



T.C

Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü

**PATLİCAN (*Solanum melongena* L.) DA  
*Verticillium dahliae* Kleb.'E DAYANIKLI HATLARIN  
GELİŞTİRİLMESİ**

Sevinç BAŞAY

**DOKTORA TEZİ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİMDALI**

**BURSA 2006**



T.C  
Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü

**PATLİCAN (*Solanum melongena L.*) DA  
*Verticillium dahliae* Kleb.'E DAYANIKLI HATLARIN  
GELİŞTİRİLMESİ**

Sevinç BAŞAY

DOKTORA TEZİ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**Bu Tez 13 / 11 /2006 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.**

Prof.Dr. Vedat ŞENİZ

Danışman

Prof. Dr. Atilla ERİŞ

Prof. Dr. Ercan ÖZZAMBAK

Doç. Dr. Himmet TEZCAN

Doç. Dr. Nazan DAĞÜSTÜ

## ÖZET

Bu araştırma, 2004 - 2006 yılları arasında Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Sebzeçilik Bölümü'ne ait Uygulama Seraları, Bitki Koruma Bölümü'ne ait Uygulama Seraları ve Doku Kùltürü Laboratuarında yürütülmüştür. Araştırmada, ÷lkemiz için önemli bir yere sahip olan patlıcanda verim ve kalite düşüklüğüne yol açan *Verticillium dahliae* Kleb.'in neden olduğu *Verticillium* solgunluğuna daha az duyarlı hatların geliştirilmesi amaçlanmıştır. Denemede kùltür çeşitleri olarak, “K-1”, “K-2”, “K-3”, “K-4”, “K-5”, “K-6”, “K-7” ve “K-8” kullanılmıştır. Yabancı türler; *S. torvum*, *S. sodomeum*, dayanıklı kùltür formları; “DK-1”, “DK-2”, “DK-3” ve “DK-4” ve ve “DK-6” çeşitleri ve “DK-5” hattı kullanılmıştır.

Bu materyallerin patojenisite testinde; Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakùltesi Bitki Koruma Bölümü tarafından PCR'da *V. dahliae* olduğu tespit edilmiş olan izolat kullanılmıştır. Öncelikle elde bulunan tüm genitörler bu izolat ile 2004 ve 2005 yıllarında klasik olarak testlenmiştir. İki yılın sonuçları birbiri ile paralellik göstermektedir, iki yılda da en düşük hastalık oranını “DK-5” hattında saptanmıştır. Klasik testleme sonucu *V. dahliae* hassas olan “K-1” çeşidi ile tolerant olarak belirlenen “DK-5” hattı melezlenerek F<sub>1</sub> ve F<sub>1</sub> kendilenerek F<sub>2</sub> elde edilmiştir. 2006 yılında patojenisite testinde “K-1” çeşidi ve “DK-5” hattı ile F<sub>1</sub> ve F<sub>2</sub> bitkileri testlenmiştir. Patojenisite testi sonucunda “K-1” çeşidi ve “DK-5” hattının hastalık şiddeti diğer yıllar ile paralellik gösterir iken, “F<sub>1</sub>” bitkilerinin yapraklardaki sararma ve solgunluk değerleri, gövde izolasyonu ve reizolasyon sonuçları “F<sub>2</sub>” bitkileri sonuçlarından daha yüksek çıkmıştır. Yapraklarındaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan değerlendirmede “F<sub>1</sub>” bitkilerinde hastalık şiddeti % 38 iken, “F<sub>2</sub>” de 200 bitkinin % 55'inde hastalık şiddeti %2 ila % 6 arasında değerşir iken, % 45'inde ise %36 ila % 44 arasında değerşmiştir.

Çalışmamızın haploid kısmında; yaz döneminde yetiştirilen bitkilerden temin edilen tomurcuklarla yapılan anter kùltüründe başarının çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Anter kùltürü uygulanan çeşitler ve hattın içersinde en iyi cevabı % 14.2 oranında embriyo oluşumu ve %5.3 oranında da bitki oluşumu ile “25” çeşidi vermiştir. Anter kùltüründen haploid bitkiler elde edildikten sonra bitkileri dihaploid hale getirmek amacıyla kolhisin dozu (%0.5 ve %1) ve 2 farklı uygulama süresi (1 saat, 2 saat) uygulanmıştır. Uygulamalar içersinde en iyi sonucu %0.5 kolhisin + 2 saat veya %1 kolhisin + 1 saat vermiştir. Diploid hale getirilen bitkilerde kromozom sayımı yapılmış, seraya alınmış ve bu bitkilerden 2006 yılında tohum alınmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Solanum melongena*, *Verticillium dahliae*, dayanıklılık, melezleme, haploidi, anter kùltürü

## ABSTRACT

This research was carried out in the Applied Greenhouses of Vegetable Growing Section and Plant Protection Section and Tissue Culture Laboratory of Yalova-Atatürk Horticultural Research Institute, between the years 2004 and 2006. In this study, it was aimed to develop lines resistant or tolerant to *Verticillium* wilt caused by *Verticillium dahliae* Keb. which leads to yield and quality losses in eggplant, which is an important vegetable for our country. Cultivars “K-1, K-2, K-3, K-4, K-5, K-6, K-7 and K-8” were used in the trial. Wild species of *S. torvum* and *S. sodomeum*; resistant cultivated forms; “DK-1, DK-2, DK-3, DK-4, and DK-6” cultivars and DK-5 line were also included in the study.

The isolate *V. dahliae* was determined by PCR at Plant Protection Department of Faculty of Agriculture, A. Menderes University was used in the pathogenicity tests of used materials. Firstly, all the plant materials were classically tested with this isolate, in the years 2004 and 2005. Results of the two years were similar to each other, the lowest disease ratio was obtained from DK-5 line in both years. F<sub>1</sub> was obtained through hybridisation of cultivar K-1 and line DK-5 which were determined as susceptible and tolerant to *V. dahliae*, respectively, as the result of classical testing; thereafter, F<sub>2</sub> was obtained by selfing F<sub>1</sub> Cultivar K-1, line DK-5 and F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> plants were tested in terms of pathogenicity test in 2006. At the end of the pathogenicity test, the disease severity in cultivar K-1 and line DK-5 was similar to the other years, whereas the yellowing and wilting values belonging to the leaves of F<sub>1</sub> plants, as well as stem isolation and re-isolation results were higher than those of F<sub>2</sub> plants. The disease severity in F<sub>1</sub> plants was determined as 38%, the severity value ranged from 2 to 6% in 55% of 200 F<sub>1</sub> plants and from 36 to 44% in 45% of them, by using 0-5 scale, considering the yellowing area on leaves.

The success rate was found much higher in the anther culture established with the buds obtained from the plants grown in the summer period, in the haploidy part of our study. The cultivar “25” gave the best response among the cultivars and lines subjected to anther culture, with embryo and plant formation rates of 14.2 % and 5.3 %, respectively. After obtaining haploid plants via anther culture, colchicine was applied at the concentrations of 0.5% and 1%, for 1 or 2 hours, for dihaploidizing the plants. The best results were obtained from the combinations of 0.5% colchicine + 2 hours and 1% colchicine + 1 hour. Chromosome counts were made in doubled-haploid plants, they were transferred to greenhouse, and seeds were obtained from these plants in the year 2006.

**Keywords:** *S.melongena*, *V.dahliae*, resistance, hybridisation, haploidy, anther culture.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
<b>BÖLÜM 1. GENEL GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>BÖLÜM 2. PATOJENİSİTE TESTİ</b>	<b>6</b>
<b>2.1. GİRİŞ</b>	<b>6</b>
<b>2.2. KAYNAK ARAŞTIRMASI</b>	<b>11</b>
<b>2.3. MATERYAL VE METOT</b>	<b>18</b>
2.3.1. Materya	18
2.3.2. Yöntem	20
2.3.2.1. İzolatın Geliştirilmesi	20
2.3.2.2. İnokulumun Hazırlanması	20
2.3.2.3. Bitkilerin Yetiştirilmesi	21
2.3.2.4. Patojenisite Testi	21
2.3.2.5. Hastalık Şiddetlerinin Belirlenmesi	22
2.3.2.6. Gövde Değerlendirmesi	22
2.3.2.7. Reizolasyon	23
2.3.2.8. DNA İzolasyonu ve Primer Seçimi	23
2.3.2.9. PCR Uygulamaları	24
2.3.2.10. Agaroz Jel Elektroforezi	24
2.3.2.11. İstatistiki Değerlendirme	25

<b>2.4. BULGULAR</b>	26
2.4.1. <i>Verticillium dahliae</i> İzolatının Bitkiler Üzerindeki Etkisi	26
2.4.1.1. 2004 Yılına Ait Deneme Sonuçları (Dayanıklı ve Kültür Çeşitlerinin <i>Verticillium dahliae</i> izolatı ile Testlenmesi)	29
2.4.1.2. 2004 Yılında Dayanıklı ve Kültür Çeşitlerinin <i>V. dahliae</i> izolatı ile Testleme Sonunda Yapılan Gövde Değerlendirmesi	31
2.4.1.3. 2004 Yılında Dayanıklı ve Kültür Çeşitlerinin <i>V. dahliae</i> izolatı ile Testleme Sonunda Yapılan Reizolasyon	33
2.4.1.4. 2005 Yılına Ait Deneme Sonuçları (Dayanıklı ve Kültür Çeşitlerinin <i>Verticillium dahliae</i> izolatı ile Testlenmesi)	35
2.4.1.5. 2005 Yılında Dayanıklı ve Kültür Çeşitlerinin <i>Verticillium dahliae</i> izolatı ile Testleme Sonunda Yapılan Gövde Değerlendirmesi	39
2.4.1.6. 2005 Yılında Dayanıklı ve Kültür Çeşitlerinin <i>Verticillium dahliae</i> izolatı ile Testleme Sonunda Yapılan Reizolasyon	40
2.4.1.7. 2006 Yılına Ait Deneme Sonuçları (Tolerant ve Kültür ile Bunların Melezinin <i>Verticillium dahliae</i> izolatı ile Testlenmesi)	41
2.4.1.8. 2006 Yılında Tolerant ve Kültür Melezinin <i>Verticillium dahliae</i> izolatı ile Testleme Sonunda Yapılan Gövde Değerlendirmesi	42
2.4.1.9. 2006 Yılında Tolerant ve Kültür Melezinin <i>Verticillium dahliae</i> izolatı ile Testlenmesi Sonunda Yapılan Reizolasyon	44
2.4.1.10. DNA İzolasyonu	46
2.4.1.11. PCR Uygulamaları	47
<b>2.5. TARTIŞMA</b>	48

## **BÖLÜM 3. *VERTICILLIUM DAHLIAE* DAYANIKLI VE DAYANIKSIZ ÇEŞİT VE HATLARIN MELEZLENMESİ**

<b>3.1. GİRİŞ</b>	54
<b>3.2. KAYNAK ARAŞTIRMASI</b>	57
<b>3.3. MATERYAL VE METOT</b>	61
3.3.1. Materyal	61
3.3.2. Yöntem	
3.3.2.1. Yabani Türlerde Çimlenme Öncesi Kimyasal Uygulama	62
3.3.2.2. Ümitvar Görülen Bitkilerin İkinci Yıl Yaşatılması	62
3.3.2.3. Melezleme	62
3.3.2.4. Kendileme	64
3.3.2.5. Tohum Ekimi	64
3.3.2.6. F <sub>2</sub> Bitkilerinin Elde Edilmesi	64
3.3.2.7. Meyve Dış Yüzey Renk Ölçümü	65
<b>3.4. BULGULAR</b>	
3.4.1. Melezleme	66
3.4.2. Meyve Dış Yüzey Renk Ölçümü	68
3.4.3. Ümitvar Görülen Bitkilerin İkinci Yıl Yaşatılması	70
<b>3.5. TARTIŞMA</b>	75

## **BÖLÜM 4. HAPLOİDİZASYON**

<b>4.1. GİRİŞ</b>	78
<b>4.2. KAYNAK ARAŞTIRMASI</b>	82
<b>4.3. MATERYAL VE METOT</b>	90
4.3.1. Materyal	90

4.3.2. Yöntem	90
4.3.2.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi	90
4.3.2.2. Çiçek Tomurcuklarının Toplanması	90
4.3.2.3. <i>In vitro</i> Kültürler	92
4.3.2.3.1. Besin Ortamlarının Hazırlanması	92
4.3.2.3.2. Anterlerin Çıkartılması ve Dikim	94
4.3.2.3.3. Kültür Koşulları	95
4.3.2.3.4. Kolhisin Uygulaması	95
4.3.2.3.5. Elde Edilen Bitkilerde Kromozom Sayımı	97
4.3.2.3.6. Gelişen Bitkilerin Toprağa Transferi	98
4.3.2.4. Sitolojik Gözlemler ve Sonuçların Değerlendirilmesi	98
<b>4.4. BULGULAR</b>	
4.4.1. Patlıcan Genotiplerinde Yaz Döneminde Anter Kültüründen Elde Edilen Sonuçları	99
4.4.2. Patlıcan Genotiplerinde Sonbahar Döneminde Anter Kültüründen Elde Edilen Sonuçları	103
4.4.3. Sitolojik Gözlemler ve Sonuçların Değerlendirilmesi	104
<b>4.5. TARTIŞMA</b>	105
<b>BÖLÜM 5. GENEL TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	110
<b>KAYNAKLAR</b>	118
<b>TEŞEKKÜR</b>	
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	



## SİMGELER DİZİNİ

cm =Santimetre

dk = Dakika

N = Normal

M =Molar

ppm = Milyonda bir kısım

ml = Mililitre

mg/l = Miligram/litre

mm =Milimetre

NaOCl= Sodyum hipoklorit

$\mu$ l = Mikrolitre

ng/  $\mu$ l= Nanogram/ Mikrolitre

% = Yüzde

## KISALTMALAR

2,4-D = 2,4 Diklorofenoksi Asetik Asit

ABA = Absizik asit

BAP = Benzil Amino Purin

C = Kallus

DH = Double Haploid Lines

IAA = Indol Asetik Asit

NAA = Naftalen Asetik Asit

MS = Murashige ve Skoog

PDA = Patates Dextros Agar

R = Rejeneration

rpm = Dakikadaki devir sayısı

UV = Ultraviyole

V = Volt

D-1 = *S. torvum*

D-2 = *S. Sodemeum*

K-1 = Pala 49 (A.B.K.M.A.E)

K-2 = Topan 374

K-3 = Kemer (E.T.A.E)

K-4 = Aydın Siyahı (E.T.A.E)

K-5 = Halep

K-6 = Pala (May Tohum)

K-7 = Aydın Siyahı (May Tohum)

K-8 = Kemer (May Tohum)

DK-1 = Patlıcan-467

DK-2 = Patlıcan-405-1

DK-3 = Patlıcan-368

DK-4 = Patlıcan-01-2

DK-5 = LS 2346

DK-6 = Teorem F<sub>1</sub>

11 = Munica F<sub>1</sub>

25 = Bonica F<sub>1</sub>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 2.1. <i>Verticillium</i> fungusunun mikroskop altındaki görünümü (a) vertisillat dallanma; (b) Eşeysiz sporların bulunduğu (b) üst kısım;(c) Konidafor dallanmasının yakından görünüşü; (d) Konidiler; (e) Olgun mikrosklorotlar.....	7
Şekil 2.2. Domateste solgunluk belirtileri; (A) bakteriyel kanser; (B) <i>Verticillium</i> solgunluğu (C) <i>fusarium</i> solgunluğu.....	8
Şekil 2.3. Patojenisite testinde fide dikiminden kısa süre sonra bitkilerin görünümü....	26
Şekil 2.4. Yapraktaki sararma ve solgunluk belirtilerinden görünüm.....	27
Şekil 2.5. Patojenisite testinde üçüncü aydan itibaren DK-1, DK-2, DK-3, DK-4, DK-6 hatlarında izlenen sararma ve solgunluk belirtilerinden görünüm.....	28
Şekil 2.6. Patojenisite testinde üçüncü ayda “D-2” çeşidinden görünüm.....	29
Şekil 2.7. 2004 yılında gövde değerlendirmesi dayanıklı ve kültür çeşitlerinin <i>Verticillium dahliae</i> izolatu ile testleme sonunda yapılan gövde değerlendirmesinden görünüm.....	33
Şekil 2.8. 2004 Yılı reizolasyon sonucunda petripleri saran <i>Verticillium</i> <i>dahliae</i> fungusundan görünüm.....	35
Şekil 2.9. 2004 ve 2005 Yılları Patlıcan Genitörlerinin V. <i>dahliae</i> Hastalık Şiddetleri	
Şekil 3.1. <i>Solanum torvum</i> yabani patlıcan türüne ait meyve olgunluğu dönemindeki bitkilerin görünümü.....	61
Şekil 3.2. <i>Solanum sodomium</i> yabani patlıcan türüne ait meyve olgunluğu dönemindeki bitkilerin görünümü.....	62
Şekil 3.3. Melezleme için kullanılan uygun aşamadaki patlıcan çiçeğinden görünüm.....	63
Şekil 3.4. Emasküle edilmiş patlıcan çiçeğinin görünümü.....	63
Şekil 3.5. Tozlama sonrasında keselenmiş patlıcan çiçeğinin görünümü.....	64
Şekil 3.6. “DK-5” hattı ile “K-2” çeşidinin melez meyvesinin görünüşü.....	66

Şekil 3.7. K-1 çeşidi ile DK-5 hattının ve melez meyvenin görünüşü.....	67
Şekil 3.8. DK-5 X K-1 melezinin meyvesinin görünümü.....	67
Şekil 3.9. K-1 X DK-5 ve DK-5 X K-1 melezlerinin meyvelerinin görünümü.....	68
Şekil 3.10. <i>Solanum torvum</i> yabani patlıcan türüne ait meyve olgunluğu döneminde (solda), <i>S. torvum</i> x K-1 melez (sağda) bitkilerin görünümü.....	70
Şekil 3.11. Melezleme ve kendileme işlemlerinde zaman kazanmak amacıyla İkinci yıl yaşatılan patlıcan bitkilerinden görünüm.....	71
Şekil 3.12. ikinci yıl yaşatılan ve erken ilk baharda melezleme işlemi gerçekleştirilerek 25 haziran tarihinde tohum alımı için uygun aşamaya gelmiş DK-5 X K-1 melez meyvesinin görünümü.....	72
Şekil.3.13. 2004 ve 2005 yıllarında yapılan patojensite test sonucunda dayanıklı/ tolerant olarak belirlenen DK-5 hattının 2. yaş görünümü .....	73
Şekil 4.1. Tomurcuk özelliklerine göre sınıflandırılan tomurcukların görünümleri (K-1 Çeşidi).....	91
Şekil 4.2. Patlıcanda anter kültürü için uygun tomurcuk aşaması.....	91
Şekil 4.3. Patlıcanda anter kültürü için uygun aşamadaki tomurcuğun içersindeki anterlerden görünüm.....	92
Şekil 4.4. Patlıcanda uygun tomurcuk aşamasında alınarak ortama dikilen anterlerden görünüm.....	95
Şekil 4.5. % 0.5 ve %1'lik hazırlanan kolhisin çözeltisinden görünüm.....	96
Şekil 4.6. Mikro çeliklerin <i>in vitro</i> koşullarda kolhisin uygulamasından görünüm.....	96
Şekil 4.7. Kolhisin çözeltisinden alınan mikroçeliklerin yıkanarak tekrar kültüre alınmasından görünüm.....	97
Şekil 4.8. Anterlerin kültür ortamına alındıktan sonra şişerek farklılaşmaları (sağda), kallus oluşumu (solda).....	99

Şekil 4.9. Haploid patlıcan bitkilerinin görünümü.....	101
Şekil 4.10. Anter kültürü yoluyla elde edilmiş diploid patlıcan bitkilerinden görünüm.....	102
Şekil 4.11. Bahar dönemi anter kültüründen elde edilen, kolhisin uygulanan ve seradaki yerlerine alınan bitkiler.....	102
Şekil 4.12. “25” numaralı hattan oluşan bitkiciğin kök uçlarından alınan örneklerde kromozomların görünümü (n=12).....	104
Şekil 4.13. “25” numaralı hattan oluşan kolhisin uygulanmış bitkiciğin kök uçlarından alınan örneklerde kromozomların görünümü (2n=24).....	104

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1.1. 2003 ve 2004 Yılları İtibariyle Dünya ve Bazı Üretici Ülkelerin Üretim Miktarları, Ekim Alanı, Verim Değerleri .....	2
Çizelge 1.2. Dünya’da Patlıcan Üretilen Alan, Üretim ve Verim .....	2
Çizelge 1.3. Türkiye’nin Patlıcan Üretimi .....	3
Çizelge 2.1. Çalışmada Bitkisel Materyal Olarak Kullanılan Çeşit ve Hatların Bitki Özellikleri.....	19
Çizelge 2.2. Çalışmada Bitkisel Materyal Olarak Kullanılan Çeşit ve Hatların Meyve Özellikleri.....	20
Çizelge 2.3. Patlıcanda <i>V. dahliae</i> Hastalık Şiddetinin Belirlenmesinde Kullanılan Skala.....	22
Çizelge 2.4. RAPD analizinde kullanılan primerlerin baz dizisi.....	25
Çizelge 2.5. 2004 Yılı Patlıcan Genitörlerinin <i>V dahliae</i> Hastalık Şiddetleri.....	30
Çizelge 2.6. 2004 Yılı Gövde Değerlendirmesi Sonuçları .....	31
Çizelge 2.7. 2004 Yılı Reizolasyon Sonuçları.....	34
Çizelge 2.8. 2005 Yılı Patlıcan Genitörlerinin <i>V. dahliae</i> Hastalık Şiddetleri.....	36
Çizelge 2.9. 2005 Yılı Gövde Değerlendirmesi Sonuçları .....	39
Çizelge 2.10. 2005 Yılı Reizolasyon Sonuçları.....	40
Çizelge 2.11. 2006 Yılı Gövde Değerlendirmesi Sonuçları.....	43
Çizelge 2.12. 2006 Yılı Reizolasyon Sonuçları.....	45
Çizelge 2.13. RAPD analizinde kullanılan primerlerin baz dizisi.....	47
Çizelge 3.1. Minolta Renk Ölçüm Cihazı ile Yapılan Ölçüm Değerleri.....	69
Çizelge 3.2. İki Yıllık Patlıcan Çeşitlerinde ve Hattında Bitki Özellikleri (2005).....	74
Çizelge 4.1. Denemede Kullanılan Dikim Ortamının Bileşimleri.....	93
Çizelge 4.2. Denemede Kullanılan Transfer (R) Ortamının Bileşimi.....	94
Çizelge 4.3. Patlıcan Genotiplerinde Yaz Döneminde Anter Kültüründen Elde Edilen Sonuçlar.....	100
Çizelge 4.4. Patlıcan Genotiplerinde Sonbahar Döneminde Anter Kültüründen Elde Edilen Sonuçlar.....	103

## BÖLÜM 1. GENEL GİRİŞ

*Solanaceae* familyasına giren patlıcan (*Solanum melongena* L.), üretim alanı ve miktarı bakımından ülkemiz potansiyelinde önemli yeri olan bir türdür. Patlıcanın kültüre alınmış yada yabancı akrabaları (türleri), *Solanum* türlerinin içerisinde geniş bir yer kaplamaktadır. *Solanum* cinsi geniş bir cinstir. *Solanumun*'un alt cinsi *Leptostemonum*'dur. Patlıcanın coğrafik olarak orjini başlıca Asya ve Afrika'dır. En fazla bilinen tür *S. melongena* olup bu tür Indo-Burma bölgesinde tabii olarak bulunmakta ve günümüzde tüm dünyada yetiştiriciliği yapılmaktadır. Diğer kültürü yapılan patlıcanlar *S. melongena* ile akraba olup bunlar Afrika'da yetiştirilen kırmızı patlıcan (*S. aethiopicum* L.) ve Gboma patlıcan (*S. macrocarpon* L.)dir. Yabancı türler, tüm kültür patlıcanları ile akraba olup yabancı türler 200 civarındadır (Daunay ve ark. 2000a).

