1 bireyler elde edilmiştir. GM1F1 generasyonlarındaki dayanıklı-duyarlı bitki dağılımları tespit edilerek dayanıklı olan melezlerin anter kültürü kullanılarak double haploid bitki elde edilmesi tek bir

generasyonda homozigot DH haploid bitkiler elde edilerek yamula patlıcanında *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*'ya karşı dayanıklık kazandırılmasının sağlanması hedeflenmiştir. Çalışma planı aşağıda verilmiştir.

ÇALIŞMA PLANI



Moleküler Testleme (80 Adet Dayanıklı Olabilecek + Yamula Patlıcanı)



Yamula Patlıcanı X Dayanıklı Ebeveyn



F1 Moleküler Testleme



Yamula Patlıcanı x F1 (GM1) Moleküler Testleme



Anter Kültürü (Dayanıklı Olan Bitkilerden)



Morfolojik ve Pomolojik Karakterizasyon

3.2.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi

Çalışmada kullanılan genotiplere ait tohumlar Kayseri ili Yemliha Kasabası çiftçilerinden elde edilen ve anter kültüründe yoluyla saflaştırılmıştır. Genotiplere ait tohumlar Seyrani Ziraat Fakültesi Araştırma Birimi'ne ait seralarda 3:1 oranında karıştırılmış torf:perlit karışımında 77'li viyollerde çimlendirilmiştir. Fideler dört yapraklı aşamada 3m x 2m lik yatağa, rastgele bir tam blok tasarımında, dört tekrarla, sıralar arasında 40 cm ve sıralar içinde 30 cm boşlukta seraya aktarılmıştır.

Seraya aktarılan bitkilere gelişim dönemine bağlı olarak bitkilerin gelişimleri dikkate alınarak haftada iki defa % 0,2'lik KNO3 ile gübreleme yapılmıştır (Çizelge 3.1.). Sulama, damla sulama ile günlük olarak yapılmıştır. Dikim işleminden sonra yapancı ot durumuna göre ortalama haftada bir defa çapalama işlemi yapılmıştır. Bitkiler yeterli büyüklüğe ulaşınca boğaz doldurma işlemi gerçekleştirilmiştir. Gerekli görüldüğünde hastalık-zararlılara karşı ilaçlamalar yapılmıştır (Çizelge 3.2.).

Çizelge 3.1. Bitkilere uygulanan gübreleme Programı

Bitki büyüme dönemi	Uygulama oranı
Fide	g/m
Ammonium sulphate	15 g
Seraya aktarma aşaması	Herbir bitki için
Calcium ammonium nitrate	10 g
Ammonium sulphate	65 g
Seraya aktardıktan sonra	Herbir bitki için
Ammonium sulphate	30 g
13:13:20:2 complex NPK fertiliser	25 g

Çizelge 3.2. Bitkilere uygulanan ilaçlama programı

Zararlı	Pestisit	Dozaj (g/l)	Uygulama sıklığı
Kırmızı örümcek	Peropal	3 g	10 gün
Beyaz sinek	Decis (deltametrine) (cypermetrine)	0.5 ml	10 gün
Hastalık			
Külleme	Microthiol	3 g	7 gün

3.2.2. Morfolojik karakterizasyon

Morfolojik karakterizasyon için 16 adet bitki özelliğine, 14 adet meyve özelliği incelenmiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Çalışmada incelenen morfolojik; nitel özellikler

Sıra No	Özellikler	Açıklamalar
1	Bitki Duruşu	Dik, Yarı Dik, Yatık
2	Bitki Boyu	Kısa, Orta, Uzun
3	Bitki Sap Uzunluğu	Kısa, Orta, Uzun
4	Sapta Antosiyanin Renklenmesi	Yok, Var
5	Sapta Antosiyanin Renklenmesi Yoğunluğu	Hafif, Orta, Kuvvetli
6	Sapta Tüylülük	Hafif, Orta, Çok
7	Dal Boğum Arası Uzunluğu	Kısa, Orta, Uzun
8	Yaprak Büyüklüğü	Küçük, Orta, Büyük
9	Yaprak Kenar Şekli	Bütün, Dişli, Dalgalı
10	YaprakKenarında Dalgalanmanın Derecesi	Hafif, Orta, Kuvvetli
11	Yaprakta Kabarcıklanma	Yok, Var
12	Yaprakta Dikenlilik	Yok, Hafif, Orta, Kuvvetli, Çok Kuvvetli
13	Yaprak Rengi	Yeşil, Mavimsi Yeşil, Menekşe Yeşili
14	HipokotildeAntosiyaninRenklenmesi	Yok, Var
15	HipokotildeAntosiyanin Renklenmesinin Yoğunluğu	Hafif, Orta, Kuvvetli
16	Çiçek Mor	Açık, Orta, Koyu

Bitkisel özellikler nitel olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.4. Çalışmada incelenen morfolojik; nicel özellikler

Sıra No	Özellikler	Açıklamalar
1	Meyve Uzunluğu	Sayısal Veri
2	Meyvede Sap Uzunluğu	Sayısal Veri
3	Meyve Genel Şekli	Armut, Beyzi, Küre, Silindirik
4	Meyvede Sap Dikenliliği	Yok, Var
5	Meyvede Eğrilik	Yok, Orta, Çok
6	Meyve Rengi	Leylak, Mor, Siyah
7	Meyvede Parlaklılık	Parlak, Mat
9	Meyvede Damarlılık	Yok, Var
11	Meyve Et Rengi	Beyazımsı, Yeşilimsi
12	Meyve Ağırlığı	Sayısal Veri
13	Meyve Eti Sertliği	Sayısal Veri
14	Meyvede Tohum Durumu	Az, Orta, Çok

Meyve uzunluğu: Kumpas yardımıyla mm cinsinden ölçülmüştür.
Meyvede sap uzunluğu: Kumpas yardımıyla mm cinsinden ölçülmüştür.
Meyvede sap kalınlığı: Kumpas yardımıyla mm cinsinden ölçülmüştür.
Meyvede sap dikenliliği: Görsel olarak değerlendirilmiştir.
Meyvede parlaklık: Görsel olarak değerlendirilmiştir.
Meyve genel şekli: Görsel olarak değerlendirilmiştir.
Meyvede eğrilik: Görsel olarak değerlendirilmiştir.
Meyve rengi: Görsel olarak değerlendirilmiştir.
Meyvede damarlılık: Görsel olarak değerlendirilmiştir.
Meyve et rengi: Görsel olarak değerlendirilmiştir.
Meyve ağırlığı: Hassas terazi yardımıyla g cinsinden ölçülmüştür.
Meyve eti sertliği: Penetrometre yardımıyla kg/cm^2 olarak ölçülmüştür.
Meyvede tohum durumu: Görsel olarak değerlendirilmiştir.
Morfolojik karakterizasyondan elde edilen verilerin analizinde aşağıda belirlenen kriterler kullanılmıştır.

Bitki duruşu: (3) Dik, (5) Yarı Dik, (7) Yatık
Bitki boyu: (3) Kısa, (5) Orta, (7) Uzun
Bitki sap uzunluğu: (3) Kısa, (5) Orta, (7) Uzun

Sapta antosiyanin renklenmesi: (1) Yok, (2) Var
Sapta antosiyanin renklenmesi yoğunluğu: (3) Hafif, (5) Orta, (7) Kuvvetli
Sapta tüylülük: (3) Hafif, (5) Orta, (7) Çok
Dal boğum arası uzunluğu: (3) Kısa, (5) Orta, (7) Uzun
Yaprak büyüklüğü: (3) Küçük, (5) Orta, (7) Büyük
Yaprak kenar şekli: (1) Bütün, (2) Dişli, (3) Dalgalı
Yaprak kenarında dalgalanmanın derecesi: (3) Hafif, (5) Orta, (7) Kuvvetli
Yaprakta kabarcıklanma: (1) Yok, (2) Var
Yaprakta dikenlilik: (1) Yok, (3) Hafif, (5) Orta, (7) Kuvvetli, (9) Çok Kuvvetli
Yaprak rengi: (1) Yeşil, (2) Mavimsi Yeşil, (3) Menekşe Yeşili
Hipokotildeantosiyanin renklenmesi: (1) Yok, (2) Var
Hipokotildeantosiyanin renklenmesinin yoğunluğu:(3) Hafif, (5) Orta, (7) Kuvvetli
Çiçek mor rengi: (3) Açık, (5) Orta, (7) Koyu
Meyve uzunluğu: Sayısal veri
Meyve genel şekli: (1) Armut, (2) Beyzi, (3) Küre, (4) Silindirik
Meyvede eğrilik: (3) Yok, (5) Orta, (7) Çok
Meyve genel rengi: (3) Leylak, (5) Mor, (7) Siyah
Meyvede damarlılık: (1) Yok, (2) Var
Meyve et rengi: (1) Beyazımsı, (2) Yeşilimsi
Meyve ağırlığı: Sayısal veri
Meyve eti sertliği: Sayısal veri
Meyvede tohum durumu: (3) Az, (5) Orta, (7) Çok
Meyvede sap uzunluğu: Sayısal veri
Meyvede sap kalınlığı: Sayısal veri
Meyvede sap dikenliliği: (1) Var, (2) Yok
Meyvede parlaklık: (1) Parlak (2) Mat

3.2.3. MAS (Moleküler Markör Yardımıyla Seleksiyon)

80 adet dayanıklılık taşıya bileceği düşünülen patlıcan genotipinden alınan yapraklar DNA izolasyonu Doyle ve Doyle (1990)'a göre modifiye edilmiş olan CTAB metoduna göre yapılmıştır [77].

DNA izolasyonunda kullanılan tampon çözeltinin içeriği gösterilmiştir.

DNA izolasyon protokolü;

1. 62^{o}C' de su banyosunu önceden hazırlanır.

2. Taze yapraklar (0.2 gr) 0.6 ml ekstraksiyon çözeltisi (Çizelge 3.2) içerisinde ezilmiştir.
3. 62 ^{o}C' de 30 - 60 dakika boyunca inkubasyon yapılır, örnekler arasıra ters-düz edilir.
4. 300 ul chloroform: octanol (24 : 1) çözeltisi ilave edilir ve yavaşça ters-düz yapılarak karıştırılır (100 defa).
5. 14000 rpm.' de 5 dk santrifüj edilir.
6. Sulu kısmı pipetle çekilerek başka steril 1,5 ml' lik bir tüpe aktarılır.
7. 500 ul chloroform: octanol (24:1) çözeltisi ilave edilir ve yavaşça ters-düz yapılarak karıştırılır (100 defa).
8. 14000 rpm.' de 5 dk santrifüj edilir.
9. 2. kez 500 ul chloroform: octanol (24:1) çözeltisi ilave edilir ve yavaşça ters-düz yapılarak karıştırılır (100 defa).
10. 14000 rpm.' de 5 dk santrifüj edilir.
11. Üst faz pipetle çekilerek başka steril 1,5 ml' lik bir tüpe aktarılır.
12. Üzerine toplam hacmin 2/3 ü kadar (550 ul) soğuk isopropanol ilave edilir (beyaz çökelek halinde DNA + diğer organik bileşikler gözle görülebilir). 30 dk veya daha fazla süre ile –20 ^{o}C'de bekletilir.
13. 14000 devirde 2 dk santrifüj edilir ve sıvı kısmı uzaklaştırılır.
14. Elde edilen pelletin üzerine 500 ul yıkama çözeltisi (% 76 etanol ve 10 mM NH4Ac (amonyum asetat)) ilave edilir ve oda sıcaklığında 10 dk bekletilir.
15. 14000 rpm' de 3 dk santrifüj yapılır ve sıvı kısım uzaklaştırılır.
16. Beyaz çökelek tamamen kuruyuncaya kadar çeker ocakta bekletilir.
17. Beyaz çökelti üzerine 300 ul TE (10 mM Tris, 0,1 mM EDTA, pH 7,4) ilave edilir.
18. Çökelti tamamen çözünene kadar oda sıcaklığında gece boyunca veya 65 ^{0}C' de 60 dk boyunca bekletilir.

19. 10 ug/ml son konsantrasyon olacak şekilde RNAse ilave edilir ve 37 ^{o}C' de 30 dk inkube edilir.
20. 200 ul TE ve 15 ul amonyum asetat (10 mM, pH 7,7) ilave edilir. Son olarak çözelti üzerine 2 hacim kadar soğuk etanol ilave edildikten sonra 20 dk süre ile veya gece boyunca –20 ^{o}C' de bekletilir.
21. 14000 rpm.' de 3 dk santrifüj yapılır ve sulu kısmı dikkatlice döktükten sonra oda koşullarında çökelti iyice kurutulur.
22. Uygun miktarda TE (10 mM Tris, 0.1 mM EDTA, pH 7.4) ilave edilir (100-200ul) [77].



Şekil 3.2. DNA izolasyonu

Çizelge 3.5. DNA Ekstraksiyon Çözeltisi

Kimyasal	Oran
CTAB	% 2
EDTA	20Mm
Tris-Cl	100Mm
NaCl	1.4M
Mercaptoethanol	%0.2

Elde edilen DNA örnekleri % 1'lik agaroz jelde yürütülerek miktarı belirlenmiş ve 15 µL PCR reaksiyonu içerisinde 20 ng olacak şekilde eşitlenmiştir.

PCR optimizasyonu:

Fusarium oxysporum f. sp. *melongenae*'a dayanıklılığın testlenmesinde belirlenen dizilimleri verilen *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*' ya karşı dayanıklılık için geliştirilmiş moleküler markörlere ait primer (Me8SCAR2:/Em5SCAR:) dizilimleri kullanılmıştır (Mutlu ve ark. 2010). Çizelge 3.5' te her primer için optimize edilmiş dd.H_2O, Buffer, $MgCl_2$, dNTP, primer, DNA Taq Polimeraz ve DNA miktarları ve Çizelge 3.6' da döngü programları verilmiştir.

Çizelge 3.6. PCR Mix Konsantrasyonları

DNA	**Buffer**	**$MgCl_2$**	**dNTP**	**Primer**	**Taq**	**Su**	**Tp.Hacim**
20ng/µl	10x µl	50mM	100mM		0,5 U	µL	µL
2 µl	1,5 µl	1,5 µl	0,33	1+1 µl	0,16	7,51	15

Çizelge 3.7. PCR Döngü Programı

Sıcaklık	**Süre**	**Açıklama**
94 °C	3 dk-1 döngü	Ön denatürasyon
94 °C	45 sn-35 döngü	Denatürasyon
57 °C	60 sn-35 döngü	Bağlanma
72 °C	60 sn -35 döngü-2 tekrar	Uzama
72 °C	7 dk-1 döngü	Son uzama
4 °C	-	Bekleme

PCR çalışmalarından elde edilen PCR ürünlerine 3 µl yükleme bufferı (20 ml gliserol (% 40), 30 ml steril su, 0.05 g bromofenolblue) eklenerek elde edilen karışım % 2' lik agaroz jele yüklenerek 110 V elektrik akımı altında 3 saat süreyle yürütülmüştür. Agaroz jelin hazırlanmasında 10X TBE bufferı kullanılmış ve içerisine 25 µl (0.5 mg/ml) ethidiumbromide çözeltisi eklenmiştir. Her elektroforez işleminde 100 bp DNA Ladder standart olarak yüklenmiştir. Elektroforez işleminden sonra jeller bilgisayara bağlı olan jel görüntüleme cihazına alınarak UV altında jel görüntüleri bilgisayara kaydedilmiş, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*' ya daynıklıkları tespit edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 3.3. PCR, Görüntüleme cihazı

3.2.4. Anter Kültürü

3.2.4.1. Çiçek Tomurcuklarının Toplanması

Anter kültürü için elverişli olan tek çekirdekli ve 1. polen mitozu aşamasındaki mikrosporları bulunduran morfolojik gelişme dönemine sahip tomurcuklar, ayrıca kontrol edilmek amacıyla sitolojik incelemeye tabi tutulmuştur. Buna göre %2'lik asetokarmin ile boyanan anterlerin içerisindeki mikrosporların, tek çekirdekli mikrosporlara sahip olup olmadıkları incelenmiştir. Buna göre patlıcanlarda uygun dönemdeki tomurcukların tomurcuk uzunluğunun 15-17 mm olduğu, petallerin sepal ayrım seviyesine ulaştığı ve anter renginin yeşilimsi sarı olduğu aşamadaki tomurcuklar kültüre alınmıştır.

3.2.4.2. Kültüre Alma ve İnkübasyon

Uygun mikrospor gelişme döneminde çiçek tozlarının bulunduğu anterlere sahip çiçek tomurcukları, birkaç damla Tween-20 eklenmiş %10'luk ticari sodyum hipoklorit çözeltisi içerisinde 15 dakika süreyle dezenfekte edilerek, daha sonra üç kez 5'er dakika süreyle steril saf su ile durulanmıştır. Anterler, çiçek tomurcukları içerisinden bistüri ve kıvrık uçlu bir pens yardımıyla çıkarılılmış ve bekletilmeden ince uçlu bir pens yardımıyla besin ortamı üzerine, dorsal yüzeyi ortamla temas edecek biçimde ve ortama batırılmaksızın yerleştirilmiştir (Şekil 3.2). Her petri kutusuna 5'er adet anter dikilmiş ve uygulamalarda eşit sayıda anter kullanılmasına özen gösterilmiştir. Dikim işlemi tamamlanan petri kutularının kenarları streç film ile kapatılmıştır. Anter dikimi tamamlanan petri kutuları karanlıkta, +35C°'de yüksek sıcaklık şokuna tabi tutularak, 8

gün bu koşullarda bekletildikten sonra 12. günün sonuna kadar 25±2 C° sıcaklık ve 16 saatlik fotoperiyodik düzene ayarlanmış iklim odasına alınmıştır. DDV-C ortamı üzerinde 12 günlük süresini tamamlayan anterler şaşırtma ortamı olan DDV-R ortamlarına transfer edilmiştir. Bu kültürler daha sonraki 3 ay boyunca 25±2 C osıcaklık ve 16/8 saatlik fotoperiyodik düzende inkübe edilmiştir.