Laumonier (1952)'de patlıcanın anavatanının Hindistan olduğunu belirtmektedir. Patlıcan Hindistan'dan sonra batıya doğru yayılmıştır. Patlıcanın Avrupa'ya girişi İspanya yolu ile olmuştur. Zhukowsky (1958) patlıcan tarımının Avrupa'da 13 ve 14. yüzyıllarda yapıldığını bildirmektedir. Patlıcan Anadolu'ya 16. asır sonunda veya 17. asrın başlarında girerek yayılmıştır. Patlıcanın Amerika'ya yayılışı da kıtanın keşfinden sonra olmuştur. Bu gün patlıcan Dünya üzerinde Kuzey ve Güney yarımkürelerinin önemli bir bölümünde yetiştirilmektedir (Vural ve ark. 2000).

Patlıcan dünyada üretilen sebzeler içerisinde; domates, biber ve hıyar üretiminden sonra gelmektedir. Patlıcan gerek taze gerekse konserveye işlenerek veya kurutularak değerlendirilen ve Türk mutfağında çok çeşitli kullanım şekilleriyle özel yeri olan bir sebzedir. Sağlıklı yaşam idealinin gündemdeki yerini alması ile diğer sebzelerde olduğu gibi patlıcan tüketimi ve değerlendirme olanaklarını da arttırmakta, bu durum da Çizelge 1.1'de görüldüğü gibi üretimi arttırmaktadır.

Çizelge 1. 1. 2003 ve 2004 Yılları İtibariyle Dünya ve Bazı Üretici Ülkelerin Üretim Miktarları, Ekim Alanı, Verim Değerleri (Anonim 2005).

	Ekim Alanı (ha)		Üretim (ton)		Verim(ton/ha)	
	2003	2004	2003	2004	2003	2004
Dünya	1.630.970	1.716.705	28.993	30.144.463	176.504	175.337
Çin	851.627	901.572	16.029.929	16.530.287	18.82	18.35
Hindistan	500.000	510.000	7.830.000	8.200.000	15.66	16,07
Endonezya	44.414	45.285	301.030	312.354	6.77	6.87
Tayland	11.500	11.500	67.000	67.000	5.82	5.82
Japonya	12.000	11.500	395.800	390.700	32.98	33.97
Türkiye	36.000	35.000	935.000	900.000	25.97	25.71
Mısır	43.410	43.151	1.026.353	1.046.742	236.432	242.577
İspanya	3.876	1.030	175.629	46.671	45.31	45.31
İtalya	12.881	12.304	368.991	362.296	28.64	29.44
A.B.D.	2.100	2.10	61.000	61.000	29.04	29.04

Bu artışta önemli patlıcan üreticisi ülkeler olan Çin, Hindistan, Türkiye, Mısır, İtalya ve İspanya'da patlıcan üretimi son on yılda % 21 ile % 118 arasında artmıştır. Üretimi önemli ülkelerden sadece Japonya'nın üretiminde bir azalma olmuştur (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.2. Dünya'da Patlıcan Üretilen Alan, Üretim ve Verim (Anonim 2005)

Yıllar	Alan (ha)	Üretim 1000 ton)	Verim (kg/ha)
1994	948.621	15.679	16.528
1995	1.109.756	18.132	16.339
1996	1.192.476	19.285	16.408
1997	1.264.128	20.108	16.272
1998	1.347.352	20.760	17.033
1999	1.410.100	21.135	18.547
2000	1.504.034	26.466	17.697
2001	1.518.145	27.481	17.358
2002	1.599.804	28.926	17.485
2003	1.630.970	28.993	17.777
2004	1.716.705	30.144	175.59

Son on yıllık veriler incelendiğinde; dünya patlıcan üretiminde Çin'in % 50.6, Hindistan'ın % 30.1, Türkiye'nin % 3.8 ile ilk üç sırayı paylaştıkları, özellikle son beş yılda Çin üretiminin arttığı; Hindistan ve Türkiye üretimlerinin ise fazla değişmediği görülmektedir. Dünya üretiminde ilk üç sırayı % 84.5 oranı ile Çin, Hindistan ve Türkiye almaktadır (Çizelge 1.2).

Türkiyede farklı iklim ve toprak yapısı nedeni ile birçok sebze türü üretilmektedir. Patlıcanda bu sebze türlerinden biridir, Türkiye şartlarında patlıcan



üretimi hem tarla hem serada yapılabilmekte, fakat iklim ve toprak isteği yanında bakım şartları ve ekim nöbeti tercihinden dolayı her bölgede yetiştirilememektedir.

Türkiye’de patlıcan üretimi yapılan en önemli iller İçel, Antalya, Urfa, Hatay, Aydın, Bursa, Adana ve Samsun’dur (Keskin 2004).

Çizelge1.3.Türkiye’nin Patlıcan Üretimi  
(Anonim 2005)

Yıllar	Ekili Alan (ha)	Üretim (Ton)	Verim (kg/ha)
1992	30.926	750.000	24.251
1993	31.579	750.000	23.750
1994	41.283	810.000	19.621
1995	31.302	750.000	23.960
1996	32.651	850.000	26.033
1997	32.239	847.000	26.273
1998	32.826	915.000	27.874
1999	33.324	976.000	29.288
2000	33.026	924.000	27.978
2001	33.283	945.000	28.393
2002	36.428	955.000	26.216
2003	36.000	935.000	25.970
2004	35.000	900.000	25.710

Türkiye’nin 1997-2002 yılları arasında patlıcan üretimi 1992 ve 1993 yılında 750.000 ton olarak gerçekleşmiş, 1994-1998 yıllarında ise 750.000 ton ile 850.000 ton arasında değişim göstermiştir. 1998 yılından sonrada üretim 900.000 tonu aşarak 2002 yılında 955.000 tona ulaşmıştır. 1991-2002 yılları arasında Türkiye patlıcan verimi hektara 19.621 kg ile 29.216 kg arasında değişmiştir (Çizelge1.3).

Patlıcan Türkiye şartların daha çok ılıman ve sıcak iklim özellikleri gösteren bölgelerde üretilmektedir. Türkiye’de patlıcan çok yönlü tüketimi olması yanında özellikle 1980’li yıllardan sonra başlayan yerli turizmdeki gelişmeye bağlı olarak yiyecek- içecek sektöründeki çeşitliliğe katkısı olması ve tarıma dayalı sanayinin gelişmesi nedeniyle bir çok ürünün işlenerek satılma olanaklarının artması sebebiyle tüketimi artan bir sebze türüdür. Türkiye’de işlenmiş patlıcan ile ilgili olarak istatistiklere yansiyacak biçimde ciddi veriler olmamakla birlikte, patlıcanın reçel, turşu ve konserve sanayinde hammadde olarak kullanıldığı bilinmektedir.

Patlıcan, tüketimi artan bir sebze türü olmakla birlikte üretim miktarlarında önemli artış olmadığı gibi üretimin zaman zaman düştüğü gözlenmektedir. Hem yetiştiriciliğin, hem üretimin sınırlı düzeyde kalmasının pek çok nedeni bulunmakla birlikte özellikle örtü altı yetiştiriciliğin yapıldığı bölgelerde görülen *Verticillium dahliae*’nin yol açtığı *Verticillium* solgunluğu hastalığı bu sıralamada önemli yer tutmaktadır. *Verticillium* fungusu araziye (tarla, bahçe) bir kez girdiği zaman toprakta yıllarca yaşabilmektedir. *Verticillium* fungusunun yeni yerlere bulaşması su, güçlü rüzgarlar, tohum, alet, tarım makinaları ile toprağa ve bitkinin köklerine ulaşmaktadır. Toprak kökenli olan bu fungus bitkinin kök sisteminden girerek bitkinin vasküler sistemine taşınır ve daha çok damarlar arasında sarımsı lekeler, damarlarda renk değişimiyle bitkinin büyümesine mani olur, genellikle alt yaprakların sararıp solmasına ve düşmesine neden olur, hastalık sonucu verimde düşme ürün kalitesinde azalma ve sonuçta bitkinin ölümü gerçekleşir (Perez 1996).

Bu hastalıktan korunma tedbirleri içinde kültürel tedbirler olarak dayanıklı çeşit kullanmak, münavebe, uygun bitki aralığı, uygun yer seçimi, iyi gübreleme ve sulama sayılabilir.

Sebze çeşit ve hatlarında hastalık, zararlı ve çevresel stres faktörlerine karşı dayanıklılığın veya en azından toleranlığın sağlanması çok önemlidir. Sebze üretim alanlarında başta toprak kökenli hastalık ve zararlı etmenlerin yaygın olması ve bunlara karşı kimyasal ilaçlarla mücadelenin yoğun yapılması nedeniyle çevre ve insan sağlığına büyük ölçüde olumsuz etkiler söz konusudur. Geliştirilen çeşidin

verim ve kalite özellikleri yanında hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı olması da pazarda başarılı olması için son derece gerekli bir niteliktir. Bu nedenle günümüzde hastalık ve zararlılara dayanıklılık çalışmaları büyük önem taşımaktadır (Anonim 2003).

Dayanıklı çeşit kullanarak, hastalıklara dayanıklı çeşide giderken uygulanan ıslah metotlarında zamanı kısaltmada son yıllarda haploidizasyon kullanılmaktadır. Haploidizasyon, bir bitki materyalinin homozigot hale getirilmesi için ard arda yapılması gerekli kendilemeler için iyi bir alternatiftir. Canlıların kromozomları  $2n$  yapısına sahiptir.  $n$  kromozom yapısına sahip canlılara haploid canlılar denir. Haploid yapıdaki bitkiler ıslah çalışmaları için oldukça önemlidir, çünkü homozigot yapıdadırlar.

Haploidizasyon yöntemi ve dihaploid bitkiler ıslah çalışmalarında değişik amaçlar için kullanılmaktadır. Bu durum ıslahçılar için önemli avantajlar sağlar. Yabancı döllenmiş türlerde heterozigoti oranı çok yüksek olduğundan bunlarda homozigot hatların elde edilmesi için 10-12 generasyon boyunca kendilemeler gerekmektedir; kendine döllenmiş türlerde bile aynı amaçla 5-7 generasyon kendileme işlemine gereksinim duyulmaktadır. Dihaploidizasyon yöntemi kullanılarak homozigot hatlara bir generasyonda ulaşmak olasıdır.

Bu araştırmanın amacı, patlıcanda iletim demetlerinde hastalığa neden olan, kimyasal ve aşı yöntemleriyle yeterli olarak kontrol edilemeyen *V. dahliae* kleb. ile savaşmada en etkili yöntem olan dayanıklı hatların bulunmasıdır. Elimizdeki hatlar *V. dahliae* izolatu ile klasik olarak testlenerek dayanıklı/tolerant hat belirlenmiştir ve bu hat ile kültür çeşidi arasında melezleme ( $F_1$ ) yapılmıştır. Daha sonra  $F_2$ 'deki açılımı tam olarak görebilmek açısından  $F_1$ 'de kendileme yapılmıştır. Elde bulunan ana, baba,  $F_1$  ve  $F_2$  tekrar *V. dahliae* izolatu ile klasik olarak testlenmiştir ve bunun sonucunda  $F_2$  içersinde *V. dahliae* hastalık şiddeti en düşük bitkiler tespit edilerek bu bitkilerden temin edilen uygun tomurcuk aşamasında anter kültürü uygulanmıştır. Böylece dayanıklı /tolerant hattın çok kısa sürede homozigot hale getirilerek ıslah çalışmalarında kullanılması amaçlanmıştır.

## BÖLÜM 2. PATOJENİSİTE TESTİ

### 2.1. GİRİŞ

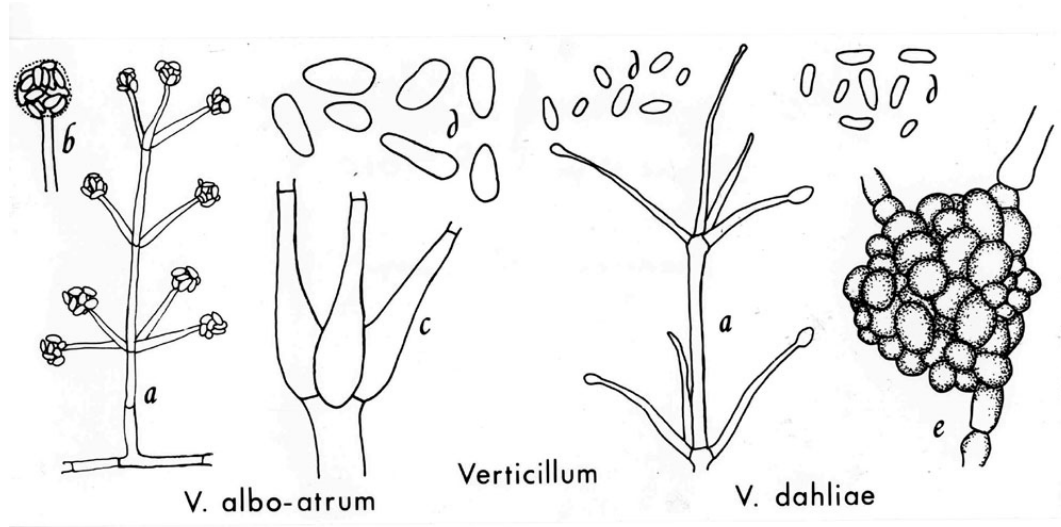
Patlıcanda verim düşüklüğünde etkili *Fusarium* ve *Verticillium* olmak üzere iki önemli hastalık bulunmaktadır. *Verticillium* toprak kökenli bir fungustur, nisbeten serin havalardan (20-23 °C) hoşlanır. Kısa günler ve düşük ışıklanma bitkileri hastalığa duyarlı hale getirir. *Verticillium*, toprakta dayanıklı organları olan mikrosklerotları sayesinde çok uzun süre yaşar ve yayılması, kültürü yapılan veya yapılmayan çok sayıda konukçu bitki (patlıcan, domates, patates) vasıtasıyla gerçekleşir. Bu hastalık etmeni; bitkisel artıklar, aletler ve harç malzemesiyle taşınabilmektedir (Wiggens 2003).

*Verticillium* solgunluğu hastalığına neden olan esas olarak iki tür bulunmaktadır: *Verticillium dahliae* Kleb. ve *albo-atrum* Reinke et Berth. Bu funguslar toprak kökenli hastalıklar arasında yer almakta, genellikle kötü yapılı topraklarda ve düşük toprak sıcaklıklarında ortaya çıkmaktadırlar. *V. dahliae* (25-28 °C), *V. albo-atrum*'a göre daha yüksek sıcaklıklarda daha iyi gelişme göstermektedir (Uslu 2004).

***Verticillium dahliae* Hastalık Belirtileri;** Gövdede vasküler renk değişimi ve çizgiler oluşmaktadır. Bu çizgilere dışsal olan belirtilerde eşlik edebilmektedir. Örneğin solgunluk, sararma, yaprak ve dallarda ölüm, bütün bitkide ölüm kronik (süreğen belirtiler); gelişmenin engellenmesi, yapraklarda deformasyon ve kuruma, yavaş gelişme, anormal ağırlığa sahip tohum üretimi (Anonim 1997).

***Verticillium dahliae* Hastalık Devri;** *V. dahliae* ve *albo-atrum* her ikisi de bir hücreden ürer. *V. dahliae* dakikada ürer, siyah dinlenme durumundaki yapısı mikrosklerotia (Şekil 2.1) olarak isimlendirilir. *V. albo-atrum*'un optimum büyüme sıcaklığı 20-25 °C, *V. dahliae* biraz daha yüksek sıcaklıkları tercih eder ve daha fazla sıcak bölgelerde yayılmıştır. Tarımsal toprakların 1 gramı 100 veya daha fazla mikrosklerot içerir. 1 gr toprağın 6 ila 50 mikrosklerot içermesi örneğin domates, biber, patlıcan ve patatesin hastalığa hassas bitkilerinde hastalığın % 100 bulaşması için yeterlidir. Bu iki *Verticillium* fungusu (Şekil 2.1) konukçu bitkinin kök sistemine

akın etmekte ve yara yerlerinden veya direkt olarak bitkinin içersine girmektedir. Fungus köke girdiği zaman konukçunun ksilemini istila etmekte (Şekil 2.2) ve hızla yayılmaktadır. Bu hastalık fungal sporları ile yayılarak yukarıya doğru iletim demetlerini tıkamakta, bitkinin yeni kısımlarını etkilemektedir. Bu fungus otsu ve odunsularda kök ve gövde de kolonize olmaktadır. Konukçu öldükten sonra veya yetiştiği mevsimin sonunda kışı toprağın üzerine düşmüş bitki parçaları üzerinde geçirmektedir. Bu fungus toprakta konukçusu olsun veya olmasın saprofitik olarak yaşayabilir. Yaşamını konukçu olmayan türlerin köklerinde de sürdürebilir, fakat bunları sistemik olarak sarmamaktadır. Bu mikrosklorotler herhangi bir konukçu bitkiye bağlanmadan uzun yıllar (15 yılın üzerinde) yaşayabilmektedir. *Verticillium*; bulaşık tohumla, bitki parçası, yumru, gonca, tomurcukla hızla yayılmaktadır. Yeni konukçu bitkiye bulaştığı anda kök sistemini sarmakta, yukarıya doğru ilerleyerek yaşam döngüsünü devam ettirmektedir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. *Verticillium* fungusunun mikroskop altındaki görünümü (a) vertisillat dallanma; (b) Eşeysiz sporların bulunduğu üst kısım;(c) Konidifer dallanmasının yakından görünüşü; (d) Konidiler; (e) Olgun mikrosklorotlar (Anonim 1997).

*Verticillium* solgunluğu diğer yaygın hastalıklarla karıştırılmaktadır, bunlar *fusarium* solgunluğu ve bakteriyel solgunluktur. Aslında *Verticillium* daha fazla sıcak bölgelerde bulunmaktadır. Eğer hava koşulları *Verticillium dahliae* gelişimi için elverişsiz ise bulaştığı arazideki bitkileri kötü şekilde sarmamakta, verim ve kaliteyi çok az düşürmektedir (Anonim 1997).

*Verticillium* zararlı etkisini vasküler dokularda yapmaktadır. Bunun sonucunda köklerden yapraklara su taşınımı azalmaktadır. Bu az su taşınımı sonucu solgunluk, bu hastalığın karakteristik belirtisidir ve bitki sıklıkla ölür. *V. dahliae* belirtisi neredeyse tüm otsu bitkilerde aynıdır. Yaşlı ve genç yapraklar genellikle sarıya döner, solar ve kurur. Bu belirtiler yüksek bitkilerde yavaş yavaş ilerler. Hastalıklı bitkilerin genellikle gelişmesi yavaşlar ve eğer bulaşma erken olmuşsa bitki erken ölür. Otsu bitkilerde *Verticillium* solgunluğunun belirtisi örneğin, domateste; *fusarium* solgunluğu ve bakteriyel solgunlukla kolayca karıştırılabilir. Laboratuvar çalışmaları ve neden olan organizmaların belirlenmesi bu hastalıkları ayırt etmek için gereklidir. Kök ur nematodu ve nematod lezyonları *verticillium* solgunluğu ile birleştiği durumda patlıcanda, biber, patates ve domatesde sinerjistik etkinin ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Anonim 1997).



Şekil 2.2. Domateste solgunluk belirtileri; (A) bakteriyel kanser; (B) *Verticillium* solgunluğu (C) *fusarium* solgunluğu (Anonim 1997).

Sebze çeşit ve hatlarında hastalık, zararlı ve çevresel stres faktörlerine karşı dayanıklılığın veya en azından toleranlığın sağlanması çok önemlidir. Sebze üretim alanlarında başta toprak kökenli hastalık ve zararlı etmenlerin yaygın olması ve bunlara karşı kimyasal ilaçlarla mücadelenin yoğun yapılması nedeniyle çevre ve insan sağlığına büyük ölçüde olumsuz etkiler söz konusudur. Geliştirilen çeşidin verim ve kalite özellikleri yanında hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı olması da pazarda başarılı olması için son derece gerekli bir niteliklerdir. Bu nedenle günümüzde hastalık ve zararlılara dayanıklılık çalışmaları büyük önem taşımaktadır (Anonim 2003).

Dayanıklılık, hastalık ve zararlı etmeninin çoğalma ve gelişmesinin bitki tarafından engellenmesidir. Bitkinin hastalık ve zararlı etmenine karşı dayanıklılığı; düşük, orta ve yüksek düzeyde gerçekleşmektedir. Bitki yüksek düzeyde dayanıklı ise patojen hiç çoğalmamakta veya çok az düzeyde çoğalabilmekte, orta ve düşük dayanıklılıkta ise hastalık ve zararlı etmeni belli düzeyde çoğalabilmektedir. Buna karşın duyarlı bitkide dayanıklılığın tam tersi olaylar görülmektedir. Bu durumda hastalık ve zararlı etmeni çoğalmakta ve yoğun enfeksiyonlarda bitkinin ölümüne neden olmaktadır. Dayanıklılık kalıtsal olarak; tek gen (monogenic), birkaç gen (oligenic) ve çok gen (polygenic) tarafından idare edilmektedir. Dayanıklılığın tek gen, birkaç gen ve çok gen tarafından idare edilmesinin bilinmesi ıslah çalışmaları için büyük önem taşımaktadır. Tek gen tarafından idare edilen dayanıklılık çalışmaları, diğerlerine göre oldukça basit ve sonuç elde edilmesi daha kolaydır (Devran 2003).

### ***Verticillium* Fungusunun Kontrolü**

*Verticillium* fungusunun kontrolü zordur. Konukçu bir bitki olsun veya olmasın uzun süre toprakta yaşayabilme yeteneğine sahiptir. Bitkinin iletim demetlerine yerleşir ve *Verticillium* teşhisinin ilkte konması güçtür. Yalnız laboratuvar çalışmaları ile bulaşık bitki materyali üzerinde *Verticillium* tespit edilebilir. *Verticillium* arazide tespit edildiği durumda hastalığın etkisini azaltmak için çeşitli tedbirler alınabilmektedir.

1. Çeşitli fungusitlerin bitkiye direkt uygulanması sonunda hiç birisi devamlı kullanım için pratik bulunmamıştır. Fidenin taşınım (yerine alma) aşamasında benomly (Benlate 50 WP) kullanılmaktadır. Benlate geçiçi süre etkilidir ve yeni çıkan kökleri koruyamamaktadır. Kimyasal kontrol yalnızca, küçük alan ve özellikle serada olmak koşuluyla çilekte bulunmuştur. Bunun genel prosedürü toprak dezenfeksiyonudur. Bu kimyasal; yabancı ot, böcek ve topraktaki nematotları da kontrol altına almaktadır. Ticari kuruluşlar fumigasyonu genellikle uygulayamamaktadır, ki bunları ellerindeki kimyasalların ruhsatları sınırlandırılmaktadır. Fumigasyon konusunda farklı tavsiyeler bulunmaktadır. Bunlardan bir tanesi; seradaki yetiştiricilik için veya saksıdaki üretimler için toprağa buhar ½ saat 81 °C veya 71 °C 1 saat uygulanır.