Şekil 3.4. Patlıcanda anter kültürü

3.2.4.3. Kültür Sırasında Kullanılan Malzemeler

Anter kültürü çalışmaları esnasında değişik aşamalarda değişik kültür kapları kullanılmıştır. Kültür esnasında kullanılan malzemelerin (besin ortamları, petri kapları, steril su şişeleri, pens-bistüriler, kurutma kağıtları) 121°C'de sıcaklık ve 1.2 kg/cm^2 basınç altında 15 dakika süre ile otoklavlanarak sterilizasyonları yapılmıştır.

3.2.4.4. Besin Ortamlarının Bileşimi

Anter kültürü için MS ortamına eklenen 4 mg/l NAA, 0,5 mg/l BAP, % 0.25 aktif kömür ve 30 g/l sakkaroz ile 15 mg/l AgNO3 ortamı kullanılmıştır (Büyükalaca ve ark. 2004). Anterlerde oluşan embriyoların bitkiye dönüşümlerinin sağlanması için BGD içermeyen 30 g/l sakkaroz içeren MS ortamı kullanılmıştır. Ortam hazırlanırken bütün kimyasallar eklendikten sonra ortamların pH sı 1 N'lik HCl ve 1 N'lik NaOH kullanılarak 5,8 e ayarlanmıştır. Katılaştırıcı olarak agar 8 g/l kullanılıp hazırlanan ortamlar 121°C sıcaklık ve 1.2 kg/cm^2 basınç altındaki otoklavda 15 dakika süre ile sterilize edilerek (Şekil 3.2), sterilizasyon işleminden sonra steril kabin içerisinde ortamlar 6 cm çapındaki steril petriler ve steril deney kavanozlarına 10 ml/petri ve 10

ml/kavanoz olacak şekilde dağıtılmıştır. Dumas de Vaulx (DDV) ve ark., YIL [47]'nın önerdiği C (callus) ve R (regeneration) ortam bileşimleri denemelerde kullanılan besin ortamı olmuştur. DDV temel besin ortamının kullanıldığı çalışmada, anterler kültürün ilk 12 günü C ortamında tutulup, daha sonra farklı aktif kömür tozları ilave edilen ve değişik yapılara sahip R ortamlarına transfer edilmişlerdir. Ortamların tümü agar (%0,8) ile katılaştırılmıştır. Denemelerde kullanılan tüm çeşitlerde çiçek tomurcuklarından izole edilen anterlerden 100'er adet olacak şekilde C ortamına dikim yapılmış; gelişme gösteren anterler 0,1 mg/l kinetin içeren R ortamına transfer edilmişlerdir.



Şekil 3.5. Besi ortamlarının hazırlanması

4. BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Morfolojik Karakterizasyon

Bu çalışmada önce markör analizi yapılarak dayanıklı olarak belirlenen GMF1 bireylerin anter kültürü yoluyla saflaştırılmasının ardından morfolojik olarak ploidy seviyeleri belirlenmiş ve double haploid olan bireyler seçilmiştir. Seçilen bireylere bazı agronomik özellikler bakımından karakterilize edilmiştir. Elde edilen bulgular çizelge.4.1 de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Bitkide morfolojik karakterizasyon sonuçları

Genotipler	B.D.	B.B.	B.S.U.	S.A.R.	S.A.R.Y.	S.T.	D.B.A.U.	Y.B.	Y.K.Ş.	Y.K.D.D.	Y.K.	Y.D.	Y.R.	H.A.R.	H.A.R.Y.	Ç.M.R.
Yamula Ana	Yarı Dik	92 CM	Orta	Yok	-----	Orta	Kısa	22 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
Yamula Ana	Yarı Dik	93 CM	Orta	Yok	-----	Orta	Uzun	27 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Yeşil	----	-----	Açık
Yamula Ana	Yarı Dik	93 CM	Orta	Yok	-----	Hafif	Kısa	23 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
P-23-3	Dik	95 CM	Uzun	Var	Az	Orta	Kısa	23 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
P-14-4	Yarı Dik	91 CM	Orta	Var	Orta	Orta	Kısa	18 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık
P-14-2	Dik	81 CM	Kısa	Yok	----	Hafif	Uzun	19 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
P-13-1	Yatık	77 CM	Kısa	Var	Az	Hafif	Orta	19 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık
AnaxBaba F1 -1	Yarı Dik	90 CM	Orta	Var	Orta	Orta	Orta	18 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
AnaxBaba F1-2	Yarı Dik	95 CM	Orta	Yok	----	Orta	Uzun	21 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
AnaxBaba F1-3	Yarı Dik	94 CM	Uzun	Var	Az	Orta	Orta	22 CM	Dalgalı	Kuvvetli	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık
AnaxBaba F1-4	Yatık	99 CM	Kısa	Var	Az	Hafif	Kısa	25 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
AnaxBaba F1-5	Dik	87 CM	Kısa	Yok	-----	Hafif	Orta	24 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık
AnaxBaba F1-6	Yatık	91 CM	Uzun	Var	Hafif	Orta	Orta	26 CM	Dişli	-----	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
AnaxBaba F1-7	Yarı Dik	77 CM	Kısa	Var	Orta	Hafif	Uzun	22 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık
AnaxBaba F1-8	Dik	91 CM	Kısa	Var	Hafif	Hafif	Orta	23 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
AnaxBaba F1-9	Dik	80 CM	Uzun	Var	Hafif	Hafif	Orta	17 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
AnaxBaba F1-10	Yarı Dik	80 CM	Orta	Var	Hafif	Hafif	Orta	19 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık

GM1-1	Dik	90 CM	Orta	Var	Hafif	Hafif	Uzun	21 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
GM1-2	Yatık	102 CM	Uzun	Var	Hafif	Orta	Orta	26 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık
GM1-3	Yarı Dik	99 CM	Orta	Yok	----	Hafif	Kısa	22 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
GM1-4	Yarı Dik	89 CM	Kısa	Var	Hafif	Hafif	Kısa	17 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık
GM1-5	Dik	107 CM	Orta	Yok	----	Orta	Orta	24 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık
GM1-6	Yarı Dik	98 CM	Orta	Var	Orta	Hafif	Orta	19 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
GM1-7	Dik	103 CM	Uzun	Var	Hafif	Orta	Uzun	27 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
GM1-8	Dik	90 CM	Orta	Var	Orta	Hafif	Kısa	23 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
GM1-9	Dik	97 CM	Orta	Var	Hafif	Orta	Orta	28 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Mavimsi Yeşil	----	----	Açık
GM1-10	Yarı Dik	83 CM	Orta	Var	Orta	Hafif	Orta	19 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık
DH-1	Yarı Dik	102 CM	Kısa	Var	Orta	Hafif	Uzun	22 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık
DH-2	Yarı Dik	92 Cm	Orta	Var	Hafif	Hafif	Orta	27 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık
DH-3	Yatık	76 CM	Uzun	Yok	----	Hafif	Orta	26 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık
DH-4 DH-5	Yarı Dik	85 CM	Orta	Var	Hafif	Hafif	Orta	21 CM	Dalgalı	Hafif	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık
DH-6	Yarı Dik	88CM	Orta	Var	Orta	Hafif	Orta	23 CM	Dalgalı	Orta	Yok	Yok	Yeşil	----	----	Açık

Bitki boyu; en kısa bitki boyuna sahip DH-3 (76 cm), en uzun patlıcan bitki boyu ise GM1-5 (107 cm) dir. Ortalama bitki boyu ise 90,94 cmdir. DH'lerin ortalması 87,60 cm geriye melezlerin ortalaması 95,50 cm anaxbaba F1 ortalaması 88,10 cm'dir. Yaprak büyüklüğünde en fazla GM1-9 sahip (28 cm) en az bitkide ise AnaxBaba F1-9 (17cm) dir. Ortalama yaprak boyutu 22,28 cm dir. DH'lerin ortalması 23 cm geriye melezlerin ortalaması 22,6 cm anaxbaba F1 ortalaması 21,7 cm olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Bitkide morfolojik karakterizasyon

Patlıcan genotiplerinde incelenen bitkisel özellikler varyasyonun olduğu görülmektedir. Bu varyasyonların yapılacak ıslah çalışmalarında kullanılma olanağı bulunmaktadır. Farklılıkların genetik farklılıktan kaynaklandığı söylenebilir.