2. Daha önce *Verticillium* solgunluğu görülen arazilerde bu hastalığa hassas bitkiler yetiştirilmemelidir. Sebze, çiçek ve tarla bitkilerinin 5 yıl veya daha fazla dönüşümlü yetiştirilmesi enfeksiyon miktarının azalmasına yardımcı olabilir.

3. Bitkinin etrafındaki yabancı otların kontrolü bulaşmada rol oynamaktadır.

4. Gübreleme özellikle N, P, K'un dengeli verilmesi bitkinin gücünü arttırmaktadır ve gübreleme arazideki belirtilerin azalmasına yardımcı olmaktadır. *Verticillium* belirtileri görüldüğü zaman mümkün olan en kısa sürede sulama ve gübreleme yapılması bitkiyi olumlu etkilemektedir. Gübreler, toprağa hızlı cevap için sıvı formda verilmelidir.

5. Ölen bitkiler kök sistemleri ile birlikte araziden uzaklaştırılmalıdır (Anonim 1997).



## 2.2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

*Verticillium* ile bulaşık tarlalarda bitkilerin büyüklükleri farklı olmaktadır. Kuvvetli kuraklıkta sürgün uçlarındaki yapraklar pörsümekte, alt yaprakların uç kısmı sararmaktadır. Genellikle yaprakların bir tarafı henüz yeşilken diğer kısmı kurumaktadır. Yaprak ayasında kahverenkli veya kül grisi renkler bulunmakta, yaprak sapı oldukça uzun süre yeşil kalmaktadır. Bitki sağlıklı görünmesine karşın ana sap kesildiğinde dağınık kahverengi lekeler ve açık renkte kabuk görülmektedir. Bu görünüm vasküler sisteme kadar ilerleyebilmektedir. Bitki su alımını sağlayabilmek için kuvvetli adventif kök oluşumuna yönelmektedir. Hasta bitkiler çok seyrek ölmekte, fakat alt yaprakların büyük bir kısmı kurumakta ve çok az ürün vermektedir. Enfeksiyon kaynağı olarak bulaşık toprak büyük öneme sahiptir. Bulaşmada tohumla taşınmanın rolü çok azdır (Çınar 1989).

Bu hastalıktan korunma tedbirleri içinde kültürel tedbirler olarak dayanıklı çeşit kullanmak, münavebe, uygun bitki aralığı, uygun yer seçimi, iyi gübreleme ve sulama sayılabilir. Patlıcanda görülen bu fungus hastalığına *V. dahliae* etmeni sebep olmaktadır. Toprak kökenli olan bu fungus bitkinin kök sisteminden girerek bitkinin vasküler sistemine taşınır ve daha çok damarlar arasında sarımsı lekeler, damarlarda renk değişimiyle bitkinin büyümesine mani olur, genellikle alt yaprakların sararırıp solmasına ve düşmesine neden olur, hastalık sonucu verimde düşme ürün kalitesinde azalma ve sonuçta bitkinin ölümü gerçekleşir (Perez 1996).

*Verticillium*'un kimyasal kontrolü hem zor hem de ticari olarak karlı değildir. Patlıcanda, domates anacı üzerine aşılamanın da hastalığın kontrolünde etkili olduğu ancak uygulamasının çok zor ve ekonomik olarak karlı olmadığı kanıtlanmıştır. Bu nedenle patlıcanda *Verticillium*'a dayanıklılığın kazandırılmasında en iyi çözüm yolu; dayanıklı çeşitlerden veya dayanıklı yabani türlerden kültürü yapılan patlıcanlara dayanıklı genlerin aktarılması olabilir (Pessarakli ve Dris 2003).

Toprak kökenli hastalıklarda yetiştiriciliğin yapıldığı yerlerde dayanıklı çeşit kullanılması, hastalığın ortaya çıkmasını engellemek veya çok az etkili olmasını sağlamak suretiyle en etkili mücadele yöntemi olarak bilinmektedir. *Verticillium*

solgunluğu hastalığına karşı dayanıklılık geliştirme konusunda birçok araştırmacı tarafından çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan bazıları özetlenerek sunulmuştur.

Patlıcanda % 37-60 oranında ürün kayıplarına neden olan ve meyve kalitesini bozan *Verticillium* solgunluğuna dayanıklılık çoklu resesif eklemeli genler tarafından kontrol edilmekte ve bu genler yabancı patlıcan türlerinde bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri *Solanum torvum* ve *Solanum sisymbriifolium* dur. Yapılacak ıslah çalışmalarıyla bu dayanıklılık genlerinin yerel kültür çeşitlerine aktarılmasına ihtiyaç vardır (Pessarakli ve Dris 2003).

Orestein ve ark. (1989), *V. dahliae* fungusuna ait toksinlerin domates ve patlıcanlarda kök uzaması ve ikincil köklerin gelişimi üzerinde engelleyici etki yaptığını belirlemişlerdir. Hastalık etmenine duyarlı domates çeşidinin köklerinde toksin uygulaması yapıldığında hücrelerde küçülme olduğu halde; dayanıklı çeşidin köklerinde hücre büyümesini etkilemediği gözlenmiştir. Araştırmacılar, kök hücrelerinin büyüklüğünde meydana gelen değişikliklerin belirlenmesinin, domateste *V. dahliae*'ye dayanıklılık bakımından yapılacak bir tarama (screening) çalışması amacıyla kullanılabileceğinden bahsetmişlerdir (Uslu 2004).

Salata ve ark. (1989), 43 adet yumru oluşturmayan *solanum* türünü, *V. dahliae* ve *pseudomanas solanacearum* (bakteriyel solgunluk) etmenlerine karşı dayanımları bakımından incelenmiştir. *V. dahliae*'ye yüksek düzeyde dayanım; BIRSO655 (*S. abutiloides*); BIRSO839 (*S. torvum*); BIRS1034 (*S. caripense*); BİRS1171 (*S. persicum*); BIRSO246 (*S. scabrum*) genotiplerinde elde edilmiştir.

Patlıcan (*S. melongena*) fideleri "Tsakoniki" *V. dahliae* dayanıklı yabancı tür *S. torvum* (GST) ve *S. sisymbriifolium* (GSS) ile aşılansmıştır. Aşılansmış ve aşılansmamış patlıcanlar 1998 ve 1999 Yunanistanda toprağı metil bromid ile fumige edilmiş toprağı ve *V.dahliae* skloretleri ile sarılmış toprağı transfer edilmiştir. Aşılı bitkiler, ölçülen bitki yüksekliğı, ana gövde çapı ve kök sisteminin ağırlığı yönü ile aşısız "Tsakoniki" bitkilerden daha dayanıklı olduğı belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre erken verimdeki artma (GST % 45,5; GSS %18,4), geç verimde (GST % 69,3; GSS %59,2) enfekte edilmemişlerle karşılaştırılmışlardır. Sonuç olarak; patlıcanların her iki yabancı çeşit ile aşılansması bitkinin büyümesini, verimini ve

*Verticillium* solgunluğunun kontrolünü pozitif yönde etkilemiştir (Bletsos ve ark. 2003).

Cirulli ve ark. (1990), 116 değişik patlıcan genotiplerinin hiç birinde *V. dahliae*'ye yüksek düzeyde bir dayanıklılık belirlenemediğini bildirmişlerdir.

Jarl ve ark. (1999), *Verticillium*'a dayanıklı bireyler elde edebilmek için *S. melongena* ve *S. torvum* arasında protoplast kültürü yapmışlardır. Somatik hibridizasyon yoluyla, *S. torvum*'da bulunan fungal dayanıklılığın kültür patlıcanına aktarılmasına gayret eden araştırmacılar, *Verticillium* solgunluğuna karşı dayanıklılığı yapılan *in vitro* testlerle belirlenmiştir. *S. torvum* protoplastları ile *S. melongena* protoplastları arasındaki protoplast füzyonunu gerçekleştirerek, hibrit bitkileri elde etmeyi başarmışlardır. Oluşan somatik hibritler yeniden üretilmiş ve *Verticillium*'a dayanıklılığı (*V. dahliae* ve *V. albo-atrum* izolatları kullanılarak) bakımından değerlendirilmişlerdir. Araştırmanın sonucunda normal tohum setleri dahil olmak üzere patlıcanın morfolojik karakterleri birleştirilerek tarla koşulları altında denenmiş, *Verticillium*' dayanıklılık gösteren 12 çeşit seçilmiştir.

Sebze hastalıkları, zararlıları ve yabancı otlara uygulanan kimyasal ilaçlara karşı alternatif bir yol olması bakımından solarizasyon düşünülmüş ve *Verticillium dahliae* karşı toprak 4 yıl solarizasyon ve kısmi solarizasyona tabii tutulmuş ve bunun sonuçlarının gözlemlendiği bir çalışma yapılmış. *V. dahliae* mikrosklorotlerini öldürmek amacıyla 38-45 °C arasında farklı sıcaklık derecelerinde 21, 97, 275 ve 324 saat tutulmuştur. Kontrol, solarizasyon ve kısmen solarizasyon yapılan topraklar incelendiğinde, solarizasyon ve kısmi solarizasyon yapılan toprakların 25 cm derinliğinde toprak sıcaklığında sırasıyla 14.4-16.8 °C ve 8.1-10.7 °C artma olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak kısmi solarizasyon ve solarizasyonun *Verticillium* solgunluğunun şiddetini sırasıyla %35-48, %89-98 düşürdüğü, fakat bu etkinin sonraki derin sürümlerle azaldığı tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada patlıcanda verimin daima kontrole göre solarizasyon yapılan toprakta yüksek, kısmi solarizasyon yapılan toprakta ise orta derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tamietti ve Valentino 2001).

Patlıcanda *Verticillium* solgunluğuna dayanıklılık ıslahı üzerine yapılan bir çalışmada; *Solanum sodomaeum* L. (2n=24) dayanıklılık kaynağı olarak

kullanılmıştır. Türler arası melezlemenin yapıldığı ve *S. sodemeum*'un (yabani ırk) ana olarak kullanıldığı çalışma da oval meyveli (Buia) ve uzun meyveli (Tina) çeşitler baba olarak kullanılarak 2 kültür patlıcan çeşidi ile melezleme yapılmıştır. Bu türler arası melezler daha sonra kendilenmiştir ve *V. dahliae* tolerant olan farklı genotipteki patlıcanlar ile geriye melezlenmiştir. 2-3 kez geriye melezlemeden sonra bitkide ve meyvelerinde gelişmeler tespit edilmiştir. Geliştirilen türler arası melezler ile ana hatta RAPD analizi uygulanmıştır. RAPD analizinde *S. sodemeum* ile patlıcan çeşitleri ve türler arası melezler arasında yüksek oranda polimorfizm bulunmuştur. Yapılan dayanıklılık testinde *S. sodemeum* ile hassas ve dayanıklı çeşitlerin çaprazlanması sonucu bulunan 9 hibrit çeşit içinde 4 tanesi hastalığa karşı tolerant, 5 tanesi ise hassas bulunmuştur (Acciarri ve ark. 2001).

Singh ve ark. (2006), RAPD tekniği kullanılarak genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla 5 türde 28 çeşidin akrabalıkları belirlenmiştir. 28 patlıcan çeşidi ülkenin farklı bölgelerinden toplanmıştır. 14 decamer primerden toplamda 144 polimorfik bant üretilmiştir. Patlıcanlarda genetik çeşitliliğin yüksek seviyede olduğu ve dendogramın oluşturulduğu benzer çalışma ile UPGMA methodu göstermiştir ki *S. melongena*'ya en yakın *S. incanum*'dur, bunu *S. nigrum* takip etmiştir.

Yapılan bir çalışmada hastalığa dayanıklı patlıcan çeşitlerinin geliştirilmesi ve hastalığa dayanıklı genler için moleküler markörler tanımlanmıştır. *S. aethiopicum* Gilo tipi (Sa 2), *S. aethiopicum* Acelatum grubu (Sa), *S. sisymbriifolium*, *S. torvum* ( Endonezya'dan), *S. torvum* (Fransa'dan) ve *S. integrifolium* olmak üzere 6 yabani patlıcan türü *Verticillium* solgunluğuna karşı taranmıştır. Dourge -D9, mor uzun (PPL), mor salkım (PPC), PU olmak üzere 4 kültür patlıcan çeşitleri (*Verticillium* solgunluğuna hassas) kullanılmıştır. Kültür ve yabani çeşitler arasında taksonomik uzaklık nedeniyle klasik ıslahta sorunlar yaşanmaktadır. Bu çalışma dayanıklı çeşit geliştirmek amacıyla somatik hibridizasyon şeklinde yürütülmüştür. RAPD çalışmaları kültür çeşitleri ile yabancılar arasında somatik hibritler de yapılmıştır. Bu çalışmada ebeveyn olan yabancı ve kültür çeşitleri ile onların somatik hibritleri üzerinde *V. dahliae* fungusuna karşı dayanıklılıkları ile ilgili özel polimorfik bantların tanımlanması için

polimorfizm örneklerinin kalıtımında çalışılmıştır. Kültür çeşitlerinin polimorfizm oranı % 54'tür (Sunseri ve ark. 2003).

Daunay ve ark (2000b), *S. melongena* ve akraba türlerinde gen haritalarının çıkartılması ve moleküler genetiğin patlıcan ıslahında kullanılmasına yönelik çalışmalar yapmışlardır. Araştırmacılar, *S. melongena* germplazmı içinde bu güne kadar bazı zararlılar (*Meloidogyne incognita*) ve *V. dahliae* gibi bazı hastalıklara dayanıklılık kaynağı bulunmadığını ifade etmekte, bazı markörlar sayesinde yabancı *Solanum* türlerinde bulunan monogenik yapıdaki bu dayanıklılık özelliğinin tespit edilmesiyle kültür bitkilerine gen aktarımı yapılması için ufuk açılacağı ileri sürmektedirler.

Robinson ve ark. (2000), yabancı *Solanum* türlerinin patlıcan ıslahçıları için değerli bir kaynak olduğuna işaret etmekte, testlere tabi tutulan *S. melongena*'nın tüm alt varyetelerinin *Verticillium* solgunluğuna duyarlı olduğunun belirlendiğini açıklamaktadırlar. Yabancı türler ile kültür patlıcanlarının akrabalıklarının uzak olması nedeniyle türler arası melezlemelerin yapılamadığı, ya da sadece tamamen kısır hibritler elde edilebildiği rapor edilen makalede en yakın akraba tür olan *S. incanum*'un *V. dahliae*'ya dayanıklılık potansiyeline dikkat çekilmektedir.

Kashyap ve ark. (2000), patlıcanda marker esaslı bir çalışma ile *V. dahliae* fungusuna dayanıklılık genlerinin önceki yıllarda tanımlanmadığını, amaçlarının bu geni tanımlamak olduğunu belirtmektedirler. *S. aethiopicum*, *S. sisymbriifolium*, *S. torvum*, ve *S. integrifolium* türlerinin *V. dahliae* fungusuna karşı dayanıklı olduğu yönünde bilgiler bulunduğunu söyleyen araştırmacılar, dayanıklı olan bu yabancı patlıcan akrabaları ile dört adet *S. melongena* kültür çeşidini de duyarlı bitkileri temsil etmesi için seçmişlerdir. Yabancı türler ve kültür patlıcanlarının taksonomik olarak birbirinden uzak akraba olmaları nedeniyle geleneksel ıslah yöntemleri ile melezlenme olanağı bulunmadığına dikkat çekilen bitkiler arasında somatik hibridizasyonların da yapıldığı anlatılmaktadır. *S. melongena* türüne ait Dourga-D90 ve Pusa Purple Cluster (PPC) çeşitleri ile *S. aethiopicum*, *S. sisymbriifolium* ve *S. torvum* türleri arasında somatik hibridizasyon yapılmış ve hibritlerde RAPD çalışmaları gerçekleştirilmiştir. 2000 yılındaki bu araştırmada,

henüz *V. dahliae*'e dayanıklılık geninin bulunmadığı, ancak çalışmalara devam edildiği ifade edilmektedir.

Bejanaro-Alcazar ve ark. (1999), Bitkide solgunluğa neden olan *Verticillium* fungusunun patlıcan fidelerinin köklerine tek taraflı kök inokulasyonlarının etkisine bakılmıştır. Özel dizayn edilmiş saksıların kullanıldığı çalışmada; fide dikiminden sonra 4. günde delikli (3x6 mm) plastik bir filtrenin içine konan mikrosklorotler saksının bir tarafından ana köklerin bulunduğu kısma dikey olarak salınmıştır. İnokulasyonun gerçekleştiği zamanda henüz yan kökler oluşmamıştır. Bu delikli yapı, ana kökler daha aşağıya indiği zaman (3-4 gün sonra) alınmıştır. Bitki köklerinin inokulasyon bölgesinde yüksek enfeksiyon gösterdiği, fakat inokulasyon bölgesinin altında ve üstünde çok çeşitli kök enfeksiyonları taşıdığı tespit edilmiştir. Kökün düşük sayıda mikrosklorotle karşılaşması durumunda (26/adet) kök inokulasyonu %65 olduğu, zamanla enfeksiyonlu bitki sayısının azaldığı dikkati çekmiştir. İnokulasyonda 2-4 hafta sonra maksimum olan oran (%65-100), inokulasyondan 6-7 hafta sonra %10-29 olarak tespit edilmiştir.

Bazı araştırmacılar yeterli toprak neminin solgunluğu arttırdığını, diğerleri ise kuraklığın arttırdığını belirtmişlerdir. Yapılan bir çalışma ile patlıcanda su stresinin *Verticillium* solgunluğunun şiddeti üzerindeki etkisi, meyve kalitesi ve pazarlanabilir ürün üzerindeki etkisi incelenmiştir. "Tsakoniki" çeşidine ait 20 adet fidenin 10'u *Verticillium* fungusu ile bulaşık toprağa dikilmiş, diğer 10 adedi ise kontrol olarak alınmıştır. Saksılar her 2, 4 ve 6 günde sulanmıştır. Toprak nemi her sulama öncesi belirlenmiş. Hastalığın şiddeti indeks (DI) ile belirlenmiş, yaprakta oluşturduğu sonuçlar ile kombine edilmiş (LSI) ve vasküler renk değişim indeksine (VDI) bakılmıştır. Buna ilave olarak; bitki yüksekliği, erken ve geç pazarlanabilir ürün, erken ve toplam pazarlanabilir ürün, bitki ağırlığı, toprağın üstündeki bitkinin ağırlığı, kök ağırlığı, pH , toplam suda çözünebilir kuru madde, renk ölçülmüştür. 2, 4, 6 günde sulamanın bitkide *Verticillium* solgunluğuna etkisi; yukarıda bahsedilen karakterlerin korelasyonu şeklinde belirlenmiştir. *Verticillium* solgunluğu ölçülen tüm karakterler yönüyle negatif etkilenmiştir. Ortalamada erken ticari ürün miktarı %40.8 azalmıştır. Yalnızca kalite kriterlerinden meyvenin parlaklığı ve rengi sulamalardan olumlu etkilenmiştir. Sonuç olarak *Verticillium* hastalığı ve sulama

kombine edildiğinde erken ve toplamda patlıcanda üretimin düştüğü tespit edilmiştir (Bletsos ve ark. 1999).

Neshev ve ark (1997), 37 patlıcan çeşidinin *Verticillium* solgunluğuna cevabını araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada; bitkilere doğal olarak bulaştırma yapılar, bulaşma vejetasyonunun ortasında ve sonunda olmak üzere 2 kez hastalık dereceleri belirlenmiştir. Hastalık derecesi Kinney'in indeksine göre belirlenmiştir. Ortalama olarak denemeye alınan çeşitlerin %35'i yüksek dayanıklı, %54'ü biraz hassas bulunmuştur.

Uslu (2004), *Verticillium* solgunluğu etmeni olan *V. dahliae* fungusuna dayanıklılık özelliğinin, bitki dokularında sentezlenen fitoaleksinin oluşumuyla bir ilgisinin olup olmadığını *in vitro* koşullarda belirlemek, böylece geniş ölçekli bir patlıcan genotipi havuzunda bu hastalığa dayanıklılık özelliği bakımından bir tarama ve seçim yapmaya yönelik etkili bir yöntem geliştirmeyi amaçlamıştır. Bu amaçla hastalığa duyarlı kültür çeşitlerinden Long purple ve dayanıklı *S. sisymbriifolium* yabancı türü, bitkisel materyal olarak kullanılmıştır. Her iki genotipe ait hipokotil eksplantlarından kallus elde edilebilmesi için en uygun besin ortamı bileşiminin 0.5 mg/l 2,4 D ve 0.1 mg/l kinetin ilave edilen MS ortamı olduğu belirlenmiştir. *V. dahliae*'nin otoklavlanmış spor süspansiyonlarından 1.0, 1.5, 2.0 ml veya araşidonik asitin 5 ve 10 mM dozları elisatör olarak kullanılmıştır. Elisatör uygulamasından 24, 48 ve 72 saat sonra uyarım işlemine son verilmiş ve örnekler derin dondurucuda saklanmıştır. Solavetivon, lubimin ve risitin fitoaleksininin standartlarının elde edilmesinde ince tabaka kromatografisi yöntemi kullanılarak uyarıcı uygulanmış patates yumrularından yararlanılmıştır. Dayanıklı türün kallus kültüründe solavetin miktarı, duyarlı çeşide göre yüksek bulunmakla birlikte; hastalığa dayanıklılık ile fitoaleksinin birikimi arasında doku kültürleri teknikleri kullanılarak yapılan bu çalışma sonuçlarına dayanarak bu ilişkinin varlığından söz edilememiştir. Tüm bitki ve meyvelerin kullanılacağı çalışmalarla bulguların desteklenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

### 2.3. MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma 2004-2006 yılları arasında Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Bitki Koruma Bölümü Laboratuvarı, İklim Odası ve Serasında gerçekleştirilmiştir.

#### 2.3.1. Materyal

Çalışma kapsamında yapılan denemelerde materyal olarak 2004 yılında yapılan patojenisite testinde Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsünden temin edilen izolatin elimize geç gelmesi ve PCR'da bakılacak zaman olmaması nedeniyle sadece izolatin verticillat dallanmasına bakıldıktan sonra denemede hemen kullanılmıştır. Bu izolat daha sonra PCR'da bakılmak üzere Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümüne gönderilmiştir. Fakat bir takım bulaşmalardan dolayı gönderdiğimiz izolatin *V. dahliae* olduğu kesin olarak tespit edilememiştir. Bunun üzerine 2005 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Seher Benlioğlu'ndan temin edilen ve patlıcandan izole edilen *V. dahliae* izolatu kullanılmıştır. Fungusun teşhisinin morfolojik özellikleri yanında PCR ile moleküler tekniklerden de yararlanılarak yapıldığı adı geçen Öğretim Üyesince belirtilmiştir.

Bitkisel materyal olarak ise Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2' de ayrıntılı bilgi verilen patlıcan çeşit ve hatları kullanılmıştır.