Meyvede Momolojik Karakterizasyon

Çalışmada 3 adet Yamula genotipi, dayanıklı 3 adet baba ebevyn, 10 adet F1, 10 adet GMF1 ve 6 adet Double Haplaoid geneotiplerin meyve özellikleri belirlenmiş Çizelge 4.2. elde bulgular verilmiştir.

Çizelge 4.2. Meyvede morfolojik karakterizasyon sonuçları

GENOTİPLER	S.P.K	M.S.U.	M.E.	M.Ş.	M.R.	M.S.D.	M.P.	M.E.S.	M.U.	M.Ç.	M.A.	M.D.Ç.	M.T.M.	M.E.R.
Yamula Ana	0,66	6,51	YOK	OVAL	AÇIK-MOR	VAR	PARLAK	3,2	5,30	3,10	105	VAR	ORTA	BEYAZIMSI
Yamula Ana	0,42	5,86	YOK	OVAL	AÇIK-MOR	VAR	PARLAK	3,8	7,30	3,76	130	VAR	ORTA	BEYAZIMSI
Yamula Ana	0,45	5,24	VAR	UZUN	AÇIK-MOR	VAR	PARLAK	1,72	6,20	3,66	95	VAR	ORTA	BEYAZIMSI
P-23-3	0,42	5,01	YOK	OVAL	KOYU-MOR	YOK	PARLAK	4,2	4,90	5,6	55	YOK	AZ	BEYAZIMSI
P-14-4	0,37	4,53	YOK	OVAL	KOYU-MOR	YOK	MAT	3,5	5,8	4,83	75	YOK	AZ	BEYAZIMSI
P-14-2	0,46	5,74	VAR	OVAL	KOYU-MOR	YOK	PARLAK	3,5	5,24	3,96	62	YOK	ORTA	BEYAZIMSI
P-13-1	0,35	6,78	YOK	OVAL	BEYAZ	YOK	MAT	3,6	3,8	4,1	35	YOK	AZ	BEYAZIMSI
AnaxBaba F1 -1	0,81	7,23	VAR	UZUN	KOYU-MOR	YOK	PARLAK	2,7	14,5	2,85	105	YOK	AZ	BEYAZIMSI
AnaxBaba F1-2	0,59	4,6	VAR	OVAL	KOYU-MOR	YOK	MAT	3,4	8,5	4,8	95	YOK	AZ	BEYAZIMSI
AnaxBaba F1-3	0,61	5,56	VAR	OVAL	SARI-MOR	VAR	MAT	3,9	9,25	4,16	74	VAR	ORTA	BEYAZIMSI
AnaxBaba F1-4	0,64	7,8	VAR	UZUN	KOYU-MOR	YOK	PARLAK	2,2	8,6	4,65	40	YOK	AZ	BEYAZIMSI
AnaxBaba F1-5	0,96	5,43	VAR	UZUN	KOYU-MOR	YOK	PARLAK	3,2	14,6	4,12	95	YOK	ORTA	BEYAZIMSI
AnaxBaba F1-6	0,48	4,98	YOK	OVAL	AÇIK-MOR	YOK	MAT	3,2	7,91	4,65	78	VAR	AZ	BEYAZIMSI
AnaxBaba F1-7	0,59	6,17	YOK	OVAL	KOYU-MOR	VAR	PARLAK	3,8	7,02	4,37	40	YOK	ORTA	BEYAZIMSI
AnaxBaba F1-8	0,63	5,73	YOK	OVAL	KOYU-MOR	YOK	PARLAK	3,8	12,0	4,23	97	YOK	ORTA	BEYAZIMSI
AnaxBaba F1-9	0,72	5,47	VAR	OVAL	KOYU-MOR	YOK	PARLAK	3,4	11,3	4,14	90	YOK	ÇOK	BEYAZIMSI
AnaxBaba F1-10	0,84	6,56	YOK	UZUN	AÇIK-MOR	YOK	PARLAK	3,2	16,3	4,19	95	VAR	AZ	BEYAZIMSI
GM1-1	0,81	7,23	VAR	OVAL	AÇIK-MOR	YOK	PARLAK	2,7	14,5	2,85	105	VAR	AZ	BEYAZIMSI
GM1-2	0,64	5,8	VAR	OVAL	AÇIK -MOR	YOK	MAT	3,4	11,5	3,8	134	VAR	AZ	BEYAZIMSI
GM1-3	0,61	5,56	VAR	OVAL	SARI-MOR	VAR	MAT	3,9	9,25	4,16	74	VAR	ORTA	BEYAZIMSI
GM1-4	0,7	5,1	VAR	OVAL	AÇIK -MOR	VAR	PARLAK	2,2	8,4	3,9	40	VAR	AZ	BEYAZIMSI
GM1-5	0,97	5,43	VAR	UZUN	KOYU-MOR	YOK	PARLAK	3,2	14,6	4,12	95	YOK	ORTA	BEYAZIMSI
GM1-6	0,48	4,98	YOK	OVAL	AÇIK -MOR	YOK	MAT	3,2	7,91	4,65	78	VAR	AZ	BEYAZIMSI
GM1-7	0,59	6,17	YOK	UZUN	KOYU-MOR	YOK	PARLAK	3,8	7,02	4,37	39	YOK	ORTA	BEYAZIMSI
GM1-8	0,63	5,73	YOK	OVAL	AÇIK –MOR	VAR	PARLAK	3,8	12,0	4,23	97	VAR	ORTA	BEYAZIMSI
GM1-9	0,72	5,47	VAR	OVAL	AÇIK -MOR	YOK	PARLAK	3,4	11,3	4,14	90	VAR	ÇOK	BEYAZIMSI
GM1-10	0,84	6,56	YOK	OVAL	KOYU-MOR	YOK	PARLAK	3,2	16,2	4,19	95	YOK	AZ	BEYAZIMSI
DH-1	0,81	7,23	VAR	UZUN	AÇIK-MOR	VAR	PARLAK	2,7	14,5	5,7	105	VAR	AZ	BEYAZIMSI
DH-2	0,79	5,68	VAR	OVAL	AÇIK-MOR	VAR	MAT	3,4	12,4	4,8	130	VAR	AZ	BEYAZIMSI
DH-3	0,61	5,56	VAR	OVAL	AÇIK-MOR	VAR	PARLAK	3,9	9,25	4,16	104	VAR	ORTA	BEYAZIMSI
DH-4	0,67	5,36	VAR	OVAL	AÇIK-MOR	VAR	PARLAK	2,2	13	5,35	110	VAR	AZ	BEYAZIMSI
DH-5	0,96	5,43	VAR	OVAL	AÇIK-MOR	VAR	PARLAK	3,2	14,6	4,12	97	VAR	ORTA	BEYAZIMSI
DH-6	0,58	4,98	YOK	OVAL	AÇIK-MOR	VAR	PARLAK	3,2	9,91	4,65	120	VAR	AZ	BEYAZIMSI

Elde edilen bulgulara göre meyvede sap kalınlığı; en yüksek değer GM1-5 (0,96 cm), en düşük değer ise P-13-1 (0,35 cm) genotipdir. Ortalama kalınlığı ise 0,64 cmdir. DH'lerin ortalması 0,73 cm geriye melezlerin ortalaması 0,69 cm anaxbaba F1 ortalaması 0,68 cm'dir. Meyvede sap uzunluğu; en yüksek değer anaxbaba F1-4 (7,8 cm), en düşük değer ise P-14-4 (4,53 cm) dir. Ortalama uzunluğu ise 5,8 cmdir. DH'lerin ortalması 5,7 cm geriye melezlerin ortalaması 5,8 cm anaxbaba F1 ortalaması 5,95 cm'dir. Meyve uzunluğu; en yüksek değer anaxbaba F1-10 (16,3cm), en düşük değer ise P-13-1 (3,8 cm) dir. Ortalama uzunluğu ise 10,14 cmdir. DH'lerin ortalması 12,27 cm geriye melezlerin ortalaması 11,26 cm anaxbaba F1 ortalaması 10,33 cm. Meyve çapı; en yüksek değer DH-1 (5,7cm), en düşük değer ise anaxbaba F1-1 (2,85 cm) dir. Ortalama çap ise 4,25 cmdir. DH'lerin ortalması 4,8 cm geriye melezlerin ortalaması 4,04 cm anaxbaba F1 ortalaması 4,2 cm'dir. Meyve ağırlığı; en yüksek değer GM1-2 (134 gr), en düşük değer ise GM1-2 (39 gr) dir. Ortalama ağırlığı ise 87,15 gr cm. DH'lerin ortalaması 111 gr geriye melezlerin ortalaması 84,14 gr anaxbaba F1 ortalaması 80,9 gr.

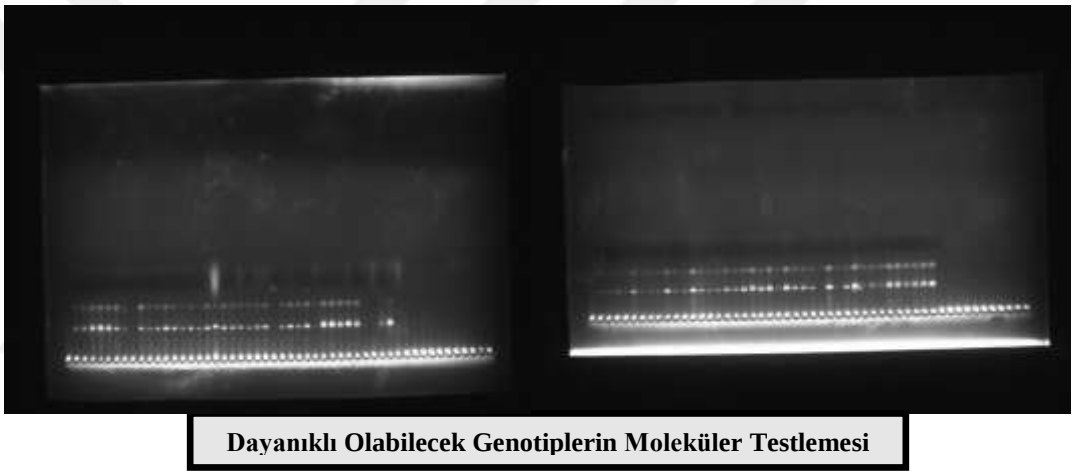


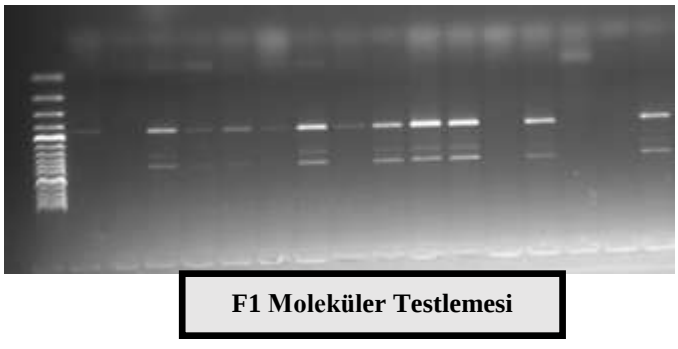
Şekil 4.2. Meyvede morfolojik karakterizasyon Yamula patlıcanı;a,b,c Dayanıklı baba ebevyn: d,e Anaxbaba f1:f,g Gerimelez:h Double haplaid:ı,j

4.2. MAS (Moleküler Markör Yardımıyla Seleksiyon)

4.2.1. Dayanıklık testleri

Bu çalışmada PCR tekniği kullanılarak bazı dayanıklı patlıcan genotipleri belirlenmeye çalışılmıştır. PCR tekniğinden önce PCR optimizasyonu çalışmaları yapılmıştır. *Fusarium*a karşı direnci doğrulamak için iki kez moleküler testleme yapılmıştır. Birincisi 80 adet fusariuma dayanıklılığı taşıdığı düşünülen donör ebeveynleriden ikincisi anaxbaba F1 lerden yapılmıştır. Genotiplerin dayanıklılıklarını belirlemek amacıyla yapılan moleküler çalışmadan elde edilen görüntüler Şekil 4.3' te verilmiştir.





Şekil 4.3. Söz konusu genotiplerdeki Me8SCAR2:/Em5SCR: primer çifti ile dayanıklılık testlemesinin jel görüntüsü

Elde edilen bulgulara göre moleküler olarak SCAR 426 markırı ile testlenen 80 adet gen4 adet genotipin (P23-3, P14-4, P14-2, P13-1) *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*'ya karşı dayanıklı olduğu tespit edimiştir. Daha önceki çalışmalarda LS2436'nın *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*'ya karşı dayanıklı olduğu ve tek dominant gene sahip olduğunu doğrulanmıştır. Mutlu ve Ark al. (2008) çalışmalarında (1) patlıcandaki *fusarium* solma direncinin monogenik kalıtımında Co-dominant SRAP markırı Me8/Em5 ve dominant SRAP-RGA markırı Em12/GLPL2, birbirlerine sıkıca bağlı ve markırın gene olan uzaklığının 1.2 cM mesafede olduğunu bildirmişlerdir. Bundan yola çıkarak dönor ebeveyn ve F1 melezlerdeki popülasyonlarında *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*'ya karşı dayanıklılığı, bekleme süresi sempton tespiti ve dirençli genotip seçimine izin veren birçok avantaj sunacağını beyan etmişlerdir.

4.3. Anter Kültürü Çalışmaları

Çalışmada geriye melezpopulasynuna ait bireylerden anter kültürü tekniği kullanılarak double haploid bitki eldesi amaçlanmıştı. Bu doğrultuda SCAR426 markırı kullanılarak dayanıklılık bandı taşıyan 10 adet geriye melez popülasyonuna ait bireylerden anter kültürü yapılmış ve elde edilen bulgular (embriyo oluşturan anter sayısı ve gelişen bitki oranı） Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Elde edilen bulgulara göre kültüre alınan 100 anterden en yüksek embriyo sayısı GM1-1 nolu genotipten(28 adet/100 anter) elde edilirken en düşük embriyo sayısı GM1-4 nolu genotipten elde edilmiştir. Diğer taraftan genotiplerden elde edilen embriyo oranı yüksek olmasına rağmen gelişen bitki sayısı oldukça düşük gerçekleşmiştir. Gelişen bitki sayısı en yüksek GM1-10 nolu genotipten(10 adet/100 anter) elde edilirken 3 adet genotipten (GM1-4, GM1-6 ve GM1-8) hiç bitki elde edilememiştir. Bunun nedeni ise anter kültürü etkinliğinin genotipin etkisi olduğu savı ile açıklanabilir. 10 adet GM1 populasyonundan toplam 26 adet bitki elde edilmiş ve agronomik olarak double haploid olduğu belirlenen(çiçek yapısı ve çiçek tozu oluşumu) 10 adet genotip tekrar markır testlemesine tabi tutulmuş ve bunlardan SCAR426 markırı ile dayanıklılık bandı veren 6 adet genotipte bazı morfolojik ve pomolojik analizler yapılmıştır.

Çizelge 4.3. Embriyo oluşturan anter sayısı ve gelişen bitki oranı

GENOTİPLER	Ortama Konulan Anter Sayısı	Embriyo Oluşturan Anter Oranı Sayısı	Gelişen Bitki Sayısı
GM1-1	100	28	0,00
GM1-2	100	12	2
GM1-3	100	18	3
GM1-4	100	7	0,00
GM1-5	100	12	1
GM1-6	100	9	0,00
GM1-7	100	24	3
GM1-8	100	11	0,00
GM1-9	100	17	7
GM1-10	100	15	10,0



Şekil 4.4. Patlıcan anterlerinin sabitlenmesinden bir görüntü



Şekil 4.5. GM1-3 Genotipten elde edilen anterlerin embriyoya dönüşümü ve haploid bitkilerin aklimatizasyonu

Anter kültürü ile haploid bitkilerin elde edilmesi, genelde çoğu bitki türünde önemli yararlar sağlamakta; özelde ise sebze türlerinde gerek kombinasyon ıslahı ve gerekse hibrit çeşit ıslahında ıslah sürecini kısaltıcı açıdan ve yeni genotiplerin ortaya çıkması bakımından ıslahçılara büyük kolaylık sağlamaktadır. Ancak haploid bitki elde oranı, birçok faktöre bağlıdır. Bunlardan biri de mevsimsel farklılıklardır. Anterlerin içinde bulunan polenlerin yapısal olarak birbirinden farklı olmaları, mevsimlerin etkisini açıklamada etkili olabilir. Bu hipotezi açıklamak üzere patlıcanda farklı dönemlerde yetiştirilen bitkilerden alınan anterler kültüre alınmış ve aynı zamanda mikrosporları da yapısal olarak incelenmiştir. Aydın Siyahı ve Kemer patlıcan çeşitlerinde S-polen varlığı ile haploid embriyo oluşumu arasındaki ilişki incelenmiştir. Sonbahar dönemi anter kültürü için başarılı bulunmazken, yaz başlangıcında alınan anterlerden haploid embriyo ve bitki elde edilmiştir(Ellialtıoğlu ve ark. 2012).