Çizelge 2.1. Çalışmada Bitkisel Materyal Olarak Kullanılan Çeşit ve Hatların Bitki Özellikleri

Hat No	Gövde tüylü lüğü Çok- orta- az	Gövde rengi Grimsi- yeşil-yeşil mor	Sürgün ucu rengi Grimsi- yeşil-yeşil mor	Yaprak rengi Açık yeşil- yeşil-koyu yeşil	Yaprak tüylülüğü Çok- orta- az	Tomurcuk dikenliliği Çok- orta- az
D-1	Orta	Mor	Yeşil	Yeşil	Az	Orta
D-2	Az	Yeşil	Yeşil	Koyu yeşil	Az	Çok
DK-1	Orta	Yeşil-mor	Yeşil-mor	Yeşil	Orta	Az
DK-2	Orta	Yeşil	Yeşil-mor	Yeşil	Orta	Az
DK-3	Az	Yeşil	Yeşil	Yeşil	Orta	Var
DK-4	Orta	Yeşil	Yeşil	Koyu yeşil	Orta	Az
DK-5	Orta	Grimsi	Yeşil	Yeşil	Çok	Yok
DK-6	Orta	Yeşil	Yeşil-mor	Yeşil	Az	Yok
K-1	Orta	Grimsi	Yeşil	Yeşil	Çok	Az
K-2	Çok	Grimsi	Yeşil	Yeşil	Orta	Orta
K-3	Az	Yeşil	Yeşil mor	Yeşil	Az	Az
K-4	Az	Yeşil	Yeşil	Yeşil	Az	Az
K-5	Az	Yeşil	Yeşil	Yeşil	Az	Az
K-6	Orta	Grimsi	Yeşil	Yeşil	Çok	Az
K-7	Az	Yeşil	Yeşil	Yeşil	Az	Az
K-8	Az	Yeşil	Yeşil mor	Yeşil	Az	Orta

Çizelge 2.2. Çalışmada Bitkisel Materyal Olarak Kullanılan Çeşit ve Hatların Meyve Özellikleri

Hat No	Çiçek rengi	Çiçek iriliği	Meyve şekli	Meyve rengi	Meyve uzunluğu	Meyve çapı	Ortalama Meyve ağırlığı
	Açık mor-mor-koyu mor	İri-orta-küçük	Uzun-orta-kısa-oval-armudi	Pembe-açık mor-mor-siyah	(cm)	(cm)	(g)
D-1	Beyaz	Küçük	Yuv. basık	Yeşil	2.7	4.5	16.3
D-2	Açık mor	Orta	Yuv.basık	Yeşil çizgili	2.7	2	6
DK-1	Mor	Orta	Uzun	Mor	19	5	165
DK-2	Açık mor	Orta	Uzun	Mor	25	5	181
DK-3	Koyu mor	Orta-	Uzun	Açık mor	30	4	119
DK-4	Mor	Orta-	Uzun	Mor-parlak	20	5	190
DK-5	Mor	Küçük	Oval	Beyaz	11	5	129
DK-6	Açık mor	Küçük	Uzun	Mor	20	5	180
K-1	Açık Mor	Orta	Uzun	Mor	24	4	209
K-2	Açık mor	İri	Oval	Mor	11	7	283
K-3	Açık mor	Orta	Oval	Açık mor	16	5	182
K-4	Açık mor	Orta	Uzun	Mor	16	4	166
K-5	Açık mor	Orta	Orta	Açık mor	24	4	180
K-6	Açık Mor	Orta	Uzun	Mor	24	4	205
K-7	Açık mor	Orta	Uzun	Mor	16	4	160
K-8	Açık mor	Orta	Oval	Açık mor	16	4	157

## 2.3.2. YÖNTEM

### 2.3.2.1. İzolatın Geliştirilmesi

Patojenisite testlerinde kullanılan izolat, PDA besiyerinde 25 °C'de 7-10 gün geliştirilmiştir.

### 2.3.2.2. İnokulumun Hazırlanması

İnokulumun hazırlanması amacıyla, 500 ml' lik süt şişelerine konulan nemlendirilmiş 120 gr ince elenmiş dere kumu otoklavda 1 atm. basınç altında ve 121 °C'de 20 dakika sterilize edilmiştir. Kumun üzerine 20 ml (200 g patatesin 1 litre suda haşlanması ile elde edilen) patates suyu, 30 gr mısır unu ilave edilerek 1 atm. basınç altında ve 121 °C'de 20 dakika tekrar sterilize edilmiştir. Patojenisite testlerinde kullanılan izolat, PDA besiyerinde 25 °C'de 7-10 gün geliştirilmiş ve bu

kolonilerden alınan 5 mm çapındaki 8 miselyum diski, şişelerdeki kum+ patates suyu+ Mısır unu kültürüne inokule edilmiştir (Uçkun 2001, Turhan ve Turhan 1989). İnokulasyon yapılan bu şişeler, 15 gün süreyle 25 °C'de 14 saat ışık ve 10 saat karanlık koşullarda inkubasyona bırakılmıştır.

### **2.3.2.3. Bitkilerin Yetiştirilmesi**

“D-1”, “D-2” “K-1”, “K-2”, “K-4”, “K-5”, “K-6”, “K-7”, “K-8” “DK-1”, “DK-2”, “DK-3”, “DK-4”, “DK-5” ve “DK-6”, çeşit ve hatları Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Sebzeçilik Bölümü yastıklarında 10'luk saksılara 6/10'ü tam yanmış gübre, 3/10'u toprak, 1/10'u kumdan oluşan harca ekimi yapılmıştır. Harç 90 °C -100 °C' de buharla 45 dk- 60 dk sterilize edilmiştir. Bitkilerin gerekli kültürel bakım işlemleri yapılarak, sağlıklı olarak yetiştirilmesi sağlanmıştır.

### **2.3.2.4. Patojenisite Testi**

Patojenisite testi 2004-2005 yıllarında toplanan patlıcan materyallerinin dayanıklılık/ toleranlığının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. 2006 yılında ise dayanıklı/tolerant hatlar ile kültür çeşitlerinin melezlenmesi sonucu elde edilen materyalin kendilenme aşamasından sonra dayanıklılık/ toleranlığın aktarılıp aktarılmadığını kontrol etmek amacıyla yapılmıştır. Patojenisite testinin yapılacağı ve önceden 90 °C -100 °C' de buharla 45 - 60 dk sterilize edilmiş saksı toprağına yukarıda anlatılan süt şişelerine hazırlanan inokulumlar % 5 oranında (1/19) karıştırılarak patojenle bulaşık topraklar elde edilmiştir (Turhan ve Turhan 1989).

Yapay toprak inokulasyonu gerçekleştirildikten sonra saksılar, fungusların toprağına adaptasyonu amacıyla 4 gün 25 °C'de bırakılmış ve bu süre sonunda önceden ekim yapıp pişkin fide aşamasına gelen fideler, kök budaması yapılarak bu saksıların (saksı başına 1 fide) içersine dikilmiştir. Denemeler, her saksı bir tekerrür kabul edilerek 10 tekerrürlü tesadüf parselleri deneme deseninde Bitki Koruma Bölümü Serasında yürütülmüştür.

### 2.3.2.5. Hastalık Şiddetlerinin Belirlenmesi

Çalışmada yapraklardaki sararma üzerinden hastalık şiddeti tespit edilmiştir. Değerlendirmeler dikimden 4 ay sonra 0-5 skalasına göre yapılmıştır (Acciarri ve ark. 2001, Debode ve ark. 2005, Uslu 2004).

Çizelge 2.3. Patlıcanda *V. dahliae* Hastalık Şiddetinin Belirlenmesinde Kullanılan Skala

Skala Değeri	Bitki Adedi	Hastalık Şiddetinin Tanımı	Dayanıklılık/ Tolerantlığın Derecesi
0		Yaprakların tümü yeşil	Çok Dayanıklı
(20) 1		Yaprakların %30'u sarı	Dayanıklı
(40) 2		Yaprakların %50'si sarı	Orta Dayanıklı
(60) 3		Yaprakların %50-70 sarı	Orta Hassas
(80) 4		Yaprakların sadece tepede 1-2 tanesi yeşil	Hassas
(100) 5		Tüm yapraklar sarı	Çok Hassas

Elde edilen ham veriler aşağıdaki Townsend –Heuberger formülü uygulanarak hastalık şiddeti % olarak belirlenmiştir (Karman 1971).

$$\% \text{ Hastalık Şiddeti} = \frac{\sum \text{Skala değeri} \times \text{Skaladaki örnek adedi}}{\text{Toplam örnek adedi} \times \text{En yüksek sınıf değeri}} \times 100$$

**2.3.2.6. Gövde Değerlendirmesi:** Hastalık şiddetinin tespitinde kök boğazından itibaren 5-10-15 cm mesafelerden kesit alınarak, damarlarda renk değişimine göre oluşturulan 0-3 skalasına göre değerlendirme yapılmıştır (0; damarlarda hiç renk değişimi yok, 1; çok hafif renk değişimi, 2; Orta şiddette renk değişimi, 3; çok belirgin renk değişimi).

### 2.3.2.7. Reizolasyon

Patojenisite testi sonucunda hastalıklı bitkilerin gövdesinde topraktan itibaren 5-10-15 cm olmak üzere 3 farklı bölgesinden kesitler alınmış ve bu kesitler 1.5-2 dakika süreyle % 0.5'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) içerisinde tutularak yüzeysel dezenfeksiyonları yapılarak 2 kez steril su ile yıkanmış ve steril kurutma kağıtları arasında kurutulmuştur. Kurutulan bu parçalar her bir petriye 5 adet olacak şekilde PDA besiyerine yerleştirilerek 25 °C'de inkubasyona bırakılmıştır ve 20-25 gün sonra bunlardan tekrar hastalık etmeni izole edilmiştir.

### 2.3.2.8. DNA İzolasyonu ve Primer Seçimi

“D-1”, “D-2”, “K-1”, “K-2”, “K-3”, “K-4”, “K-5”, “K-6”, “K-7”, “K-8”, “DK-1”, “DK-2”, “DK-3”, “DK-4”, “DK-5”, “DK-6” çeşit ve hatlarından 1 g yaş doku örneği alınarak ve ependorf tüplere konarak numaralandırılmıştır. Dokular bitkinin en taze yerlerinden alınarak tüplerin içersine konularak ve sıvı azota atılmıştır. Örnekler (0,1g) havan içinde sıvı azot ile fazla güç kullanmaya gerek olmadan havan içerisinde eziciyi yumuşak şekilde havan tabanından kaldırmadan saat veya tersi yönünde çevirerek açık yeşil renkli toz hale gelecek şekilde parçalanmıştır. Üzerine 400 µl of buffer AP1 ve 4µl RNase stok solüsyonlardan ilave edilmiş ve bunlar güçlü şekilde vortexlenmiştir. Örnekler sıcak su banyosuna konduktan sonra 10 dakika 65 C<sup>0</sup> de sıcak suda bekletilmiş ve arada 2-3 kez karıştırılmıştır. Sıcak sudan çıkan tüplere 130µl AP 2 bufferden ilave edilmiş, karıştırılmış ve 5 dakika buzda bekletilmiştir. Ardından 5 dakika 14 000 rpm de santrifuj edilmiştir. Santrifujdan sonra saydam kısmı QIA shredder mini spn Column tüplere aktarmış, 14 000 rpm de 1 dakika santrifuj yapılmıştır. Tüpün alt tarafında koyu renkli kısım, üst tarafında tüpte ise saydam DNA içeren kısım kalmıştır. Saydam üst kesim yeni bir tüpe aktarılmış ve aktarılan kısmın hacminin 1,5 katı AP3/E buffer ilave edilip alt üst (mix) yaptıktan sonra mixin içinden 650 µl alıp beyaz filtreli tüpe doldurulmuştur. 8.000 rpm de 1 dakika santrifug yapılmıştır. 650 µl aldığımız tüpte kalan kısımda alıp tekrar santrifuj edilip üstteki saydam kısmı alınmış, tüplere 500µl Aw buffer kondu ve 8.000 rpm de 1dakika santrifuj edilmiştir. Tüplere 100 µl 65 C<sup>0</sup> de beklettiğimiz AE Bufferi ilave edilmiş, tekrar 8.000 rpm de 1 dakika santrifuj edilmiş ve altta biriken berrak kısmı alıp

kullanıncaya kadar -20 C° de muhafaza edilmiş, beyaz tüplerin filtre kısmında kalan DNA larıda çıkarmak için 75 µl AE buffer dan tekrar konarak ve aynı santrifüj işlemi (8.000 rpm de 1 dakika) tekrarlanmıştır. Tüplerin altında biriken DNA larda 2. DNA olarak -20 C de saklanmış, 5 µl DNA lardan + 5 µ saf sudan + 2 µl loading dye alıp bir tüpe konmuş ve bunlar karışması için alt üst edilmiş daha sonra kısa süre santrifüj edilmiş, bunlara agaroz jel hazırlanarak jele yüklenmiştir. Elde ettiğimiz DNA örneklerinden boş bir eppendorf tüpe 5 µl DNA ve 495 µl saf su olacak şekilde konarak 1/100 oranında seyreltme yapılmış, yani spektrofotometre ile ölçüm öncesi örnekler hazırlanmış, Beckman DU 530 life Science UV/VIS marka spektrofotometre ile µl/ml veya ng/µl cinsinden DNA yoğunluk değerlerine bakılmıştır, 30 adet primer METİS firmasından temin edilmiş ve bunlardan sadece 10 adedi çalışmıştır (Çizelge 2.4).

#### **2.3.2.9. PCR Uygulamaları**

PCR reaksiyonunda 2xPCR master mix (Roche) kullanılmıştır. Master mix içersinde 0.05 units/ µl Taq polimeraz, 4mM MgCl<sub>2</sub>, 0.4 mM dNTP bulunmaktadır. 20µM primer, 10 ng/ µl DNA ve dH<sub>2</sub>O kullanılarak PCR tüpleri hazırlanmıştır. DNA amplifikasyonu için örnekler 35'er devir olacak şekilde 95 °C'de 5 dakika, 94 °C' de 30 saniye, 35 °C' de 30 saniye, 72 °C' de 1 dakika ve 72 °C' de 5 dakika tutulmuşlardır.

#### **2.3.2.10. Agaroz jel elektroforezi**

RAPD-PCR tekniği ile elde edilen amplifikasyon ürünleri %1.5'luk agaroz jelde (%1.5 agaroz + Seakem LE agarose) elektroforezinde 1x TBE tampon çözeltisi içersinde 100 V'da 4 saat koşturulduktan sonra, ethidium bromide ile boyanmış ve UV altında gel görüntüleme programı (Kodak) ile 10 adet bireyde, farklı primerlerin kullanılması ile elde edilen amplifikasyon ürünleri (bantlar) üzerinde polimorfizm araştırılmıştır. Araştırmada kullanılan bu primerlerin adı, baz dizileri ve erime noktası Çizelge 2.4'de verilmiştir.

Çizelge 2.4. RAPD analizinde kullanılan primerlerin baz dizisi

Primer	Baz Dizisi 5'3'	Erime Noktası°C		Baz Dizisi 5'3'	Erime Noktası °C
13001	CAGCACCCAC	31.4	13016	TCGGCGATAG	27.3
13002	TTCCGAACCC	27.3	13017	AGCCAGCGAA	27.3
13003	AGGTGACCGT	27.3	13018	GACCGCTTGT	27.3
13004	GTTGCGATCC	27.3	13019	CAAACGTCGG	27.3
13005	CAGGCCCTTC	31.4	13020	TCTGTGCTGG	27.3
13006	AGTCAGCCAC	27.3	13021	TGATCCCTGG	27.3
13007	GGTCCCTGAC	31.4	13023	GGTGACGCAG	31.4
13008	GTGACGTAGG	27.3	13024	TGGGGGACTC	31.4
13009	TGCCGAGCTG	31.4	13025	CCTTGACGCA	27.3
13010	AATCGGGCTG	27.3	13026	TCCGCTCTGG	31.4
13011	AGGGGTCTTG	27.3	13027	AGGAACGAG	27.3
13012	GAAACGGGTG	27.3	13028	ACCCCCGAAG	27.3
13013	GGTAACGCC	31.4	13029	GTTTCGCTCC	27.3
13014	GTGATCGCAG	27.3	13030	CATCCCCCTG	27.3
13015	CAATCGCCGT	27.3			

### 2.3.2.11. İstatistiki Değerlendirme

Elde edilen ham veriler hastalıklı yaprak yüzdesi ve Townsend –Heuberger formülü uygulanarak % hastalık şiddeti şeklinde değerlendirilmiştir. Elde edilen değerlerin varyans analizi 0.05 önemlilik seviyesinde, gruplandırmalar ise Duncan testi ile yapılmıştır. İstatistiki hesaplamalar temel bazı deneme tekniği kitaplarından (Bora ve Karaca 1970, Karman 1971) ve hazır bilgisayar programlarından (SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 13.0 for Windows) yararlanılarak yapılmıştır.

## 2.4. BULGULAR

### 2.4.1. *Verticillium dahliae* İzolatının Bitkiler Üzerindeki Etkisi

İnokulumun hazırlanması aşamasında diğer tarafta patojenisite testi için gerekli fideler yetiştirilerek aşağıdaki Şekil 2.3 de görüldüğü gibi dikimler gerçekleştirilmiştir. Patojenisite testinin ilk iki ayında tüm hatlarda hiçbir solgunluk belirtisi görülmemiştir.



Şekil 2.3. Patojenisite testinde fide dikiminden kısa süre sonra bitkilerin görünümü

Fakat ikinci aydan sonra bitkilerde öncelikle “K-1” ve “K-2” çeşitlerinde sararma ve solgunluk başlamıştır.

Üçüncü aydan itibaren “DK-1”, “DK-2”, “DK-3”, “DK-4”, “DK-6” hatlarında aynı belirtiler gözlenmeye başlanmıştır.





Şekil 2.4. Yapraktaki sararma ve solgunluk belirtilerinden görünüm.



Şekil 2.5. Patojenisite testinde üçüncü aydan itibaren “DK-1”, “DK-2”, “DK-3”, “DK-4”, “DK-6” çeşitlerinde izlenen sararma ve solgunluk belirtilerinden görünüm

Bunun yanı sıra yukarıda bahsi geçen hatlardaki belirtilerin tespit edildiği zamanlarda “D-1” ve “D-2” nolu hatlarda sararma ve solgunluk şeklinde hiçbir belirti tespit edilmemiştir.



Şekil 2.6. Patojenisite testinde üçüncü ayda “D-2” çeşidinden görünüm

#### **2.4.1.1. 2004 Yılına Ait Deneme Sonuçları (Dayanıklı ve Kültür Çeşitlerinin *Verticillium dahliae* izolatı ile Testlenmesi)**

Patojenisite testi Bitki Koruma Bölümü Serasında kurulduktan dört ay sonra yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak sayım yapılmıştır ve elde edilen ham veriler hastalıklı yaprak yüzdesi ve Townsend –Heuberger formülü uygulanarak % hastalık şiddeti şeklinde değerlendirilmiştir. Sonuçta kültür çeşitlerinde hastalık yüzdesi “K-1” : %88, “K-2” : %70, “K-3” : %88, “K-4” : %74, “K-5” : %76, “K-6” : %84, “K-7” : %84, “K-8” : %96 oranında tespit edilirken, dayanıklı kültür olarak elde ettiğimiz çeşitlerde hastalık yüzdesi “DK-1” : %96, “DK-2” : %70, “DK-3” : %78, “DK-4” : %74, “DK-5” : %38, “DK-6” : %86 oranında belirlenmiştir. Dayanıklı olan ve Dünya’da yapılan bir çok çalışma ile de kanıtlanmış ve tüm çalışmalarda dayanıklı hat olarak kullanılan ve bizim çalışmada da bu amaçla kullanılmış olan iki dayanıklı hatta ise hastalık oranı “D-1” : %3, “D-2” : %10 oldukça düşük tespit edilmiştir. 2004 yılı sonuçları istatistiki olarak kendi içerisinde değerlendirildiğinde hastalık yüzdesi bakımından hatların arasındaki fark önemsiz çıkmıştır. Dayanıklı kültür çeşitlerine kendi içerisinde bakıldığında en yüksek sararma ve solgunluk yüzdesini “DK-1” hattı %96 değeri ile gösterirken en düşük sararma ve solgunluk yüzdesini “DK-5”

hattı % 38 değeri ile göstermiştir, ki bu hat tüm hatların içersinde en düşük sararma ve solgunluk derecesini vermiştir. Tüm hatların sonuçları Çizelge 2.5 de görülmektedir.

Çizelge 2.5. 2004 Yılı Patlıcan Genitörlerinin *Verticillium dahliae* Hastalık Şiddetleri

Hastalığın Şiddeti	Bitki Adedi	Dayanıklılık/ Toleranlığın Derecesi
0	2	Çok Dayanıklı (D-1,D-2)
(20) 1		Dayanıklı
(40) 2	1	Orta Dayanıklı (DK-5)
(60) 3		Orta Hassas
(80) 4	6	Hassas (K-2, K-4, K-5, DK-2, DK-3, DK-4)
(100) 5	7	Çok Hassas (K-1, K-3, K-6, K-7, K-8, DK-1, DK-6)

Çizelge 2.5. deki sonuçlara göre iki hat çok dayanıklı olarak belirlenirken, bir hattın orta dayanıklı olduğu, altı hattın hassas ve yedi hattın ise çok hassas olduğu tespit edilmiştir. Buradan genel olarak kültür çeşitlerinden beş hattın (“K-1”, “K-3”, “K-6”, “K-7”, “K-8”) çok hassas sınıfa girdiği, bunun yanı sıra üç hattın ise (“K-2”, “K-4”, “K-5”) hassas sınıfa girdiği görülmektedir. Dayanıklı kültür çeşitlerinde ise iki hattın (“DK-1”, “DK-6”) çok hassas sınıfa girer iken, üç hattın ise (“DK-2”, “DK-3”, “DK-4”) hassas sınıfa girdiği tespit edilmiştir. Eldeki dayanıklı iki hattın (“D-1”, “D-2”) ikisinde çok dayanıklı sınıfa dahil oldukları belirlenmiştir. Çizelge 2.5 deki sonuçlar yıl ve dayanıklılık faktör olarak alınarak tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuştur. Sonuç olarak yılın önemsiz olduğu tespit edilirken, kültür ile dayanıklı kültür arasındaki fark önemli bulunmuştur. Tüm kültür çeşitlerinin dayanıklı kültür çeşitleri ile arasında farka tek varyans analizi ile baktığımızda “K-1”, “K-2”, “K-3”, “K-4”, “K-5”, “K-6”, “K-7”, “K-8” kültür çeşitlerinin hepsinde yalnızca “D-1”, “D-2” ve “DK-5” hatları ile aralarındaki fark önemli çıkmıştır. “DK-5” ile “D-1” arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunurken “DK-5” ile “D-2” arasındaki farkın önemsiz olduğu tespit edilmiştir (Ek-1).

#### 2.4.1.2. 2004 Yılında Dayanıklı ve Kültür Çeşitlerinin *Verticillium dahliae* izolatı ile Testleme Sonunda Yapılan Gövde Değerlendirmesi

Hastalık şiddetinin tespitinde kök boğazından itibaren 5-10-15 cm mesafelerden kesit alınarak yapılan gövde değerlendirmesinde 0-3 skalasına göre Çizelge 2.6'de verilen sonuçlar tespit edilmiştir.

Çizelge 2.6. 2004 Yılı Gövde Değerlendirme Sonuçları

Çeşit	1. Kesit (5 cm)	2.Kesit (10 cm)	3. Kesit (15cm)
D-1	0	0	0
D-2	0	0	0
DK-1	2	1	1
DK-2	1	0	2
DK-3	0	1	2
DK-4	0	1	1
DK-5	2	2	3
DK-6	1	1	0
K-1	2	3	2
K-2	3	3	3
K-3	3	1	1
K-4	1	2	1
K-5	1	1	2
K-6	1	1	2
K-7	3	2	1
K-8	3	3	2

2004 yılında uygulanan gövde değerlendirmesinde yabancı dayanıklı çeşitlerde gövdede, damarlarda hastalıkla ilgili herhangi bir belirtiyeye rastlanmamıştır. Zaten bu çeşitler yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda da çok dayanıklı olarak belirlenmiştir. Dayanıklı kültür çeşitlerinde gövdede damarlarda farklı seviyelerde renk değişimlerine rastlanmıştır. Dayanıklı kültür çeşitlerinin içersinde damarlarda renk değişim seviyesi en yüksek çeşit “DK-5” çeşididir. Bu çeşit yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda en düşük sararma ve solgunluk yüzdesini “DK-5” hattı % 38 değeri ile göstermiştir. Bu durumda bu çeşit için; *Verticillium dahliae* hastalığına karşı belli seviyede bir dayanım gösterdiği düşünülebilir, çünkü bitkinin damarlarında bu

hastalığın belirtilerine yüksek (2-2-3) seviyede rastlanır iken, aynı çeşidin yapraklarında yapılan sayım sonucu solgunluk yüzdesi % 38 olarak tespit edilmiştir. Burada genel olarak kültür çeşitlerinde renk değişim seviyesinin biraz daha şiddetli seviyede olduğu tespit edilmiştir. Özellikle “K-1”, “K-2”, “K-8” çeşitlerinde bu şiddet kültür çeşitleri içerisinde de diğerlerine göre biraz daha yüksek bulunmuştur. Bu çeşitlerin yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda sararma ve solgunluk yüzdesi sırasıyla “K-1”: %88, “K-2”: %70, “K-8”:%96 olarak tespit edilirken, Çizelge 2.6’de patlıcan genitörlerinin *V. dahliae* hastalık şiddet oranlarına göre “K-1” ve “K-8” çeşitleri çok hassas sınıfa girerken, “K-2” çeşidi ise hassas sınıfta yer almıştır. Bu durumda “K-2” çeşidi gövdedeki tüm çeşitlerin içerisinde en yüksek seviyede hastalık şiddetini göstermesine rağmen yapraklardaki sayımda sararma ve solgunluk ölçümlerinde yüzde değerinin düşük olması bu çeşidin hastalığa karşı belli miktar tolerant olduğunu göstermektedir.

2004 yılında bitki gövdesinin farklı seviyelerinden alınan kesitlerde yapılan değerlendirme sonucunda kesitler arasında fark görülmemiştir. Dolayısıyla bitkinin gövdesinde hastalığın şiddeti konusunda seviyeden kaynaklanan farklar gözlenmemiştir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. 2004 yılında gövde değerlendirmesi dayanıklı ve kültür çeşitlerinin *V. dahliae* izolatı ile testleme sonunda yapılan gövde değerlendirmesinden görünüm

#### 2.4.1.3. 2004 Yılında Dayanıklı ve Kültür Çeşitlerinin *Verticillium dahliae* izolatı ile Testleme Sonunda Yapılan Reizolasyon

Patojenisite testi sonucunda hastalıklı bitkilerin gövdesinde topraktan itibaren 5-10-15 cm olmak üzere 3 farklı bölgesinden kesitler alınarak PDA besiyerine her petride 5 disk olacak şekilde yerleştirilerek 20-25 gün sonra hatlardan tekrar hastalık etmeni izole etme oranları Çizelge 2. 7'de verilmiştir. Reizolasyon elde mevcut bulunan tüm çeşit ve hatlara uygulanmıştır bu işleme hatların tepkisi farklı olmakla birlikte hastalık etmeninin tekrar izole edilemediği hiçbir hat olmamıştır. Tüm hatlardan hastalık etmeni geri izole edilmiştir.

Çizelge 2.7. 2004 Yılı Reizolasyon Sonuçları

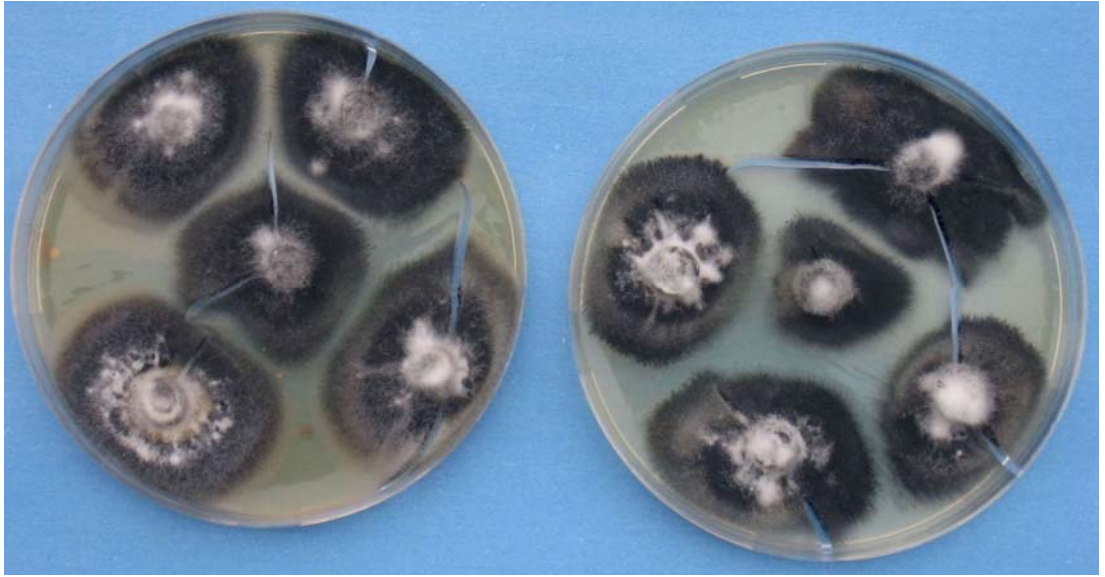
Çeşit	1. Petri (5 cm)	2.Petri (10 cm)	3. Petri (15cm)
D-1	1/5	0/5	0/5
D-2	0/5	1/5	0/5
DK-1	5/5	2/5	3/5
DK-2	3/5	2/5	4/5
DK-3	5/5	4/5	4/5
DK-4	1/5	5/5	4/5
DK-5	0/5	1/5	0/5
DK-6	5/5	5/5	5/5
K-1	5/5	2/5	5/5
K-2	1/5	4/5	4/5
K-3	3/5	5/5	1/5
K-4	4/5	3/5	3/5
K-5	2/5	5/5	4/5
K-6	2/5	1/5	1/5
K-7	2/5	1/5	3/5
K-8	1/5	2/5	5/5

Çizelge 2.7’deki sonuçlara göre her bir çeşide toplamda bakıldığında dayanıklı hatların her ikisinde de 1/15 yani; 15 kesitten sadece 1 tanesinden hastalık geri alınmıştır. Bu çeşitlerde yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda “D-1” ve “D-2” yabancı çeşitleri çok dayanıklı sınıfta bulunmaktadır. Dayanıklı kültür çeşitlerinden hastalığın geri alınma oranı “DK-1”: 10/15, “DK-2”: 9/15, “DK-3”: 13/15, “DK-4”: 10/15, “DK-5”: 1/15 ve “DK-6”: 15/15’tir. Dayanıklı kültürlerin içersinde reizolasyon oranı en düşük çeşit DK-5 iken, en yüksek çeşit “DK-6” dır. Bu çeşitlerde yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda “DK-5” çeşidi orta dayanıklı sınıfta, “DK-2”, “DK-3”, “DK-4” çeşitleri hassas sınıfta bulunurken, “DK-1” ve “DK-6” çeşitleri ise çok hassas sınıfta bulunmaktadır. Görüldüğü gibi hassas ve çok hassas sınıfta bulunan bitkilerde hastalık şiddeti yüksek olduğu için bu bitkilerden alınan kesitlerde reizolasyon yüzdesi de yüksek olmaktadır.

Kültür çeşitlerinden hastalığın geri alınma oranı “K-1”: 12/15, “K-2”: 9/15, “K-3”: 9/15, “K-4”: 10/15, “K-5”: 11/15, “K-6”: 4/15, “K-7”: 6/15 ve “K-8”: 8/15’tir.



Dayanıklı kültürlerin içersinde reizolasyon oranı en yüksek çeşit “K-5” tir. Bu çeşit yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda hassas sınıfa girmiştir ve gövde izolasyonunda hastalık şiddeti düşüktür (1-1-2). “K-5”ten başka diğer kültür çeşitleri yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda “K-2”, “K-4” çeşitleri hassas, “K-1”, “K-3”, “K-6”, “K-7”, “K-8” çeşitleri ise çok hassas sınıfta yer almaktadır. Hassas sınıf veya çok hassas sınıfta yer alanlar arasında hastalığın reizolasyon yüzdesine bakıldığında çok önemli farkın olmadığı dikkati çekmektedir.



Şekil 2.8. 2004 Yılı reizolasyon sonucunda petripleri saran *Verticillium dahliae* fungusundan görünüm

#### 2.4.1.4. 2005 Yılına Ait Deneme Sonuçları (Dayanıklı ve Kültür Çeşitlerinin *Verticillium dahliae* izolatı ile Testlenmesi)

Patojenisite testi 2005 yılında da yine aynı Bitki Koruma Bölümü Serasında kurulmuştur ve dört ay sonra yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak sayım yapılmıştır ve elde edilen ham veriler hastalıklı yaprak yüzdesi ve Townsend –Heuberger formülü uygulanarak % hastalık şiddeti şeklinde değerlendirilmiştir. Sonuçta kültür çeşitlerinde hastalık yüzdesi “K-1” : %86, “K-2” : %83, “K-3” : %87, “K-4” : %80, “K-5” : %85, “K-6” : %76, “K-7” : %74, “K-8” : %82 oranında tespit edilirken, dayanıklı kültür olarak elde ettiğimiz hatlarda

hastalık yüzdesi “DK-1”:%88, “DK-2”:%78, “DK-3”:%78, “DK-4”:%80, “DK-5”:%36, “DK-6”:%80 oranında belirlenmiştir. 2005 yılında da yine “D-1”:%3, “D-2”:%9 oranı oldukça düşük tespit edilmiştir. 2005 yılı sonuçları istatistiki olarak kendi içersinde değerlendirildiğinde aralarındaki fark önemsiz çıkmıştır. Dayanıklı kültür çeşitlerine kendi içersinde bakıldığında en yüksek sararma ve solgunluk yüzdesini “DK-1” hattı %88 değeri ile gösterir iken, en düşük sararma ve solgunluk yüzdesini “DK-5” hattı %36 değeri ile göstermiştir, ki bu hat 2005 yılında da tüm hatların içersinde en düşük sararma ve solgunluk derecesini vermiştir. Tüm hatların sonuçları Çizelge 2.8’de görülmektedir.

Çizelge 2.8. 2005 Yılı Patlıcan Genitörlerinin *Verticillium dahliae* Hastalık Şiddetleri

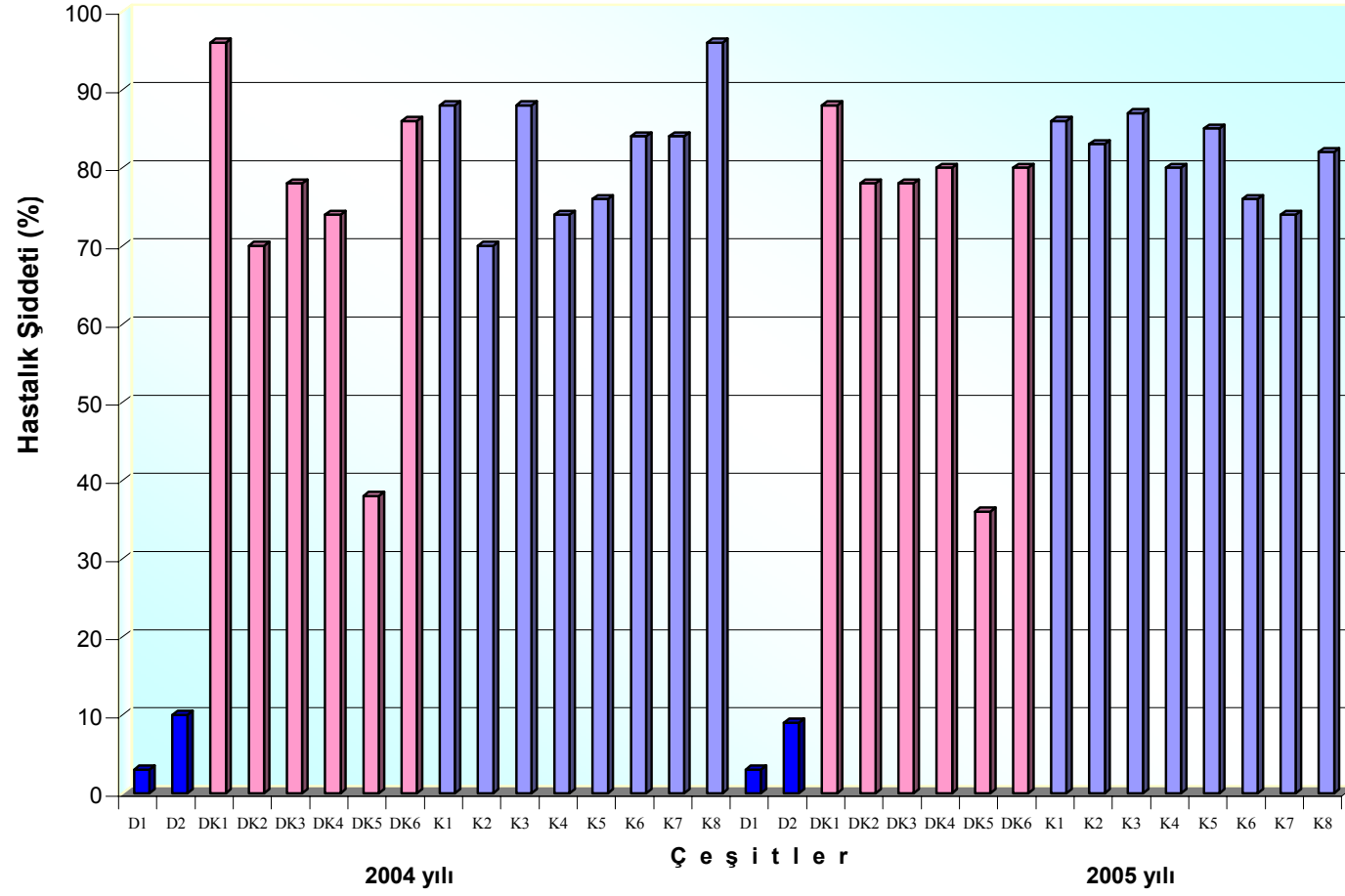
Hastalığın Şiddeti	Bitki Adedi	Dayanıklılık/ Toleranlığın Derecesi
0	2	Çok Dayanıklı (D-1,D-2)
(20) 1		Dayanıklı
(40) 2	1	Orta Dayanıklı (DK-5)
(60) 3		Orta Hassas
(80) 4	7	Hassas ( K-4, K-6, K-7, DK-2, DK-3, DK-4, DK-6)
(100) 5	6	Çok Hassas (K-1, K-2, K-3, K-5, K-8, DK-1)

Buradan genel olarak kültür çeşitlerinden beş hattın (“K-1”, “K-2”, “K-3”, “K-5”, “K-8”) çok hassas sınıfa girdiği, bunun yanı sıra üç hattın ise (“K-4”, “K-6”, “K-7”) hassas sınıfa girdiği görülmektedir. Dayanıklı kültür çeşitlerinde ise sadece bir hat (“DK-1”) çok hassas sınıfa girer iken, dört hattın ise (“DK-2”, “DK-3”, “DK-4”, “DK-6”) hassas sınıfa girdiği tespit edilmiştir. Eldeki dayanıklı iki hattın (“D-1”, “D-2”) ikisinin de çok dayanıklı sınıfa dahil oldukları belirlenmiştir. Çizelge2.8’deki sonuçlar yıl ve dayanıklılık faktör olarak alınarak tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuştur. Sonuç olarak yılın önemsiz olduğu tespit edilirken, kültür ile dayanıklı kültür arasındaki fark önemli bulunmuştur. Tüm kültür çeşitlerinin dayanıklı kültür çeşitleri ile arasında farka tek tek varyans analizi ile baktığımızda “K-1”, “K-2”, “K-3”, “K-4”, “K-5”, “K-6”, “K-7”, “K-8” kültür çeşitlerinin hepsinde yalnızca “D-1”, “D-2” ve “DK-5” hatları ile aralarındaki fark önemli çıkmıştır. “DK-5” ile “D-1” arasındaki fark

istatistiki açıdan önemli bulunurken “DK-5” ıla “D-2” arasındaki farkın önemsiz olduğu tespit edilmiştir.

2004 ve 2005 yılları arasındaki farkın istatistiki açıdan önemsiz olduğu tespit edilmiştir ve Şekil 2.9’da da 2004 ve 2005 yılları arasında dayanıklı hatlar, dayanıklı kültür ve kültür çeşitlerinin patojenisite testi sonunda hastalık şiddet oranları kendi arasında incelendiğinde, iki yılda da sonuçların paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Şekil 2.9. 2004 ve 2005 Yılları Patlıcan Genitörlerinin *V. dahliae* Hastalık Şiddetleri



#### 2.4.1.5. 2005 Yılında Dayanıklı ve Kültür Çeşitlerinin *Verticillium dahliae* izolatı ile Testleme Sonunda Yapılan Gövde Değerlendirmesi

Hastalık şiddetinin tespitinde kök boğazından itibaren 5-10-15 cm mesafelerden kesit alınarak yapılan gövde değerlendirmesinde 0-3 skalasına göre Çizelge 2.9’da verilen sonuçlar tespit edilmiştir.

Çizelge 2.9. 2005 Yılı Gövde Değerlendirmesi Sonuçları

Çeşit	1. Kesit (5 cm)	2. Kesit (10 cm)	3. Kesit (15 cm)
D-1	0	0	1
D-2	1	0	0
DK-1	3	3	2
DK-2	2	3	3
DK-3	3	3	3
DK-4	3	3	3
DK-5	2	2	2
DK-6	3	3	3
K-1	2	3	3
K-2	3	3	2
K-3	3	3	3
K-4	3	3	2
K-5	3	2	1
K-6	3	3	2
K-7	3	2	3
K-8	3	3	3

2005 yılında uygulanan gövde değerlendirmesinde yabancı dayanıklı çeşitlerin her ikisinde de gövdenin farklı seviyelerinde sadece birer kesitlerinde çok hafif renk değişimi tespit edilmiştir. Bu çeşitlerin yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda çok dayanıklı sınıfına girdiği belirlenmiştir. Dayanıklı kültür çeşitlerinde gövdede damarlarda farklı seviyelerde renk değişimlerine rastlanmıştır. Dayanıklı kültür çeşitlerinin içersinde damarlarda renk değişim seviyesi en yüksek çeşitler “DK-3”, “DK-4” ve “DK-6” çeşitleridir. Bu çeşitlerin yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda sararma ve solgunluk yüzdeleri “DK-3”:%78, “DK-4” ve “DK-6” çeşitlerinin her ikisinin de %80 olarak tespit edilmiş, bu üç çeşitte hassas sınıfa girmiştir. 2005 yılında yapılan gövde değerlendirmesi sonucunda dayanıklı kültür çeşitleri ile kültür çeşitleri arasında gövdedeki renk değişim seviyesinde önemli farkın olmadığı gözlenmiştir.

Kültür çeşitlerini kendi içersinde değerlendirdiğimizde “K-3” ve “K-8” çeşitlerinde damarlardaki renk değişimleri diğerlerine göre biraz daha yüksek bulunmuştur. Bu çeşitlerin yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda sararma ve solgunluk yüzdesi sırasıyla “K-3”: %87 ve “K-8”:%82 olarak tespit edilirken, Çizelge 2.9’da patlıcan genitörlerinin *V. dahliae* hastalık şiddet oranlarına göre “K-3” ve “K-8” çeşitleri çok hassas sınıfta yer almıştır.

2005 yılında bitki gövdesinin farklı seviyelerinden alınan kesitlerde yapılan değerlendirme sonucunda farklı seviyelerin kesitleri arasında fark görülmemiştir. Dolayısıyla bitkinin gövdesinde hastalığın şiddeti konusunda seviyeden kaynaklanan farklar gözlenmemiştir.

#### 2.4.1.6. 2005 Yılında Dayanıklı ve Kültür Çeşitlerinin *Verticillium dahliae* izolatı ile Testleme Sonunda Yapılan Reizolasyon

Patojenisite testi sonucunda hastalıklı bitkilerin gövdesinde topraktan itibaren 5-10-15 cm olmak üzere 3 farklı bölgesinden kesitler alınarak PDA besiyerine her petride 5 disk olacak şekilde yerleştirilerek 20-25 gün sonra hatlardan tekrar hastalık etmeni izole etme oranları Çizelge 2.10’da verilmiştir.

Çizelge 2.10. 2005 Yılı Reizolasyon Sonuçları

Çeşit	1. Petri (5 cm)	2.Petri (10 cm)	3. Petri (15 cm)
D-1	0/5	4/5	5/5
D-2	2/5	4/5	3/5
DK-1	4/5	3/5	4/5
DK-2	4/5	4/5	0/5
DK-3	4/5	1/5	5/5
DK-4	1/5	4/5	3/5
DK-5	5/5	3/5	2/5
DK-6	2/5	4/5	4/5
K-1	3/5	1/5	4/5
K-2	2/5	0/5	1/5
K-3	3/5	3/5	2/5
K-4	1/5	4/5	5/5
K-5	5/5	2/5	2/5
K-6	0/5	3/5	4/5
K-7	1/5	5/5	5/5
K-8	2/5	5/5	5/5

Reizolasyon elde mevcut bulunan tüm çeşit ve hatlara uygulanmıştır ve sonuçta tümünden hastalık tekrar geri elde edilebilmiştir. Her bir çeşide toplamda bakıldığında dayanıklı hatlarda da 2005 yılında reizolasyon oranı yüksek olmuştur, dayanıklı çeşitlerin her ikisinde (“D-1”, “D-2”) toplam oran 9/15 tir, yani; 15 kesitten 9 tanesinden hastalık geri alınmıştır. Dayanıklı kültür çeşitlerinden hastalığın geri alınma oranı “DK-1”: 11/15, “DK-2”: 8/15, “DK-3”: 10/15, “DK-4”: 8/15, “DK-5”: 10/15 ve “DK-6”: 10/15’tir. Dayanıklı kültürlerin içersinde reizolasyon oranı en yüksek çeşit “DK-1” dir. Bu çeşitlerde yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda “DK-5” çeşidi orta dayanıklı sınıfta, “DK-2”, “DK-3”, “DK-4”, “DK-6” çeşitleri hassas sınıfta bulunurken, “DK-1”çeşidi ise çok hassas sınıfta bulunmaktadır. Görüldüğü gibi çok hassas sınıfta bulunan “DK-1” çeşidinde hastalık şiddeti yüksek olduğu için bu bitkiye ait kesitlerden reizolasyon yüzdesi de yüksek olmaktadır.

Kültür çeşitlerinden hastalığın geri alınma oranı “K-1”: 8/15, “K-2”: 3/15, “K-3”: 8/15, “K-4”: 10/15, “K-5”: 9/15, “K-6”: 7/15, “K-7”: 11/15 ve “K-8”: 12/15’tir. Dayanıklı kültürlerin içersinde reizolasyon oranı en yüksek çeşit “K-8” tir. Bu çeşit yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda çok hassas sınıfa girmiştir ve gövde izolasyonunda hastalık şiddeti çok yüksektir (3-3-3). “K-8”ten başka diğer kültür çeşitleri yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda “K-4”, “K-6”, “K-7” çeşitleri hassas, “K-1”, “K-2”, “K-3”, “K-5”, “K-8” çeşitleri ise çok hassas sınıfta yer almaktadır. Hassas sınıf veya çok hassas sınıfta yer alanlar arasında hastalığın reizolasyon oranına bakıldığında çok önemli farklılığın olmadığı dikkati çekmektedir.