Patlıcandaki androgenez etkinliğinin genotiplere güçlü bir şekilde bağlı olduğu ortaya konmuştur [50]. Haploid embriyolar Topan ve Halep Karası' ndan sırasıyla % 4.16 ve % 2.63 oranında elde edilmiştir. Topan ve Halep Karası patlıcan çeşitlerinin anter kültürüne verdikleri tepkiler Teorem F1 çeşidi ve Vd-1 ve Vd-2 hatlarının tepkilerinden daha iyidir. Çalışmada Topan ve Halep Karası çeşitleri karşılıklı olarak diğer 3 genotiple (Teorem F1, Vd-1 ve Vd-2) melezlenmiştir. Melezler arasında gametik embriyogenez, sadece TopanxTeorem F1 ve Teorem F1xTopan kombinasyonlarından sırasıyla % 0.87 ve % 2.57 oranında elde edilmiştir. Haploid embriyoların gelişimi ve bitki oluşumu sırasıyla % 0.69 ve % 2.57 oranında gerçekleşmiştir. Salas et al., 2011 yaptıkları bir çalışmada, 12 genotipten 11'inin anterleri somatik callus üretirken, sadece 5 tanesi mikrospor türevli embriyolar üretmiştir, embriyo kalitesi, embriyo indüksiyonu ve bitki çimlenmesi sıklığı açısından genotipler değişken sonuçlar vermiştir [72]. Üç farklı patlıcan çeşidi (Faselis F_1, Amadeo F_1, Aydın Siyahı) kullanılarak, mikrospor kültürü yoluyla haploid embriyo uyartımı elde etmede etkili bir protokol geliştirmek amacıyla yapılmış çalışmada embriyo oluşumunun uyarılması için, ovaryum ko-kültür sisteminin patlıcanda mikrospor kültürü üzerine etkisinin ortaya konması ve mikrospor kültürü yoluyla haploid embriyo elde etmek için yapılan denemelerde, uygun tomurcuk gelişme devresi ve optimum mikrospor izolasyon yönteminin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, ilk olarak uygun mikrospor gelişme dönemi belirlenmiştir. Aydın Siyahı çeşidinde herhangi bir gelişme gözlemlenmezken, Faselis ve Amadeo çeşitlerinde yalnızca simetrik çekirdek bölünmesi uyartılabilmiştir. Ovaryum ko-kültür denemeleri için, buğday ovaryumlarının bu kültür ortamlarına ilave edilmesiyle Faselis ve Amadeo çeşitlerinde simetrik bölünme yanında çok çekirdekli yapıların oluşumu, Aydın Siyahı'nda ise simetrik bölünme uyartılmıştır [73]. İki adet patlıcan (*Solanum melongena* L.) çeşidinin mikrospor kültür tekniğine tepkisinin belirlenmesi çalışmasında ise kültür süreci boyunca mikrospor embriyogenesis indüksiyon süreci mikroskobik olarak analiz edilerek bu gelişimsel sapmanın ilk evrelerine odaklanılmıştır. Mikrosporların indüksiyondan hemen sonra kallus haline gelmeden önce simetrik bölünme ve çok çekirdekli yapılar meydana getirdiği daha sonra ise mikrosporların direkt embriyo oluşturmadıkları ve kallus oluşturduğu tespit edilmiştir. Araştırmada mikrosporlardan yalnızca kallus oluşumu meydana gelmiştir ve petri başına toplam kallus sayısı belirlenmiş ve G07-1 çeşidinde ortalama 288 kallus/petri elde edilirken G07-2 çeşidinde 64 kallus/petri meydana gelmiştir [76]

5. BÖLÜM

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Yamula patlıcanı kendine zgü çizgili yapısı, sert meyve eti gibi özellikleri ile ön plana çıkmakta yetiştirildiği bölgede, üreticilerin kendi tohumlarını kendilerinin elde etmesiyle yapıldığından verimlilik gitgide azalırken, hastalıklara hassasiyeti artmaktadır. (özellikle *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melongenae*). Bunun çözüm yollarından biriside mevcut yerel çeşidin ıslah edilmesidir.

Bu çalışmada Moleküler Yardımıyla Seleksiyon anter kültürü kullanılarak yamula patlıcanına *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melongenae*'ya dayanımın aktarılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda söz konusu hastalığa dayanıklı olabileceği düşünülen 80 patlıcan genotipi *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melongenae*'ya dayanım ile ilişkili SCAR426 markıırı ile test edilmiş ve bunlardan 4 adet genotipin dayanıklı bandı taşıdığı belirlenmiştir. Ardından 3 adet yamula patlıcanı genotipi ile 1 adet dayanıklı genotip melezlenmiş ve F1 bitkileri elde edilmiştir. Daha sonra GM populasyonu elde etmek üzere dayanıklı F1 bitkiler yamula patlıcanı genotipleri(ana ebeveyn) ile melezlenmiş ve 20 adet geriye melez popülasyonu(GM) elde edilmiştir. SCAR426 markırı ile yapılan testlemede 10 adet dayanıklı GM populasyonu belirlenmiş ve bunlardan 100'er adet anter kültüre alınmıştır. Kültüre alınan anterlerden toplam 26 adet bitki elde edilmiştir. Agronomik olarak double haploid olduğu belirlenen(çiçek yapısı ve çiçek tozu oluşumu) 10 adet genotip tekrar markır testlemesine tabi tutulmuş ve bunlardan SCAR426 markırı ile dayanıklılık bandı veren 6 adet genotipte bazı morfolojik ve pomolojik analizler yapılmıştır. Yapılan karakterizasyon çalışmalarından elde edilen bulgulara göre genotipler arasında önemli varyasyon elde edilmiştir.

Yamula patlıcanına *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melongenae*'ya dayanımın aktarılması amaçlandığı çalışmada söz konusu hastalığa dayanımın moleküler markır kullanılarak aktarılmasına rağmen 1 adet geriye melezlemenin yeterli olmadığı ve en az 2 adet

geriye melezlemenin daha yapılması önerilmektedir. Diğer taraftan hem moleler yardımıyla seleksiyon hemde anter kültürü tekniği patlıcan ve benzeri türlerde özellikle hastalığa dayanıklılık genlerinin aktarılmasında etkili yöntemler olduğu kanısına varılmıştır. Ayrıca çalışmada geliştirilen patlıcan hatları bundan sonraki *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melongenae*'ya dayanımın aktarılması için oluşturulacak ıslah proğramlarında kullanılabilecek niteliktedir.

KAYNAKLAR

1. D'Arcy, W. G., 1991. The Solanaceae since 1976 with a review of its biogeography, pp. 75–138 in Solanaceae III, edited by J. G Hawkes, R. N. Lester, M. Nee and N. Estrada. Royal Botanic Gardens/Kew, London.

2. Fukuoka, H., Yamaguchi, H., Nunome, T., Negoro, S., Miyatake, K., Ohyama, A., 2010. Accumulation, Functional Annotation, and Comparative Analysis of Expressed Sequence Tags in Eggplant (Solanum melongena L.), the Third Pole of the Genus Solanum Species After Tomato and Potato. **Gene, 450**(1-2): 76–84.

3. Daunay, M. C., R. N. Lester, C. Gebhardt, J. W. Hennart, M. Jahn et al., 2001. Genetic resources of eggplant (Solanum melongena L.) and allied species: a new challenge for molecular geneticists and eggplant breeders, pp. 251–274 in Solanaceae V, edited by R. G. van den Berg, G. W. Barendse and C. Mariani. Nijmegen University Press, Nijmegen, The Netherlands.

4. Barchi, L., Lanteri, S., Portis, E., Stàgel, A., Valè, G., Toppino, L., Rotino, G., L., 2010. Segregation Distortion and Linkage Analysis in Eggplant (Solanum melongena L.). **Genome, 53**: 805-815.

5. Kashyap, V., Kumar, S. V., Collonnier, C., Fusari, F., Haicour, R., Rotino, G. L., Sihachakr, D., Rajam, R. M., 2003. Review Biotechnology of Eggplant, **Scientia Horticulturae,** 1-25.

6. Doganlar, S., Frary, A., Daunay, M.C., Lester, R. N. and Tanksley, S. D. et al. 2002. A comparative genetic linkage map of eggplant (Solanum melongena) and its implications for genome evolution in the Solanaceae. ***Genetics*** **161**.4 (2002): 1697-1711.

7. Kalloo, G., 1993. Genetic Improvement of Vegetable Crops (Edited by: G. Kalloo and B. O. Bergh), Printed in Great Britain by BPCC wheatons Ltd, Exeter, ISBN 00 08 040826, 5: 587- 604.

8. FAO, 2017.

9. Stommel, J.R., Whitaker, B.D., 2003. Phenolic acid composition of eggplant fruit in a germplasm core subset **Journal of the American Society for Horticultural Science, 128**, 704–710.