#### **2.4.1.7. 2006 Yılına Ait Deneme Sonuçları (Tolerant ve Kültür ile Bunların Melezinin *Verticillium dahliae* izolatı ile Testlenmesi)**

Patojenisite testi 2006 yılında da yine aynı Bitki Koruma Bölümü Serasında kurulmuştur ve dört ay sonra yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0- 5 skalası kullanılarak sayım yapılmıştır ve elde edilen ham veriler hastalıklı yaprak yüzdesi ve Townsend –Heuberger formülü uygulanarak % hastalık şiddeti şeklinde değerlendirilmiştir. 2006 yılında patojenisite testine “K-1” çeşidi ile “DK-5” hattı ve bunların melezi olan “F<sub>1</sub>” ve F<sub>1</sub>’in kendilenmesi ile oluşan F<sub>2</sub> alınmıştır. Bunların

kontrolleri ile birlikte 390 adet bitki testlenmiştir. Kontrollerin yapraklarındaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda hastalık yüzdeleri sırasıyla; “K-1” % 10, “DK-5” %0, “F<sub>1</sub>” %4, “F<sub>2</sub>” % 0 olarak belirlenir iken, *Verticillium* fungusu bulaşık toprağa dikim yapılan bitkilerde hastalık yüzdesi sırasıyla; “K-1” % 28, “DK-5” %22, “F<sub>1</sub>” % 38 olarak tespit edilmiştir. “F<sub>2</sub>” yapraklarındaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda hastalık yüzdelerinde farklılık görülmüştür. Zaten doğal olarak “F<sub>2</sub>” de beklediğimiz bu farklılıklar oran olarak baktığımızda; 200 adet bitkinin yapraklarındaki sararmadan elde edilen ham veriler hastalıklı yaprak yüzdesi ve Townsend –Heuberger formülü uygulanarak % hastalık şiddeti şeklinde değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonunda oran olarak bakıldığında 200 bitkinin % 55’inde hastalık şiddeti %2 ila % 6 arasında değişir iken, % 45’inde ise %36 ila % 44 arasında değişmiştir.

2006 yılı sonuçları F<sub>1</sub> ve F<sub>2</sub> generasyonları faktör olarak alınarak tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuştur. Sonuç olarak F<sub>1</sub>’in değeri 25.43 ± 11.87 (ortalama + standart hata) olarak belirlenirken, F<sub>2</sub>’nin değeri 15.78 ± 15.76 (ortalama + standart hata) belirlenmiştir. Fakat p değeri 0.073 olarak belirlendiği için, yani p>0.05 olduğu için bu iki grup (generasyon) arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

#### **2.4.1.8. 2006 Yılında Tolerant ve Kültür Melezinin *Verticillium dahliae* izolatı ile Testleme Sonunda Yapılan Gövde Değerlendirmesi**

Hastalık şiddetinin tespitinde kök boğazından itibaren 5-10-15 cm mesafelerden kesit alınarak (Şekil 2.10) yapılan gövde değerlendirmesinde 0-3 skalasına göre Çizelge 2.11’da verilen sonuçlar tespit edilmiştir.



Çizelge 2.11. 2006 Yılı Gövde Değerlendirmesi Sonuçları

Çeşit	1. Kesit (5 cm)	2. Kesit (10 cm)	3. Kesit (15 cm)
K-1(K)	1	1	0
K-1	3	2	3
DK-5 (K)	0	0	0
DK-5	0	2	1
F <sub>1</sub> (K)	0	0	0
F <sub>1</sub>	0	0	0
F <sub>1</sub>	1	1	1
F <sub>1</sub>	2	1	1
F <sub>1</sub>	2	2	1
F <sub>1</sub>	2	2	2
F <sub>1</sub>	3	2	2
F <sub>1</sub>	3	3	3
F <sub>2</sub> (K)	0	0	0
F <sub>2</sub>	0	0	0
F <sub>2</sub>	1	1	1
F <sub>2</sub>	2	1	1
F <sub>2</sub>	2	2	1
F <sub>2</sub>	2	2	2
F <sub>2</sub>	3	2	1
F <sub>2</sub>	3	3	3

2006 yılında patojenisite testine “K-1” çeşidi ile “DK-5” hattı ve bunların melezi olan “F<sub>1</sub>” ve F<sub>1</sub>’in kendilenmesi ile oluşan F<sub>2</sub> alındığı için gövde değerlendirmesi de yine bunların gövdelerinde yapılmıştır. Ancak 2006 yılında yapılan patojenisite testinde özellikle F<sub>2</sub> deki hastalık şiddetindeki dağılımı görmek amaçlandığı 390 adet bitki ile çalışıldığı için tüm bu bitkilerin gövdelerinden alınan izolasyon değerleri tek tek verildiği koşulda çok uzun ve gereksiz olacağı için gruplandırma yapılarak sonuçlar Çizelge haline getirilmiştir. Çizelge 2.10’ da görülmekte olan sonuçlar özellikle F<sub>2</sub>’de 200 bitkinin gövde değerlendirmesi sırasında verilen değerlerden yapılan guruplardır. Çizelge 2.11’ dan görüldüğü gibi kontrol olan bitkilerin hastalık şiddeti 0-3 skalasına göre genelde 0-0-0 olmakla birlikte sadece “K-1” çeşidinde 1-1-0 olarak tespit edilirken, aynı çeşidin hastalık bulaştırılmış bitkilerinde hastalık şiddeti 3-2-3 olarak belirlenmiştir. Bu çeşit daha önceki iki yılda da yapraklardaki sararmadan yola çıkarak yapılan % hastalık şiddetinde hassas sınıfta yer almıştır. “DK-5” hattı kontrol bitkilerinde gövde değerlendirmesinde hastalığa rastlanmaz iken, yine aynı hattın hastalık bulaştırılmış bitkilerinde gövde değerlendirmesinde hastalık şiddeti 0-1-1

olarak tespit edilmiştir. “F<sub>1</sub>” bitkilerinde gövde değerlendirmesinde hastalık şiddetine tüm guruptan rastlanmakla birlikte ağırlıkta çoğu bitkide hastalık şiddeti 0-3 skalasına göre ortalama 2 civarında hastalık şiddetine rastlanmıştır. “F<sub>2</sub>” bitkilerinde gövde değerlendirmesinde de beklenen dağılım gözlenmiştir. Çizelge 2.10’da genelde “F<sub>2</sub>” bitkilerinde hastalık şiddeti dağılımı ortalama 0-1 olanlar aynı gruba, hastalık şiddeti ortalama 2-3 olanlar bir grup olarak alınarak bir sınıflandırma yapılmıştır. Bu sınıflandırmada; hastalık şiddetine göre tüm bitkilerde bir oranlama yapıldığında 0-1 grubundaki bitkilerin yüzdesi genel olarak dayanıklı/ tolerant olarak kabul edilir iken, 2-3 grubundaki bitkiler ise hassas olarak kabul edilmiştir. Buna göre “F<sub>2</sub>” bitkilerinin %55’i dayanıklı/tolerant olarak belirlenir iken, % 45’i ise hassas olarak tespit edilmiştir.



Şekil 2.10. 2006 yılında “K-1” çeşidi ile “DK-5” hattı ve bunların melezleri olan F<sub>1</sub> ve F<sub>2</sub>’nin *Verticillium dahliae* izolatı ile testleme sonunda yapılan gövde değerlendirmesinden görünüm

#### **2.4.1.9. 2006 Yılında Tolerant ve Kültür Melezinin *Verticillium dahliae* izolatı ile Testlemesi Sonunda Yapılan Reizolasyon**

Patojenisite testi sonucunda hastalıklı bitkilerin gövdesinde topraktan itibaren 5-10-15 cm olmak üzere 3 farklı bölgeden kesitler alınarak PDA besiyerine her petride 5 disk olacak şekilde yerleştirilerek 20-25 gün sonra hatlardan tekrar hastalık etmeni izole etme oranları belirlenmiştir. 2006 yılında yapılan patojenisite testinde özellikle F<sub>2</sub> deki hastalık şiddetindeki dağılımı görmek amacıyla 390 adet bitki ile çalışılmıştır ve tüm bu bitkilerin gövdelerinden alınan reizolasyon değerleri tek tek

verildiği koşulda çok uzun ve gereksiz olacağı için gruplandırma yapılarak sonuçlar Çizelge 2.12’de verilmiştir.

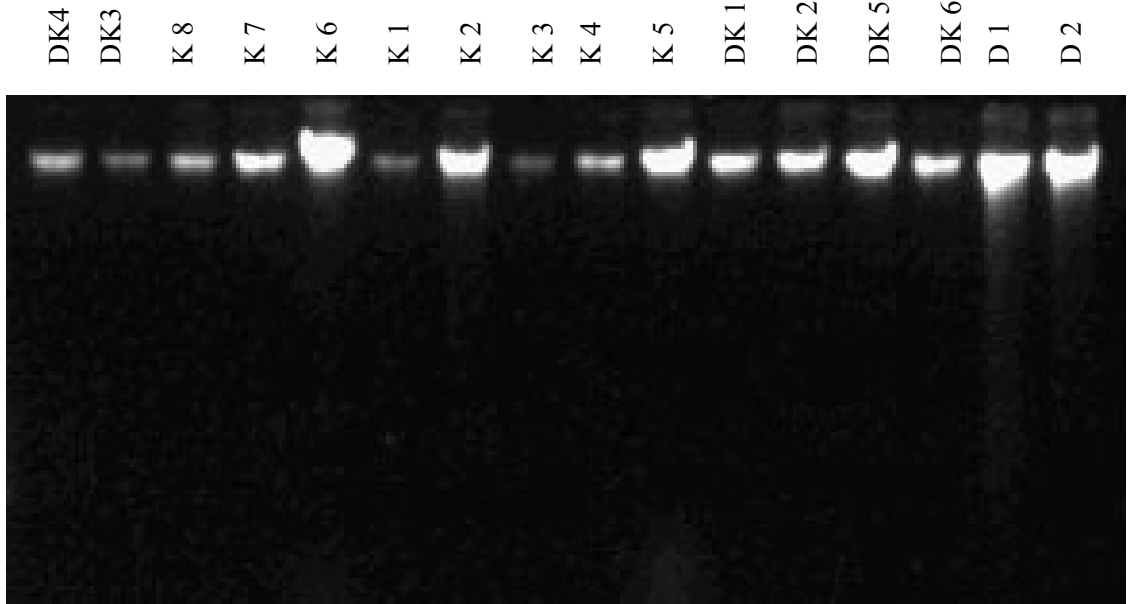
Çizelge 2.12. 2006 Yılı Reizolasyon Sonuçları

Çeşit	1. Kesit (5 cm)	2.Kesit (10 cm)	3. Kesit (15 cm)
K-1(K)	1/5	1 /5	0/5
K-1	3/5	3/5	5/5
DK-5 (K)	0/5	0/5	0/5
DK-5	0/5	2/5	1/5
F <sub>1</sub> (K)	0/5	0/5	0/5
F <sub>1</sub>	0/5	1/5	1/5
F <sub>1</sub>	1/5	1/5	1/5
F <sub>1</sub>	2/5	2/5	1/5
F <sub>1</sub>	2/5	3/5	3/5
F <sub>1</sub>	3/5	4/5	2/5
F <sub>1</sub>	4/5	4/5	3/5
F <sub>1</sub>	5/5	5/5	5/5
F <sub>2</sub> (K)	0/5	0/5	0/5
F <sub>2</sub>	0/5	0/5	0/5
F <sub>2</sub>	1/5	1/5	1/5
F <sub>2</sub>	2/5	1/5	0/5
F <sub>2</sub>	2/5	1/5	1/5
F <sub>2</sub>	4/5	2/5	2/5
F <sub>2</sub>	3/5	4/5	3/5
F <sub>2</sub>	5/5	4/5	5/5

Çizelge 2.12’deki sonuçlara göre kontrol bitkilerinden hastalığın geriye izole edilme toplam oranları “K-1” çeşidinde 2/15 iken, “DK-5” hattında, “F<sub>1</sub>” ve “F<sub>2</sub>” de 0/15 tir. Kontrollerin yapraklarındaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda hastalık yüzdeleri sırasıyla; “K-1” % 10, “DK-5” %0, “F<sub>1</sub>” %4, “F<sub>2</sub>” % 0 olarak belirlenmiştir. *V. dahliae* bulaştırılmış toprağa dikim yapılan bitkilerde hastalığın geriye izole edilme toplam oranları “K-1” çeşidinde 11/15 iken, “DK-5” hattında 3/15, “F<sub>1</sub>” de 52/105 ve “F<sub>2</sub>” de 42/105 olarak tespit edilmiştir. Yapraklarındaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda hastalık yüzdeleri sırasıyla; “K-1” % 28, “DK-5” %22, “F<sub>1</sub>” % 38 olarak tespit edilir iken, “F<sub>2</sub>” bitkilerinde 200 bitkinin % 55’inde hastalık şiddeti %2 ila % 6 arasında değişir iken, % 45’inde ise %36 ila % 44 arasında değiştiği belirlenmiştir.

#### 2.4.1.10. DNA izolasyonu

Patlıcan genotip ve/veya çeşitlerinden toplam 16 adet (D-1, D-2, K-1, K-2, K-3, K-4, K-5, K-6, K-7, K-8, DK-1, DK-2, DK-3, DK-4, DK-5, DK-6) hastalığa dayanıklı (2 adet), dayanıklı kültür (6 adet), veya hassas (8 adet) örneklerin her biri için en az beş değişik bireyden taze yaprak örnekleri alınarak sıvı azot içerisinde dondurulmuştur. Dondurulan bu örneklerden 0,1 g yaş doku örneği kullanılarak bitki DNA izolasyonu QIAGEN DNeasy Mini kit kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen DNA'ların görsel olarak agaroz jeldeki görüntüleri Şekil 2.11'de verilmiştir.



Şekil 2.11. Çalışmada kullanılan patlıcan çeşit ve hatlarına ait DNA'ların %1,5 lik agaroz jelde EtBr ile boyanarak görsel olarak görüntüleri.

Şekil 2.11 incelendiğinde DNA'ların agaroz jel üzerinde RNA ve diğer hücre ürünlerinden arı olarak parçalanmamış tek bant oluşturduğu görülmektedir. Bu sonuç elde edilmiş olan genomik DNA'ların spektrofotometre ile yapılan konsantrasyon ölçümlerinde oransal olarak karşılaştırma sağlamıştır. Konsantrasyonları belirlenen örneklerden son konsantrasyonu 10 ng/ml olacak şekilde bulkler hazırlanmıştır. Gereksiz masraflardan kaçınmak için dayanıklılar (D-1 ve D-2) ile bulk 1, orta dayanıklılar ile (DK-5) bulk 2, dayanıklı kültür çeşitleri ile (DK-1, DK-2, DK-3,

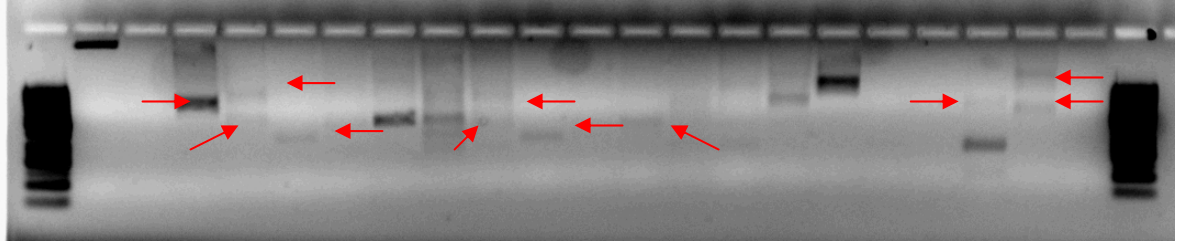
DK-4, DK-6) ile ise bulk3 ve kültür çeşitleri ile (K-1, K-2, K-3, K-4, K-5, K-6, K-7, K-8) bulk 4 Hazırlanmıştır.

#### 2.4.1.11. PCR uygulamaları

PCR uygulamaları ve RAPD analizlerinde kullanılan toplam kullanılan 30 adet primerden sadece 10 adedi band üretmiştir, bu primerlerin adı, baz dizileri ve ürettikleri bandın büyüklüğü Çizelge 2.13’de verilmiştir.

Uygulamalar sonucunda en iyi polimorfizm veren primerlerin amplifikasyon jel görüntüleri ise Şekil 2.12’de gösterilmiştir.

13003 13004 13005 13006 13008 13009 13010 13023 13027 13029  
L G D--H D---H D--H D--H D--H D--H D---H D--H D--H D---H L



Şekil 2.12. Çalışmada kullanılan dayanıklı (D) ve hassas (H) patlıcan çeşitlerinden oluşan bulkların 10 değişik (primer nosu 13003,13004, 1305,1306,13008, 13009, 13010, 13025, 13027 ve 13029) primerle oluşturulan PCR amplifikasyon ürünlerinin EtBr ile boyanarak agaroz jel üzerindeki görüntüleri L= 50 bp lik DNA ölçü markırı, G= genomik DNA, D= Bullk-1, ve H= bulk-4

Çizelge 2.13. RAPD analizinde kullanılan primerlerin baz dizisi

Primer	Baz Dizisi 5'3'	Band (bp)	
		D	H
13003	AGGTGACCGT	yok	800
13004	GTTGCGATCC	900-700	500
13005	CAGGCCCTTC	500	500
13006	AGTCAGCCAC	500	400
13008	GTGACGTAGG	250	yok
13009	TGCCGAGCTG	400	yok
13010	AATCGGGCTG	200	800
13025	CCTTGACGCA	900	yok
13027	AGGGAACGAG	yok	100-200-800
13029	GTTTCGCTCC	1031	yok

## 2.5. TARTIŞMA

Patlıcanda verim düşüklüğünde etkili *Fusarium* ve *Verticillium* olmak üzere iki önemli hastalık bulunmaktadır. *Verticillium* toprak kökenli bir fungustur ve patlıcanda %37 ila %60 lara varan oranlarda verim düşüklüklerine sebep olmaktadır. Bu hastalığın kimyasal kontrolü hem zor hem de ticari olarak karlı değildir. Patlıcanda, domates anacı üzerine aşılamanın da hastalığın kontrolünde etkili olduğu ancak uygulamasının çok zor ve ekonomik olarak karlı olmadığı kanıtlanmıştır. Böylece, yabani çeşitlerdeki dayanıklılık genlerin (*Solanum torvum* ve *Solanum sisymriifolium*) yerli çeşitlere aktarılmasına ihtiyaç vardır. Bu amaçla çalışmamızda dayanıklılık ıslahı üzerine planlanmıştır. Dayanıklılık çalışmalarında öncelikle dayanıklı hatların belirlenmesi ilk adım olarak bilinmektedir. Bizim çalışmamızda patojenisite testi Bitki Koruma Bölümü Serasında yürütülmüştür. Öncelikle inokulum hazırlanmış, daha sonra sterilize edilmiş saksı toprağına 1/19 oranında karıştırılarak daha önceden ekimi yapılmış ve pişkin fide aşamasına gelmiş olan fideler bu hazırlanan karışıma dikim yapılmıştır. Deneme kurulduktan dört ay sonra yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak sayım yapılmıştır. Denemenin değerlendirilmesi için dört ay beklenmesinde ana hedef hassas olan bitkilerin ölümünden sonra değerlendirme yapmak olmuştur. Elde edilen ham veriler hastalıklı yaprak yüzdesi ve Townsend –Heuberger formülü uygulanarak % hastalık şiddeti şeklinde değerlendirilmiştir. 2004 yılı sonuçları “D-1” ve “D-2” yabani çeşitleri çok dayanıklı sınıfa girer iken, “DK-5” hattı orta dayanıklı sınıfa, “K-2”, “K-4”, “K-5”, “DK-2”, “DK-3” ve “DK-4” çeşitleri hassas sınıfa, “K-1”, “K-3”, “K-6”, “K-7”, “K-8”, “DK-1” ve “DK-6” çeşitleri ise çok hassas sınıfa yer almıştır. Çalışmamızın başlangıcında kültür çeşitlerini denememize alırken hassas olduğu bilinerek ve çalışmanın hassas materyal kısmı için alınmıştır ve sonuçlarda yine aynı doğrultuda çıkmıştır. Fakat dayanıklı kültür çeşitleri bize daha önceden tarla denemeleri ile dayanıklılık ve tolerantlığı tespit edilmiş olarak gönderilmiştir. Fakat bizim yapmış olduğumuz saksı denemelerinde bu hatlar hassas ve çok hassas sınıfa girmişlerdir. Literatür incelendiğinde en hassas ve doğru sonuçların saksı denemelerinden alındığı ispatlanmıştır. Bejarano-Alcazar ve ark (1999) ile Bletsos ve ark. (1999) yapmış oldukları çalışmalarında ve daha bir çok araştırmada saksı denemeleri tercih edilmektedir. INRA’dan temin ettiğimiz “D-1 ve “D-2” çeşitleri denememizde dayanıklı çeşitler olarak kullanılmıştır. Bu çeşitler bir çok çalışmada

(Acciarri ve ark. 2001, Sunseri ve ark. 2003) melezlemelerde dayanıklılık kaynağı olarak kullanılmıştır. 2004 yılı sonuçları yıl ve dayanıklılık faktör olarak alınarak tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuştur. Sonuç olarak yılın önemsiz olduğu tespit edilirken, kültür ile dayanıklı kültür arasındaki fark önemli bulunmuştur. Tüm kültür çeşitlerinin dayanıklı kültür çeşitleri ile arasında farka tek varyans analizi ile baktığımızda “K-1”, “K-2”, “K-3”, “K-4”, “K-5”, “K-6”, “K-7”, “K-8” kültür çeşitlerinin hepsinde yalnızca “D-1”, “D-2” ve “DK-5” hatları ile aralarındaki fark önemli çıkmıştır. “DK-5” ile “D-1” arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunurken “DK-5” ile “D-2” arasındaki farkın önemsiz olduğu tespit edilmiştir. 2004 yılında patojenisite testinin ardından bitkilerde kök boğazından itibaren 5-10-15 cm mesafelerden kesit alınarak yapılan gövde değerlendirmesinde 0-3 skalasına göre değerlendirme yapılmıştır ve sonuçlar yapraklardaki sararma solgunluktan yapılan değerlendirme sonuçları ile paralellik göstermiştir. Hassas sınıfa giren kültür çeşitlerinin gövdedeki hastalık şiddetide yüksek (ortalama 2-3) bulunurken, dayanıklı sınıfa giren yabancı çeşitlerde gövde izolasyonlarında hastalığa rastlanmamıştır (0-0-0). 2004 yılında patojenisite testi sonunda reizolasyon çalışması yapılmıştır. Hastalıklı bitkilerin gövdesinde topraktan itibaren 5-10-15 cm olmak üzere 3 farklı bölgesinden kesitler alınarak PDA besiyerine her petride 5 disk olacak şekilde yerleştirilerek 20-25 gün sonra hatlardan tekrar hastalık etmeni izole etme oranları belirlenmiştir. Reizolasyon sonuçları, yapraklardaki sararma ve solgunluktan yapılan değerlendirme ve gövde değerlendirmesi sonuçları ile paralellik göstermektedir. Hassas ve çok hassas sınıfta bulunan bitkilerde hastalık şiddeti yüksek olduğu için bu bitkilerden alınan kesitlerde reizolasyon yüzdesi de yüksek olmaktadır. 2005 yılında patojenisite testi tekrarlanmıştır bunun nedeni; 2004 yılında izolat temini çok zor ve geç olmuştur. Bu nedenle vejetasyon sezonunu kaçırmamak için gelen izolat sadece vertisillat dallanmasına bakıldıktan sonra hemen kullanılmak zorunda kalmış ve izolat kullanıldıktan sonra *V. dahliae* olup olmadığı PCR ile kesin tespit edilmesi amacıyla Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümüne gönderilmiştir. Burada bulaşmalardan dolayı izolat tespiti uzun sürmüştür. Yine zamanı iyi kullanmak ve daha kesin sonuç almak amacıyla; yine aynı üniversitenin aynı bölümünden bize patlıcandan izole edilmiş ve PCR ile bakılmış ve kesin olarak *V. dahliae* olduğu tespit edilmiş izolat gönderilmiş ve patojenisite testi 2005 yılında tekrarlanmıştır. Bunun sonucunda 2005

yılında alınan sonuçlar yine 2004 yılı ile paralellik göstermiştir. Sadece gövde değerlendirmesi ve reizolasyon sonuçları tüm çeşit ve hatlarda 2004 yılına göre biraz daha yüksek belirlenmiştir. Sonuçların Bitki Koruma Bölümü konu uzmanı hocalarımızla tartışmıştır ve sonuçta 2005 yılında PCR ile tamamen *V. dahliae* olduğu tespit edilmiş izolatın virülensinin yüksek olabileceği sonucuna varılmıştır.

Patojenisite testi 2006 yılında da yine aynı Bitki Koruma Bölümü Serasında kurulmuştur ve yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0- 5 skalası kullanılarak sayım yapılmıştır ve elde edilen ham veriler hastalıklı yaprak yüzdesi ve Townsend –Heuberger formülü uygulanarak % hastalık şiddeti şeklinde değerlendirilmiştir. Yalnız son yapılan patojenisite testi başlangıcı ile değerlendirme arasında geçen süre 3 ay 10 gündür. 2004 ve 2005 yıllarında yapılan patojenisite testinde 4 ay boyu bitkiler saksılarda kalmıştır, 4 ayı bile geçmiştir çünkü değerlendirme için esas alınan hassas olan bitkilerin tamamen ölmesi olmuştur. Fakat 2006 yılında yapılan patojenisite testinde denemin daha erken kurulmasını sınırlandıran hava sıcaklıklarının geç ısınması olmuştur. Daha sonra değerlendirmenin patojenisite testi başlangıcından 3 ay 10 gün sonra yapılmasının sebebi doktora tezinin teslim tarihinin çok yaklaşması olmuştur. Bu sebeplerden dolayı kısa sürede kesilmek zorunda kalan patojenisite testi sonuçları önceki yıllara göre hastalık yüzdeleri daha düşük çıkmıştır. Fakat ulaşılan sonuçlar hastalık şiddeti ve oranları hakkında yeterli fikir vermektedir.

2006 yılında patojenisite testine “K-1” çeşidi ile “DK-5” hattı ve bunların melezi olan “F<sub>1</sub>” ve F<sub>1</sub>'in kendilenmesi ile oluşan F<sub>2</sub> alınmıştır. Bunların kontrolleri ile birlikte 390 adet bitki testlenmiştir. Kontrollerin yapraklarındaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda hastalık yüzdeleri sırasıyla; “K-1” % 10, “DK-5” %0, “F<sub>1</sub>” %4, “F<sub>2</sub>” % 0 olarak belirlenir iken, *Verticillium* fungusu bulaşık toprağa dikim yapılan bitkilerde hastalık yüzdesi sırasıyla; “K-1” % 28, “DK-5” %22, “F<sub>1</sub>” % 38 olarak tespit edilmiştir. “F<sub>2</sub>” yapraklarındaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda hastalık yüzdelerinde farklılık görülmüştür. “F<sub>2</sub>” de bu farklılık beklenmektedir. Çünkü *V. dahliae* resesif ve çok genle kontrol edildiği için “F<sub>1</sub>” bitkilerinin hepsinin hastalığa dayanıksız çıkması beklenmektedir. Nitekim 2006 yılı sonuçlarında “F<sub>1</sub>” bitkilerinin yapraklardaki sararma ve solgunluk değerleri, gövde izolasyonu ve reizolasyon sonuçları “F<sub>2</sub>” bitkileri sonuçlarından daha yüksek çıkmıştır.



Fakat uygulamada çevre vb. birçok faktörün devreye girmesi ve etkili olması sebebiyle sonuçlar teorideki kadar kesin çizgi ile ayrılmamaktadır. Teoride *V. dahliae* resesif çok genle kontrol edilen bir hastalık olması sebebiyle “F<sub>2</sub>” bitkilerinin patojenisite testi sonucunda bitkilerin % 50 sinin dayanıklı/tolerant, %50 sinin ise hassas olması beklenmektedir, bu sonuç, Demir (1975), Klug ve Cummings (2003) ve Sürmeli (2004) kaynaklar gibi ıslah kitaplarında ve ıslah ile ilgili tüm kaynaklarda bu şekilde geçmektedir. Fakat uygulamada bir çok faktör devreye girdiği için sonuçlar teorideki kadar keskin veya net olmamaktadır. Nitekim 2006 yılı “F<sub>2</sub>” bitkilerinin patojenisite testi sonucunda yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0- 5 skalası kullanılarak sayımda değerlendirme sonunda oran olarak bakıldığında 200 bitkinin % 55’inde hastalık şiddeti %2 ila % 6 (tolerant) arasında değişir iken, % 45’inde ise %36 ila % 44 (hassas) arasında değiştiği tespit edilmiştir. Aslında bu sonuç yinede beklenene oldukça yakın çıkmıştır, tolerant ve hassas oranları arasındaki %5 lik sapmada çevre, hava koşulları vb. şartların oluşturmuş olduğu etkiden kaynaklandığı düşünülebilmektedir. 2006 yılı sonuçları F<sub>1</sub> ve F<sub>2</sub> generasyonları faktör olarak alınarak tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuştur. Sonuç olarak F<sub>1</sub>’in değeri 25.43 ± 11.87 (ortalama + standart hata) olarak belirlenirken, F<sub>2</sub>’nin değeri 15.78 ± 15.76 (ortalama + standart hata) belirlenmiştir. Fakat p değeri 0.073 olarak belirlendiği için, yani p>0.05 olduğu için bu iki grup (generasyon) arasında anlamlı fark bulunmamıştır. 2006 yılı “F<sub>1</sub>” bitkilerinde gövde değerlendirmesinde hastalık şiddetine tüm gruptan rastlanmakla birlikte ağırlıkta çoğu bitkide hastalık şiddeti 0-3 skalasına göre ortalama 2 civarında hastalık şiddetine rastlanmıştır. “F<sub>2</sub>” bitkilerinde gövde değerlendirmesinde de beklenen dağılım gözlenmiştir. Hastalık şiddetlerinin dağılımı ortalama 0-1 olanlar aynı gruba, hastalık şiddeti ortalama 2-3 olanlar bir grup olarak alınarak bir sınıflandırma yapılmıştır. Bu sınıflandırmada; hastalık şiddetine göre tüm bitkilerde bir oranlama yapıldığında 0-1 grubundaki bitkilerin yüzdesi genel olarak dayanıklı/ tolerant olarak kabul edilir iken, 2-3 grubundaki bitiler ise hassas olarak kabul edilmiştir. Buna göre “F<sub>2</sub>” bitkilerinin %55’i dayanıklı/tolerant olarak belirlenir iken, % 45’i ise hassas olarak tespit edilmiştir. Görüldüğü gibi gövde değerlendirmesi sonuçları da yapraktaki sararmadan yola çıkılarak yapılan değerlendirme sonuçları ile paralellik göstermektedir. 2006 yılı reizolasyon sonuçları ise, *V. dahliae* bulaştırılmış toprağa dikim yapılan bitkilerde hastalığın geriye izole edilme toplam oranları “K-1” çeşidinde 11/15 iken, “DK-5” hattında 3/15,

“F<sub>1</sub>” de 52/105 ve “F<sub>2</sub>” de 42/105 olarak tespit edilmiştir. Teoride beklenen “F<sub>1</sub>” ile “F<sub>2</sub>” sonuçları arasındaki farkın çok daha fazla olmasıdır. Fakat uygulamada bu sonucun çıkma nedeni çok farklı sebeplerden olabilir. Bunlardan bir tanesi çevrenin etkisi olabileceği düşünülebilir, bir diğeri ise *V. dahliae* hastalık belirtileri oldukça geç ortaya çıkmaktadır ve zaman sıkıntısı sebebiyle 2006 yılı patojenisite testinin 20 gün kadar erken bitirilmek zorunda kalması, hastalığın bitkide tam kendini gösterememesine bağlanabilir.

Çalışmamızın sonunda 2006 yılında toplam 16 adet patlıcan (D-1, D-2, K-1, K-2, K-3, K-4, K-5, K-6, K-7, K-8, DK-1, DK-2, DK-3, DK-4, DK-5, DK-6) hastalığa dayanıklı (2 adet), dayanıklı kültür (6 adet) ve hassas (8 adet) örneklerin her biri için en az beş değişik bireyden taze yaprak örnekleri alınarak sıvı azot içerisinde dondurulmuştur. Dondurulan bu örneklerden 0.1 g yaş doku örneği kullanılarak bitki DNA izolasyonu QIAGEN DNeasy Mini kit kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen DNA’ların görsel olarak agaroz jeldeki görüntüleri Şekil 2.11’de verilmiştir.

Şekil 2.11 incelendiğinde DNA’ların agaroz jel üzerinde RNA ve diğer hücre ürünlerinden arı olarak parçalanmamış tek bant oluşturduğu görülmektedir. Bu sonuç elde edilmiş olan genomik DNA’ların spektrofotometre ile yapılan konsantrasyon ölçümlerinde oransal olarak karşılaştırma sağlamıştır. Konsantrasyonları belirlenen örneklerden son konsantrasyonu 10 ng/ml olacak şekilde bulklar hazırlanmıştır. Gereksiz masraflardan kaçınmak için dayanıklılar (D-1 ve D-2) ile bulk 1, orta dayanıklılar ile (DK-5) bulk 2 , dayanıklı kültür çeşitleri ile (DK-1, DK-2, DK-3, DK-4, DK-6) ile ise bulk3 ve kültür çeşitleri ile (K-1, K-2, K-3, K-4, K-5, K-6, K-7, K-8) bulk 4 hazırlanmıştır. Dayanıklı ve hassaslar arasındaki bu polimorfizmi görmekle çalışmanın bundan sonra yapılması gereken elde mevcut olan “F<sub>2</sub>” bitkilerinde açılım olup olmadığı açısından incelenmesidir. PCR uygulamaları ve RAPD analizlerinde kullanılan 30 adet primerden sadece 10 adedi band üretmiştir, bu primerlerin adı, baz dizileri ve ürettikleri bandın büyüklüğü Çizelge 2.13’de verilmiştir. Band vermeyen primerlerde optimizasyon çalışması yapılmadığı için gerçekten band vermiyor mu yoksa primerlermi hatalı olduğu optimizasyon çalışması ile belirlenmesi gerekmektedir. Uygulamalar sonucunda en iyi polimorfizim veren primerlerin amplifikasyon jel görüntüleri ise Şekil 2.12’ de gösterilmiştir. Şekil 2.12’ de görülen primerlerin

amplifikasyon jel görüntülerindeki polimorfizm bize dayanıklı ve hassas olan çeşitler arasında farklılığı göstermektedir. Fakat bu farklılığı sadece hastalıklara dayanıklılık yönüyle değerlendirmemiz doğru olmaz, polimorfizm morfolojik olarak birbirinden oldukça farklı olan çeşitlerin, morfolojik farklılığından da kaynaklanabilir. F<sub>2</sub> açılım analizinden sonra kesinlik kazanacağından polimorfik olan bandların F<sub>2</sub> de bakılması gerekmektedir. Patlıcanlarda genetik çeşitliliğin fazla olduğu daha önce yapılmış olan çalışmalarla da belirlenmiştir. Örneğin Acciarri ve ark. (2001) ve Singh ve ark. (2006) yapmış olduğu çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

## **BÖLÜM 3. *VERTICILLIUM DAHLIAE* DAYANIKLI VE DAYANIKSIZ ÇEŞİT VE HATLARIN MELEZLENMESİ**

### **3.1. GİRİŞ**

Islah denince akla daha çok melezleme gelir. Melezlemede esas genotipik varyasyon yaratmaktır. Ancak bu varyasyon tabiatta olduğu gibi rastgele değil, bizim seçtiğimiz ebeveynlerin genotiplerinde mevcut kalıtsal ünitelerin rekombinasyonları ile ortaya çıkarmaktadır. Şu halde melezleme, iki veya daha çok çeşidi birbirleriyle çaprazlayarak, değişik özelliklere sahip rekombinantlar meydana getirmektir. Bu şekilde çaprazlanan çeşitlerin yani ebeveynlerin üstün karakterlerini bir bitki üzerinde toplamak mümkündür. Çeşit geliştirmede en basit yol Seleksiyondur. Bunda başarı populasyonda genetik varyasyonun bulunmasına bağlıdır. Genetik varyasyonun tükendiği özellikle kendine döllen bitkilerde saf hatta ulaşıldığında yeni bir çeşit ortaya konulmaz. Bitki ıslahçısı yeni çeşit geliştirmede melezleme ıslahına başvurur. Bitki ıslahında melezleme, genetik varyasyonu çoğaltmak ve arzu edilir allelleri bir araya getirmek amacıyla uygulanır.

Melezlemenin kullanım alanları

1. Genlerin kalıtımı
2. Yeni çeşit geliştirme
3. Heterosis ıslahı
4. Genel ve özel kombinasyon kabiliyetinin belirlenmesi

Melezleme iki veya daha fazla sayıdaki bitkide bulunan arzu edilen özelliklerin tek bir bitki üzerinde toplanması için bu bitkilerin yapay olarak döllenmeleri esasına dayanır. Melezlemeye başlamadan önce; amaç açık olarak belirlenir, uygun bir ıslah metodu kararlaştırılır, ebeveyn seçilir. Melezlemede en önemli husus ebeveynlerin seçimidir. Ebeveynlerin isabetli seçimi, başarının belkide yarısıdır. Çünkü melezlemenin başarısı 8-10 generasyon sonra anlaşılır. Eğer iyi ebeveyn kullanılmamışsa geriye dönmek için geç kalınmış olur.

Geriye melezleme üstün karakterli ve bölgeye iyi adapte olmuş bir çeşide diğer bir çeşitten veya türden sadece o çeşidin noksan olan karakterlerinin ilave etmek amacı ile uygulanır. Geriye melezleme sonucunda noksan olan karakterlerle ilgili gen veya genlerin üstün vasıflı bir çeşide transferi sonucu elde edilen melez heterozigot olur. Bunun için son geriye melezleme işleminden sonra kendileme yapmak suretiyle homozigotluk sağlanır. Geriye melezleme metodu dayanıklılığın, morfolojik karakterlerin ve erkek kısır hatların aktarılmasında kullanılır. Bu metot sebze ıslahında genellikle hastalıklara, zararlılara veya stres koşullarına dayanıklılık programlarında kullanılır.

Bazı durumlarda hastalıklara dayanıklılık çok genle kontrol edilir, bu durumlarda başarılı olabilmek için istenen özelliğin kalıtımının yüksek olması esastır. Birçok genle idare edilen ancak yüksek kalıtmımlı bir karakterin daha az genle ancak düşük kalıtım dereceli karaktere nazaran geriye melezleme ile transferi daha kolaydır.

Hastalığa mukavemet resesif genler tarafından idare edildiği durumda  $F_1$  melezlerinin tümü hastalığa duyarlıdır.  $F_2$  generasyonunda ise; resesif homozigot olanlar hastalığa dayanıklıdır. Enfeksiyon şartlarında hastalığa yakalanmayan bitkiler 1. geriye melezlemeye tabi tutulur. Elde edilen döllerin tümü hastalığa yakalanır. Bu nedenle bunların bir generasyon kendilenmeleri ve enfeksiyon koşullarında dayanıklı genotiplerin seçilmesi gerekir. Bunlar 2. kez geriye melezlenir, aynı işlem, sonuç elde edilinceye kadar tekrarlanır. Burada her geriye melezlemeden sonra dayanıklı genotipleri elde etmek için bir generasyon kendileme yapılır ve dayanıklı genotipler enfeksiyon koşullarında test edilerek geriye melezlenir (Sürmeli 2004).

Patlıcan çiçekleri gövde üzerinde genellikle 4 ve 5. yapraktan sonra meydana gelirler ve iki yaprağın orta kısmından çıkarlar. Patlıcan çiçekleri altılı yapıda olup 6 adet çanak, 6 adet taç yaprak, 6 adet erkek organ ve bir dişi organ taşırlar. Çanak yapraklar başlangıçta taç yaprakları içine alacak şekilde kapalı durumdadır. Çiçek açıldıktan sonra taç yapraklar hızla gelişir ve çanak yaprakların 2-3 katı büyüklük kazanırlar. Patlıcanda taç yaprakların genişliği ortalama 8-12 mm., uzunluğu ise 20-28 mm olabilmektedir. Erkek organlar belirgin sarı renkte olup altı adedi dişi organ etrafında düzgün bir şekilde dizilerek bir boru oluşturmuşlardır ve uç kısımlarından yarılarak polen tozunu verirler. Tepecik genellikle erkek organların üst seviyesinde olup

bazı çeşitlerde erkek organlardan daha yukarıda bazı çeşitlerde ise erkek organların yapmış olduğu borunun iç kısmında kalır. Stilus uzunluğunda çeşitlere göre büyük farklılık gösterir ve 4-23 mm arasında değişen uzunluklara sahiptir. Çeşitlerde çiçek açılmasından hasat olgunluğuna kadar geçen gün sayısı da farklılık gösterir. Bu süre 18 ile 30 gün arasında değişir. Çiçek yapısına bağlı olarak yabancı dölleme oranı % 2 ile % 46 arasında değişmekte ve ortalama yabancı dölleme oranı % 6 olarak verilebilmektedir (Vural ve ark. 2000).

Patlıcanın çiçek açması için özel istemiş olduğu gün uzunluğu yoktur. Patlıcan çiçekleri tek olarak açtığı gibi küme şeklinde de açabilmektedir. Tek açan çiçekte dökülme az olurken, küme şeklinde açan çiçeklerde halk arasında silkme adı da verilen dökülme % 80 oranına kadar çıkabilmektedir. Patlıcan üretilen bölgelerin çoğunda çiçeğin kendileme ve melezleme işlemleri için en uygun olduğu saatler sabah 6 ila 11 arasındaki zamandır. Polen canlılığı 20-22 °C'de ve %50-55 nemde 8-10 gün devam etmekte, fakat en iyi sonuç polenin 4. gününde kullanılmasıyla alınmaktadır. Patlıcanda F<sub>1</sub> hibrit üretimi elle yapılmaktadır, iri çiçeğe sahip olduğu için elle tozlama genellikle kolaydır. Tozlama döneminde yağmur istenmeyen bir durumdur. Hibrit üretiminde uygun tozlaşmanın sağlanabilmesi için erkek bitki, ana bitkiden 7 ila 10 gün kadar erken dikilmelidir. Ticari hibrit tohum üretimi için oran olarak 5-6 ana hatta 1 erkek hat yeterli gelmektedir. Bu oran ana ve baba hatların çiçeklenme durumlarına göre ayarlanabilir (Chen 2005).

Emaskülasyon ve elle tozlama genellikle aynı zamanda yapılmaktadır. Verimli emaskülasyon ve tozlama yapabilmek için yoğun çiçeklenme periyodunun elde edilebilmesi için gübreleme uygulamasının ve diğer kültürel işlemlerin, çiçeklenme aşamasında bitkinin güçlü olması sağlanacak şekilde planlanması gerekmektedir (Chen 2005).

Çalışmamızda, patojenisite testi sonucunda *V. dahliae*'ya tolerant olarak belirlenen hattan, ticari olarak bilinen ve tutulan çeşitlere, bu özelliği aktarmak amacıyla melezleme çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca *V. dahliae* genetik olarak resesif kontrol edildiği için F<sub>1</sub> melezlerinin tümü hastalığa duyarlı olduğu daha önce yapılan çalışmalarla ispatlandığı için, çalışmamızda patojenisite testinde F<sub>2</sub> bitkilerinin tepkilerinin belirlemek amacıyla hemen kendileme çalışmaları yapılmıştır.

### 3.1. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Son yıllarda yapılan ıslah çalışmalarında olduğu gibi, patlıcanda da ıslah çalışmaları daha çok hastalıklara dayanıklılık yönünde olmaktadır. Dayanıklılık ıslahında çalışma materyali olarak, yabancı hatlar kullanılmakta ve melezleme çalışmaları ile dayanıklılığı kültür formlarına aktarmaya çalışılmaktadır.

Daunay ve ark. (1998b) tarafından *Solanum* cinsinin 41 türü, 6 patlıcan çeşidi ile melezlenmiştir, sistematik olarak yapılan resiprokal melezlemelerden sonra tozlamadan 30 gün sonra *in vitro*'da embriyo kültürü yapılmıştır. *In vitro*'da gelişmeden sonra türlerarası melez bitkiler sera ve açık arazi koşullarında toprağa transfer edilmiştir. Bunların morfolojik özellikleri (cinsiyet, çiçek, meyve, yaprak), fertiliteleri hem sera, hemde açık arazi koşullarında çalışılmıştır. Kırkbir türler arası melezden 22 sinde başarılı olunmuştur. Üretilen bu hibritlerden 12 tanesi *S. melongena* ile melezlemede iki yönlüde (ana ve baba olarak) kullanılabilmiş, 6 adedi *S. melongena* ile melezlemede sadece ana hat olarak kullanılabilmiş (*S. melanospermum*, *S. richardii*, *S. caogulans*, *S. forskalii* ve *S. rigescens*), ve diğer 4 melezde yalnız yabancıler ana olarak kullanılmıştır. Anlaşılmıştır ki; yabancı türler ana olarak kullanıldığı zaman genellikle meyve tutumu başarısız olmaktadır. Hibritlerin çoğu çok iyi canlılık göstermiştir, morfolojik özellikler olarak iki ebeveynin arasında özellikler göstermiştir, fakat yabancı tipi *melongena* tipine baskındır. Bu hibritler 4 yıldan fazla açık tarla ve sera koşullarında bir çok fertilitite özellikleri görülmüştür. Bu hibrit grupları arasında farklılıklar görülmüş ve bu hibritlerin farklılıkları da belli gruplarda toplanmıştır. Bu araştırmada INRA'da geniş ölçüde türler arası melez denenmiştir. Bu çalışmalar göstermiştir ki 41 yabancı türden 22 sinden canlılığını sürdürebilen hibritler oluşturulmuş. Bunlardan 5 adedi (*S. dasyphyllum*, *S. lidii*, *S. pyracanthos*, *S. rubetorum*, *S. tomentosum*) patlıcanla melezlenebilir şekilde literatüre geçmiştir. Bu çalışma ile daha önce hiçbir melez çalışmasında kullanılmamış 17 yeni tür onaylanmış doğrulanmıştır. Daha önce Daunay ve ark (1991) patlıcan ile 14 *Solanum* türü (*S. aethiopicum*, *S. anguivi*, *S. cinereum*, *S. grandiflorum*, *S. hispidum*, *S. incanum*, *S. linneanum*, *S. macrocarpon*, *S. marginatum*, *S. pubescens*, *S. torvum*, *S. violaceum*, *S. viarum* ve *S. virginianum*) arasında yapılan melezleme sonucu canlılığını

sürdürebilen hibrit üretilmediğini belirtmişlerdir. Bunun anlamı patlıcan 36 *Solanum* türü ile melezlenebilir. Bunlardan bazıları kültüre alınmış (örneğin *S. aethiopicum* ve *S. macrocarpon*) fakat çoğunun yabancı olduğu belirtilmiştir.