10. Savvas, D., Lenz, F., 1996. Influence of nacl concentration in the nutrient solution on mineral composition of eggplants grown in sand culture. **Angewandte botanik, 70**, 124–127.

11. Raigón, M.D., Prohens, J., Muñoz-falcón, J.E., Nuez, F., 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**(5), 370–376.

12. Michaloje, Z., Buczkowska, H., 2012. "The nutritional status of eggplant (Solanum melongena L.) depending on plant training method and nitrogen fertilization." Acta scientiarum polonorum-hortorum cultus 109-119.

13. Topçu, V., Boyacı, F., Aktaş, H., 2016. Kendileme Yoluyla Saflaştırılmış Bazı Patlıcan Hatlarının Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu. **Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 11** (1):43-53.

14. TÜİK, 2018. Tarımsal Üretim Verileri.(**http://tuik.gov.tr**)

15. Tüzel, Y., Gül, A., Daşgan, H. Y., Özgür, M., Özçelik, N., Boyacı, H.F., Ersoy, A., 2005. Örtüaltı Yetiştiriciliğinde Gelişmeler. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi 3-7 Ocak 2005.

16. Tan, A., İnal, A. 2003. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü bitki genetik kaynakları çalışmaları, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayın No:112, 13s.

17. Altınok, H.H. (2005). First Report of Fusarium Wilt of Eggplant Caused by in Turkey. **Plant Pathology, 54**-577.

18. Sihachakr, D., Daunay, M.C., Serraf, I., Chaput, M.H., Mussio, I., Haicour, R., Rossignol, L., Ducreux, G. 1994. Somatic Hybridization of Eggplant (Solanum melongena L.) with Its Close and Wild Elatives. In, Bajaj Yps (Ed) Biotechnology in Agriculture and Forestry, 1 (Somatic Hybridization in Crop Improvement. Springer, Berlin Heidelberg New York), 255-278.

19. Magioli, C., Mansur, E. 2005. Eggplant (Solanum melongena L.), Tissue Culture, Genetic Transformation and Use as An Alternative Model Plant. **Acta Bot. Bras., 19** (1), 139-148.

20. Dhawan, S.C., Sethi, C.L., 1976. Observations on the Pathogenicity of Meloidogyne Incognita to Eggplant and on Relative Susceptibility of Some Varieties to the Nematode. **Indian J. Nematol. 6**, 39-46.

21. Nothmann, J., Ben-Yephet, Y., 1979. Screening Eggplant and other Solanum Species for Resistance to Verticillium dahliae. **Plant Dis. Rept., 63** (1), 70-73.

22. Yamakawa, K., Mochizuki, H., 1979. Nature and Inheritance of Fusarium Wilt Resistance in Eggplant Cultivars and Related Wild Solanum Species, Bull. Vegetable and Ornamental Crops, **Station A, 6**, 19-27.

23. Messiaen, C. M., 1989. L'aubergine. In, Le potager tropical, Cultures spéciales, Collection Techniques Vivantes, Agence de Coopération Culturelle et Technique - Presses University., Paris, 2, 399.

24. Daunay, M.C., Lester, R.N., Laterrot, H., 1991. The Use of Wild Species for the Genetic Improvement of Brinjal Eggplant (Solanum melongena) and Tomato (Lycopersicon esculentum). In, Hawkes Jc, Lester Rn, Nee M, Estrada N (Eds) Solanaceae 3, Taxonomy, Chemistry, **Evolution, 27**, 389-413.

25. Altınok, H. H., 2006. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Patlıcanda Fusarium Solgunluğu Hastalığı (Fusarium oxysporum Schlecht. f. sp. melongenae Matuo and Ishigami)'nın Yaygınlığı, Etmenin Moleküler Karakterizasyonu ve Bitkide Hastalığa Karşı Dayanıklılığın Uyarılması. Tez (Doktora)-Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Adana.

26. Rowe, R.C., 1980. Comparative Pathogenicity and Host Ranges of Fusarium oxysporum Isolates Causing Crown and Root Rot of Greenhouse and Field-Grown Tomatoes in North America and Japan. **Phytopathology, 70**, 1143-1148.

27. Chakraborty, M.R., Chatterjee, N.C., 2008. Control of Fusarium Wilt of Solanum melongena by Trichoderma spp. **Bıologıa Plantarum, 52** (3), 582-586.

28. Koral, A.Ö., Türktaş, M., 2018. Patlıcanda Fusarium Solgunluğuna Dayanıklılık ve Mücadele Çalışmaları. Çukurova **J. Agric. Food Sci. 33**(1): 111-124.

29. Snyder, W.C. and Smıth, S.N., 1981. Current Status (Mace M.E., Bell, A.A., and Beckman, C. H.) Fungal Wilt Diseases of Plant, Academic Press London, p.25-48.

30. Gordon, T.R., Martyn, R.D., 1997. The evolutionary biology of Fusarium oxysporum. **Annu Rev Phytopathol. 35**, 111-28.

31. Gullino, M.L., Minuto, A., Garibaldi, A., 2002. Soil Fumigation with Chloropicrin in Italy, Experimental Results on Melon Eggplant and Tomato, Meded Rijksuniv Gent Fak Landbouwkd Toegep **Biol Wet., 67**, 171-180.

32. Mandhare, V.K., Patil, P.L., 1993. Varietal Screening and Effiacacy of Fungucides against Fusarium Wilt of Brinjal**. J Maharashtra Agric Univ., 18**, 34-36.

33. SWARUP, V., 1995. Genetics Resources and Breeding of Aubergine (Solanum melongena L.). Acta Horticulture, 412, November 1995, Solanacea for Fresh Market, p.71-79.

34. Litz, R. E. and D. J. Gray. 1992. Organogenesis and Somatic Embriyogenesis. P. 3-34. In: F. A. Hammerschlag and R. E. Litz (eds). Biotechnology of Perennial Fruit Crops. CABI, University Press, Cambridge.

35. Schuerman, P. L. and A. M. Dandekar. 1993. Transformation of temperate woody crops: Progress and potentials. **Scientia Hort. 55**: 101-124.

36. Hatipoğlu, R. 1999. Bitki Biyotkenolojisi. Çukurova Üniv. Ziraat Fakültesi Yayınları: 190, Ders Kitabı: A-58, Adana.

37. Jain, S. M. 2001. Tissue culture-derived variation in crop improvement. Euphytica 118: 153-166.

38. Heslop-Harrison, J. 2005. Introduction. P. XIX-XXIV. In: R. E. Litz (ed.). Biotechnology of Fruit and Nut Crops. CABI Publishing, Trowbridge.

39. Aygün, A., Dumanoğlu, H., 2006. Bazı Ayva (*Cydonia oblonga* Mill.) Genotiplerinde Yaprak Disklerinden Sürgün Organogenesisi. **Tarım Bilimleri Dergisi, 13** (1) 54-61.

40. Scarano, M. T. Abbate, L., Ferrante, S., Lucretti, S., Tusa, N. 2002. ISSR-PCR Technique: a Useful Method for Characterizing New Allotetraploid Somatic Hybrids of Mandarin. **Plant Cell Rep, 20**:1162-1166.

41. Naujeer, H.B., 2009. Morphological diversity in eggplant (Solanum melongena L.), their related species and wild types conserved at the National gene bank in Mauritius. International Master Programme at the Swedish Biodiversity Centre. Master's thesis.

42. Gulsen, O., Kaymak, S., Ozongun, S., Uzun, A., 2010. Genetic analysis of Turkish apple germplasm using peroxidase gene-based markers. **Sci. Hort., 125**: 368–373.

43. Özcan, S., Gürel, E. ve Babaoğlu, M., 2001. Genetik Markörler ve Analiz Metodları. *Bitki Biyoteknolojisi II. Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları*. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, 456, 334-363.

44. Yorgancılar, M., Yakışır, E., Tanur Erkoyuncu, M., 2015. Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi. **Journal of Bahri Dagdas Crop Research 4** (2):1-12, 2015. ISSN: 2148-3205.

45. Çelikkol, B.P. 2011. Önemli erik (*Prunus* sp.) gen kaynaklarının SSRs (Simple Sequence Repeats)'a dayalı genetik karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

46. Nowaczyk P, Kisiala A (2006). Effect of selected factors on the effectiveness of *Capsicum annuum* L. anther culture. **J Appl Genet 2**:113–117.

47. Dumas de Vaulx R, Chambonnet D (1982). Culture in vitro d'anthères d'aubergine (*Solanum melongena* L.): stimulation de la production de plantes au moyen de traitements á +35 oC associesa de faibles teneurs en substances de croissance Agronomie 2: 983–988 (in French).

48. Rotino GL (1996). Haploidy in eggplant. In: Touraeu, A, Forster BP, Jain SM, editors. Advances in Haploid Production in Higher. Plants. Berlin: Springer–Verlag, pp. 199–208.

49. Segui-Simarro JM, Corral-Martirez P, Parra-Vega V, González-García B (2011). Androgenesis in recalcitrant solanaceous crops. **Plant Cell Rep 30**: 765–778.

50. Başay, S., Ellialtıoğlu, Ş.Ş., 2013. Effect of genotypical factors on the effectiveness of anther culture in eggplant (*Solanum melongena* L.). **Turk J Biol (2013) 37**: 499-505.

51. Juhász AG, Jakše M (2005). Haploids in the improvement of miscellaneous crop species (Cucurbitaceae, Liliaceae, Aspragaceae, Chenopediaceae, Araceae and Umbelliferae). In: Palmer CE, Keller WA, Kasha KJ, editors. Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 56: Haploids in Crop Improvement II. Berlin, Germany: Springer–Verlag, pp. 259–276.

52. Ayad, W.G., Hodgkin, T., Jaradat, A. & Rao, V.R. 1995. *Molecular genetic techniques for plant genetic resources*. Report of an IPGRI workshop, International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

53. Karihaloo, J.L. & Gottlieb, L.D. 1995. Allozyme variation in the eggplant, *Solanum melongena* L. (Solanaceae). *Theor. Appl. Genet.* 90: 578–583.

54. Kumar, G., Meena, B.L., Kar, R., Tiwari, S.K., Gangopadhyay, K.K., Bisht, I.S. & Mahajan, R.K. 2008. Morphological diversity in brinjal (*Solanum melongena* L.) germplasm accessions. *NIAB Plant Genetic Resources: Charcaterization and utilisation* 6: 232-236.

55. Chowdhury, B. (eds)1976. *Vegetables*. 4th edn. National Book Trust, New Delhi, India.

56. Mutlu, S., A. Kır, M. A. Haytaoğlu, S. A. Küçük, C. Balkan Ve B. Üçer. 2007. Sebze genetik kaynakları araştırma projesi sonuç raporu. ETAE, Menemen, İzmir.

57. Tümbilen, Y., Frary, A., Mutlu, S., Doğanlar, S., 2011. Genetic diversity in Turkish eggplant (Solanum melongena) varieties as determined by morphological and molecular analyses. International Research Journal of Biotechnology (ISSN: 2141-5153) Vol. 2(1) pp.016-025.

58. Begum, F., Aminul Islam, A. K. M., Rasul, M. G., Khaleque Mian, M. A. and Mofazzal Hossai,n M., 2013. Morphological diversity of eggplant (Solanum melongena) in Bangladesh. Emir. **J. Food Agric. 25** (1): 45-51.

59. Cakır, Z., Balkaya, A., Sarıbas, S., Kandemır D., 2017. The Morphological Diversity and Fruit Characterization of Turkish Eggplant (Solanum melongena L.) Populations. Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics 3(2):34-44.

60. Mutlu, N., Boyacı, F. H., Göçmen, M., & Abak, K., 2008. Development of SRAP, SRAP-RGA, RAPD and SCAR markers linked with a Fusarium wilt resistance gene in eggplant. **Theoretical and Applied Genetics, 117**(8), 1303.

61. Boyacı, H.F., Abak, K., 2008. Patlicanlarda Fusarium Solgunluğuna Dayaniklilik Kaynaklari ve Dayanikliliğin Kalitimi. Doktora Tezi. Ç.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü Yıl:2008 Cilt:17-3.

62. Bi-hao, C., Jian-jun, L., Yong, W., & Guo-ju, C., 2009. Inheritance and identification of SCAR marker linked to bacterial wilt-resistance in eggplant. **African Journal of Biotechnology, 8**(20).

63. (Mwaniki, P.K., Abang, M.M., Wagara, I.N., Wolukau, J.N. & Schroers, H.-J., 2011. Morphology, pathogenicity and molecular identification of Fusarium spp. from wilting eggplants in Tanzania. African Crop Science Conference Proceedings, Vol. 10. pp. 217 – 221).

64. (Toppino, L., Barchi, L., Valentino, D., Portis, E., Lanteri, S., & Rotino, G. L., 2016. QTLs mapping for *Fusarium oxysporum* and *Verticillium dahliae* resistance in eggplant (*Solanum melongena* L.). In Proceedings of XVIth EUCARPIA Capsicum and Eggplant Working Group Meeting in memoriam Dr. Alain Palloix, 12-14 September 2016, Kecskemét, Hungary (pp. 248-255). Diamond Congress Ltd.

65. Tipirdamaz, R., Ellialtioglu, S., 1998. The effects of cold treatments and activated charcoal on ABA contents of anthers and *in vitro* androgenesis in eggplant (*Solanum melongena* L.). In 1st Balkan Botanical Congress, Thessaloniki (Greece), 19-22 Sep 1997. Kluwer Academic Publishers.

66. Germana, M., 2011. Gametic embryogenesis and haploid technology as valuable support to plant breeding. Plant Cell Rep 30:839–857.

67. Geboloğlu, N., Doksöz Boncukçu, S., Durna, P., Bayram, M., 2017. Patlıcanda şeker, bal ve büyüme düzenleyicilerin anter kültüründe embriyoid oluşumuna etkisi. Akademik Ziraat Dergisi. Cilt:6 Özel Sayı:275-280.

68. Bajaj, Y.P.S., 1990. *In vitro* production of haploids and their use in cell genetics and plant breeding. In: Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 12, Haploids in Crop Improvement I, 372–380.

69. Kamat, M. G., & Rao, P. S. (1978). Vegetative multiplication of eggplants (Solanum melongena) using tissue culture techniques. *Plant Science Letters*, *13*(1), 57-65.

70. Sagi, Z. S., Gajdos, L., Kristof, Z., Vagi, P., Zatykó, L., Gémes Juhasz, A., & Venczel, G. (2004, September). Production of doubled haploid breeding lines in case of paprika, spice paprika, eggplant, cucumber, zucchini and onion. In *V International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding 725* (pp. 845-854).

71. Ellialtıoğlu, Ş., Başay, S., Kuşvuran, Ş., 2006. Anter Kültüründen Elde Edilen Haploid Patlıcanların Katlanması Amacıyla Kullanılan *In Vıtro* ve *In Vıvo* Kolhisin Uygulamalarının Karşılaştırılması. https://www.researchgate.net/publication/330090132.

72. Salas, P., Prohens, J., & Seguí-Simarro, J. M. (2011). Evaluation of androgenic competence through anther culture in common eggplant and related species. *Euphytica*, *182*(2), 261.

73. Özdemir, B., 2014. Patlıcan (*Solanum melongena* L.)' da Mikrospor Kültüründe Ovaryum Ko-Kültür Yönteminin Haploid Embriyo Oluşumunun Uyartılması Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Akdeniz Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı.

74. Rivas-Sendra, A., Campos-Vega, M., Calabuig-Serna, A., & Seguí-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*(4), 89.

75. Foo, P. C., Lee, Z. H., Chin, C. K., Subramaniam, S., & Chew, B. L., 2018. Shoot Induction in White Eggplant (*Solanum melongena* L. Cv. Bulat Putih) using 6-Benzylaminopurine and Kinetin. *Tropical life sciences research*, *29*(2), 119.

76. Özdemir-Çelik, B., Onus, A.N., 2019. Patlıcanda (*Solanum melongena* L.) Mikrospor Kültürü Üzerine Bir Ön Araştırma. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, Cilt 23, Özel Sayı, 61-66

77. Doyle J.J. & Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus. 12**: 13–15.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER



Adı : Hasan
Soyadı : KEKEÇ
Doğum Yeri : Kocasinan/KAYSERİ
Doğum Tarihi : 29.01.1992
Yabancı Dili : İngilizce
e-mail : hasan-kekec@hotmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Lise :Halililik Meslek Lisesi 2006-2010

Lisans :Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Bahçe Bitkileri Bölümü 2012-2016

Yüksek Lisans : Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri
Enstitüsü Bahçe Bitkileri A.B.D 2016-Halen

İŞ DENEYİMLERİ

Türkiye Tarım Kredi Kooperatifleri / Ziraat Mühendisi / (14.03.2018-Halen)

ÇALIŞILAN PROJELER ve TEZLER

Comparing Of İn Vitro And İn Vivo Seed Germination Of Wild Fruit Cerasus Prostrata Collected From Wild Conditions

Yamula Patlıcanı (*Solanum molongena L.*) ve Cırgalan Biberinin (*Capsicum annuum* L.) Seleksiyonu, Saflaştırılması ve Karakterizasyonu Bilimsel Araştırma Projesi

Kuşkonmaz (*Asparagus Offinalis L.)* Yetiştiriciliği ve Kükürt Uygulamaları