Bletsos ve ark. (1998), dayanıklı çeşit *Solanum torvum* türünden gen transferi ile dayanıklı çeşitler geliştirilmek amacıyla, çok önemli patlıcan çeşidi olan “Langada”yı *S. torvum* ile melezlemiştir. Ovul (tohum taslağı) tozlaşmadan 15-27 gün sonra MS ortamına 24 °C sıcaklık ve 16 saatlik ışık periyoduna alınmıştır. 50 gün sonra, ovul açılarak intersifesifik embriyolar aynı ortamda kültüre alınmıştır. Çimlenen bu embriyolar 50 günde büyümüş ve içinde toprak-turba-perlit (1:2:1) olan saksılara aktarılmıştır. Yaprak ve çiçeğin morfolojik özellikleri belirlenmiştir, Yaprak uzunluğu, genişliği, yaprak sap uzunluğu, çiçeğin büyüklüğü, erkek ve dişi organın uzunluğu ebeveynlerden küçüktür. Yaprak loblarının sayısı, taç yapraklar, çanak yaprakların uzunluğu, erkek organ sayısı ve uzunluğu, diken bölgeleri, yabancı ebeveyne (*S. torvum*) benzediği tespit edilmiştir. Ana gövdenin antosiyanini, çiçek rengi ve diken rengi ise kültür çeşidine benzemiştir. Yüzde çiçeklenme oranının iki ebeveyn arasında olduğu tespit edilmiştir.

Collonnier ve ark. (2003) tarafından *Solanum melongena* L. ( $2n=2x=24$ ) ve *Solanum torvum* ( $2n=2x=24$ ) arasında türler arası melezleme yapılmıştır. Amaç toprak kökenli patojenler olan *Ralstonia solanacearum* ve *V. dahliae*'ya dayanıklılığı arttırmaktır. Tüm somatik hibritler fenotipik olarak homojen ve iki ebeveynin arasındadır. Bu hibritlerin özellikleri isoenzim ve RAPD analizleri ile doğrulanmıştır. Bunlara *in vitro*'da dayanıklılık performans testi uygulanmıştır. *S. melongena* hassasiyet göstermiş, *S. torvum* yüksek dayanıklı bulunurken, tüm somatik hibritlerin bakteriyel ve fungal dayanıklılıkları, yabancı ebeveynler kadar yüksek veya orta dayanıklılık göstermişlerdir.

Bletsos ve ark. (2000) “Emi”, “Tsakoniki”, “Langada” Yunan çeşitleri ile yabancı türlerden *Solanum torvum*, *Solanum sisymbriifolium*'un melezlenmesini başarmıştır. Yalnız türler arası melez F<sub>1</sub> hibrit yalnızca *S. torvum* ile Yunan patlıcan çeşitlerinden elde edilmiştir. Bu türler arası melez F<sub>1</sub> (Langada x *S. torvum*) kısır ve morfolojik özellikleri belirlenmiştir. Melez F<sub>1</sub>, yaprak kenarları, çiçek açma tipi ve diken bölgeleri *S.torvum*'a benzer iken, çiçek rengi, *S.melongena*'ya benzediği tespit



edilmiştir. Bu hibritin kromozom sayısı ebeveynlerle aynıdır ( $2n=24$ ) canlı polen % 1,21, düzenli mitoz bölünme gerçekleşmesine rağmen, mayoz bölünmede tetraat aşamasında düzensizlik dikkati çekmiştir. Türler arası melez  $F_1$ 'in ana ile geriye melezlemesi başarılıdır (% 1.73). Bu meyvelerden fide elde edilmiştir. Türler arası melez  $F_1$  hibrit *Verticillium* solgunluğuna karşı dayanıklıdır. Bu göstermiştir ki *S. torvum* patlıcan çeşitleri için, dayanıklı geni iyi bir vericidir.

Pessarakli ve Ramdane (2004) patlıcanda meyve kalitesinin yükseltilmesi, verimin artırılması için ıslah ve tozlaşma hakkında yenilikleri özetledikleri çalışmalarında; canlı polenin çimlenme kapasitesi; çevre koşulları, çimlenme ortamındaki besin miktarları, ortamın nemi sıcaklığı, hava basıncı ve pH, *in vitro*'daki polen çimlenmesini etkilediğini. Eğer bunlar ortamda yeterli değil ise polen canlılığı yüksek bile olsa çimlenmenin gerçekleşmediği. Patlıcan çiçeği kendine döllenmiş olduğu halde meyve tutumu ve tohum oluşumu için genellikle tozlayıcı gerektiği. Serada domates, biber, patlıcan üretiminde tozlanmayı sağlamak amacıyla bambus arı kullanımını önermektedirler.

Daunay ve ark. (1998a), 10 yıldan bu yana INRA tarafından toplanan taksonomik kriterlere göre seçilmiş, patlıcan ile ilgili *Solanum* türleri ile bir koleksiyon yapmıştır. Hali hazırda bu koleksiyon 80 tür ve 600 çeşidi içermektedir. Bu genetik kaynak *V. dahliae* ve *Meloidogyne incognita*'ya dayanıklı ve patlıcanla melezlenebildiği ölçüde değerlidir. Bunların ciddi anlamda çimlenme ve dormansi problemlerinin olduğu anlaşılmıştır. INRA'daki uzmanlar kötü çimlenme sebebini anlamış ve olumlu koşullarda iyi çimlenme elde etmişlerdir. Çimlenme çalışmalarında 5 faktörde çalışılmış bunlar;

1. Türler: *Solanum cinereum*, *S. phlomoides*, *S. melanospermum* ve *S. torvum* türleri kullanılmış ve bu türlerde standart koşullarda farklı çimlenme yüzdeleri belirlenmiş.
2. Termoperiyot: bu çalışma 2 seviyede yapılmış ilki 32 °C'de gündüz/ 24 °C'de gece dönüşümlü, diğeri ise sürekli 32 °C'dir.
3. Fotoperiyot; çalışma 2 seviyede yapılmış; uzun gün 16 saat ve kısa gün 8 saat.

4. Kimyasal aşındırma; tohum testalarında çalışma 4 seviyeli, H<sub>2</sub>O (kontrol), NaClO solüsyonda 60 dakika (dk), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15 dk, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15 dk.

5. Embriyonun hormonal olarak uyarılması; uygulama 2 seviyeli; GA<sub>3</sub> ile 500 ppm ve GA<sub>3</sub> olmadan 24 saat bekletme.

Sonuç olarak; GA<sub>3</sub>'in standart koşullarda çimlenmesi düşük olan türlerde, çimlenmeyi yükseltici etkisi olmuştur. Fakat dormant türlerin çoğunda (*S. phlomoides* ve *S. melanospermum*) GA<sub>3</sub> kullanımı ile bile çimlenme seviyesi %100'lerden oldukça uzak kalmıştır. Çimlenme GA<sub>3</sub>'in uygulandığı durumda kimyasal aşındırma uygulamasının çimlenmenin yüzdesini arttırdığı, dönüşümlü termoperiyodun çimlenmenin yüzdesini daha az yükselttiği, fakat fotoperiyot uygulaması sonucu çimlenmenin yüzdesinde bir değişiklik gözlenmediği belirtilmektedir.

Anasal (maternal) etki veya anasal tesir, yavruların fenotipindeki belirli bir özelliğin, yumurtada mevcut olan çekirdek gen ürünlerinin kontrolü altında olduğunu belirtmektedir. Bu tip kalıtım, her iki atanın çekirdek genlerindeki bilginin yavrunun fenotipini belirlemek üzere aktarıldığını gösteren iki-ebeveynli kalıtım modeline zıttır. Anasal etki durumunda, dişi gametlerdeki genetik bilgi transkripsiyona uğrar ve genetik ürünler (ya protein şeklinde ya da translokasyona uğramamış RNA halinde) yumurta stoplazmasında bulunur. Döllenmeyi takiben bu ürünler erken gelişim sırasında ortaya çıkan özellikleri etkiler (Klug ve Cummings 2003).

Nascimento ve ark. (2003) Brezilya'da "Çiça" hibrit patlıcan çeşidinin polenin depolama boyunca canlılığını belirlemişlerdir. Polen, vibratörler yardımı ile ana hatlardan toplanmış. Polen ependorf mikrotüpler içerisinde alüminyum kutularda silikajel ile birlikte buzdolabında 5 °C depolanmış. Çiçekler; elle 0 ila 60 günlük polenler kullanılarak, 10 gün ara ile tozlanmıştır. Döllenme, meyvedeki % tohum üretimi, tohum ağırlığı ve çimlenme belirlenmiş. 30 günden daha fazla depolanan polen ile çiçekte yapılan tozlamada düşük döllenme tespit edilmiştir. Poleni 50-60 gün depolanan meyvelerde düşük tohum kalitesi tespit edilmiştir. "Çiça" patlıcan çeşidi Brezilya koşullarında polen depolamasının; yüksek döllenme, optimum tohum üretimi ve yüksek tohum kalitesi için 20 günü geçmemesi gerektiği tespit edilmiştir.

### 3.3. MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma, 2004-2006 yılları arasında Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Sebzeçilik Bölümü Seralarında gerçekleştirilmiştir.

#### 3.3.1. Materyal

Çalışma kapsamında yapılan denemelerde bitkisel materyal; “K-1” ve “K-2” *V. dahliae*'ya dayanıksız çeşitler ile patojenisite testi sonucu tolerant olarak belirlenen “DK-5” hattı ve yapılan birçok çalışma ile çalışmamızda yapılan patojenisite testinde de dayanıklı olarak belirlenen INRA'dan temin edilmiş olan yabancı türler; *S. torvum* MM 353 (Şekil 3.1), *S. sodomium* (Şekil 3.2) kullanılmıştır.



Şekil 3.1. *Solanum torvum* yabancı patlıcan türüne ait meyve olgunluğu dönemindeki bitkilerin görünümü



Şekil 3.2. *Solanum sodomium* yabani patlıcan türüne ait meyve olgunluğu dönemindeki bitkilerin görünümü

### 3.3.2. Yöntem

#### 3.3.2.1. Yabani Türlerde Çimlenme Öncesi Kimyasal Uygulama

INRA'dan temin edilen tohumlara, çimlenmede sorun yaşanmaması amacıyla 500 ppm dozunda gibberellik asit ( $GA_3$ ) 24 saat boyunca uygulanmıştır.

#### 3.3.2.2. Ümitvar Görülen Bitkilerin İkinci Yıl Yaşatılması

2004 yılında yapılan patojenisite testi sonucu ümitvar (*V. dahliae* Kleb'e dayanıklı/tolerant) görülen bir hat ile "K-1" ve "K-2" çeşitlerini yaşatmak (böylece yılda iki sezon ürün olarak ıslah çalışmasında yıl kazanılmıştır) amacıyla bitkiler büyük saksılara alınarak sıcak ve ışıklı sera ortamında, kış boyunca gerekli bakım işlemleri yapılarak bitkilerin yaşaması sağlanmıştır.

#### 3.3.2.3. Melezleme

Sera koşullarında bir yandan "K-1", "K-2" çeşitleri ile "DK-5" *V. dahliae* tolerant hat melezlenir iken, diğer taraftan yabani çeşitler ile kültür çeşitleri

melezlenmiştir. Daha fazla Kùltür çeşidi (ana) x Dayanıklı genitör (baba) olarak kullanılarak melezleme işlemlerine yapılmaya çalışılmakla birlikte, genelde melezlemeler resiprokal olarak yapılmıştır (Demir 1975).



Şekil 3.3. Melezleme için kullanılan uygun aşamadaki patlıcan çiçeğinden görünüm



Şekil 3.4. Emasküle edilmiş patlıcan çiçeğinin görünümü.



Şekil 3.5. Tozlama sonrasında keselenmiş patlıcan  
çiçeğinin görünümü

#### 3.3.2.4. Kendileme

Dayanıklı/tolerant olarak belirlenen genitörün kışı sağlıklı geçirmesi sonucu mart ayında melezleme yapılmıştır, melezleme işleminden sonra genetik olarak resesif olan *V. dahliae* klasik testlemede hastalığın F<sub>2</sub> generasyonundaki dağılımını belirlemek amacıyla, aynı yaz döneminde ikinci üründe kendileme işlemleri yapılmıştır.

#### 3.3.2.5. Tohum Ekimi:

*V. dahliae*'ya tolerant olarak görülen bitkilerden alınan F<sub>1</sub> kademesindeki tohumlar yine haziran ayı içersinde saksılara ekilmiştir. Temmuz ayında seradaki yerlerine alınmıştır.

#### 3.3.2.6. F<sub>2</sub> Bitkilerinin Elde Edilmesi:

*V. dahliae* resesif ve çok genle idare edilen bir hastalık olması sebebiyle F<sub>1</sub> kademesindeki bitkilerde dayanıklı/tolerant bitkileri seçmemiz mümkün olmadığı için, F<sub>1</sub> tohumlarının ekilerek tüm kültürel işlemler yerine getirilerek yetiştirilen bitkilerin kendilenmesi suretiyle F<sub>2</sub> bitkilerini oluşturan tohumlar elde edilmiştir.

### 3.3.2.7. Meyve Dış Yüzey Renk Ölçümü

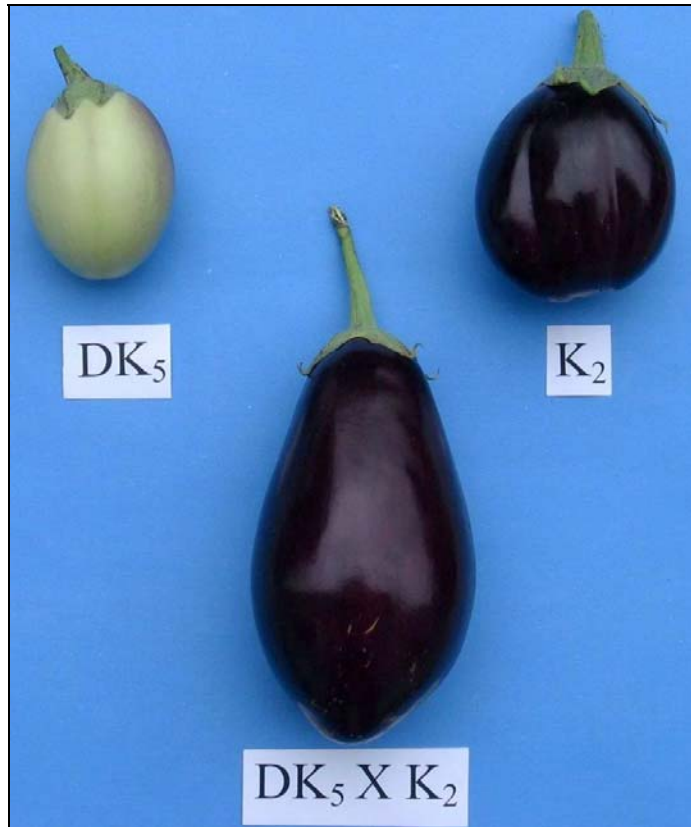
Meyve dış yüzeyinde rengin belirlenmesinde, meyvenin dış yüzeyinde 1 cm'lik bölgeden CIE L\* (parlaklık), a\* (+ kırmızı-yeşil), b\* (sarı-mavi) modunda yapılan ölçümler Minolta Kromometre (CR-300, Minolta, Ramsey, NJ) ile ölçülmüş ve alet kullanımından önce beyaz tabaka ile kalibrasyonu yapılmıştır. L\* değeri 100'e yaklaştıkça maximum değerini almakta ve bu renk beyaz renge gönderilen ışığın %100'ünün yansımaya esasına dayanmaktadır. a\* değeri yeşilden kırmızıya, b\* değeri ise sarıdan maviye renk değişimini göstermektedir. Değerlerin artan biçimde negatif veya pozitif olmaları rengin koyulaşması anlamına gelmektedir (Eriş ve ark. 2000).

### 3.4. BULGULAR

#### 3.4.1. Melezleme

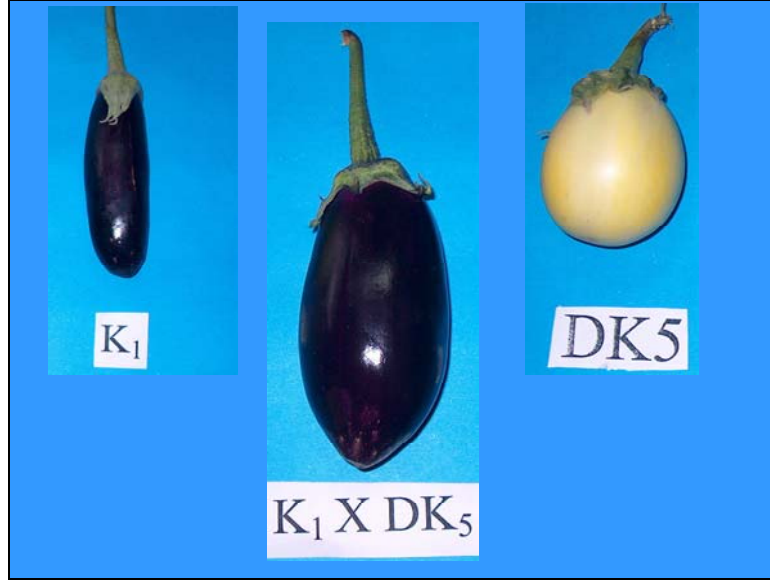
INRA'dan temin edilen tohumlara, çimlenmede sorun yaşanmaması amacıyla 500 ppm dozunda gibberellik asit ( $GA_3$ ) 24 saat boyunca petrilerin içersinde uygulanmıştır. Uygulama sonucu bu tohumlar saf sudan geçirilerek ekim yapılmıştır ve bu tohumların çıkışında sorun yaşanmamıştır. Daha sonra pişkin fide aşamasında seradaki yerlerine dikim yapılmıştır.

2004 yılında yapılan patojenisite test sonucu dayanıklı/ tolerant olarak belirlenen tek hat "DK-5" olunca 2005 yılında melezleme, kendileme ve geriye melezleme çalışmalarına, standart çeşitler ("K-1", "K-2") ve "DK-5" hattı ile devam edilmiştir. 2005 yılında melezleme tamamen resiprokal olarak planlanmıştır; yapılan melezler K-1 X DK-5, DK-5 X K-1, K-2 X DK-5, DK-5 X K-2 şeklindedir. Bu melezlerin sonunda elde edilen meyve şekil ve rengi Şekil 3.6, 3.7., 3.8, 3.9'de görüldüğü gibi olmuştur. Özellikle DK-5 x K-2 melezinde, her iki ebeveynin şekilleri topan guruba girdiği halde melez meyvenin şeklinin armudi olduğu dikkati çekmiştir.

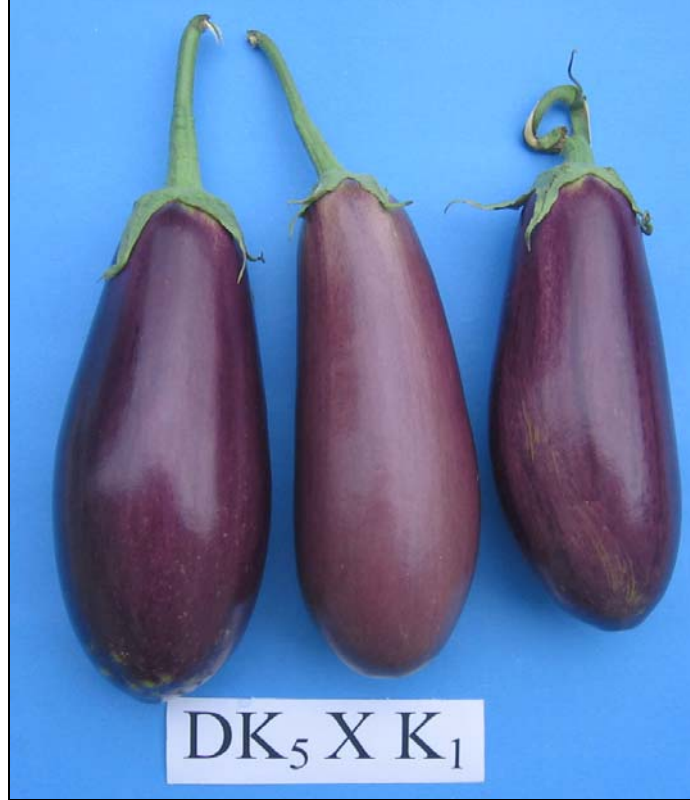




Şekil 3.6. “DK-5” hattı ile “K-2” çeşidinin melez meyvesinin görünüşü



Şekil 3.7. K-1 çeşidi ile DK-5 hattının ve melez meyvenin görünüşü



Şekil 3.8. DK-5 X K-1 melezinin meyvesinin görünümü



Şekil 3.9. K-1 X DK-5 ve DK-5 X K-1 melezlerinin meyvelerinin görünümü

### 3. 4.2. Meyve Dış Yüzey Renk Ölçümü

2004 ve 2005 yıllarında yukarıdaki şekillerde (Şekil 3.6, 3.7, 3.8, 3.9) görüldüğü gibi resiprokal yapılan melezleme işleminde DK-5 çeşidi ana olduğu durumda (Şekil 3.6,3.8 ve 3.9) oluşan meyve rengi açık olmaktadır. DK-5 çeşidinin baba olduğu durumda renkte bir açılma gözlenmemiştir (Şekil 3.7 ve 3.9).

Çizelge 3.1. Minolta Renk Ölçüm Cihazı ile Yapılan Ölçüm Değerleri

Çeşit	L	A	B
DK-5	69.72	-10.42	33.13
K-1	28.69	6.48	-0.03
K-2	26.44	5.08	0.25
K-1 X DK-5	32.46	13.48	-1.02
DK-5 X K-1	89.38	14.32	5.23
K-2 X DK-5	33.40	22.66	-3.02
DK-5 X K-2	29.80	8.87	1.29

Çizelge 3.1 de görüldüğü gibi DK-5 hattının Minolta renk ölçüm cihazı ile yapılan ölçümde L parlaklık renk değeri 69.72 iken, K-1 çeşidinin 28.69, K-2 çeşidinin 26.44 olarak tespit edilmiştir. Şekil 3.7 de görüldüğü gibi K-1 X DK-5 melezinin meyvelerinin renginde açılma görülmemiştir ve yapılan ölçümde L değeri 32.46 olarak belirlenir iken, DK-5 X K-1 melezinin meyvelerinin rengi oldukça açılmıştır ve renk ölçümü sonunda L değeri 89.38 olarak tespit edilmiştir. DK-5 X K-2 melezinin meyve renginde açılma oluştur fakat DK-5 X K-1 melezinde olduğu kadar renkte açılma görülmemiştir, nitekim renk ölçümü sonucu L değeri 29.80 olarak belirlenmiştir. Bunun yanı sıra K-2 X DK-5 melezinde renk 33.40 olarak tespit edilmiştir.

Ayrıca yabani çeşitler ile kültür çeşitleri arasında yapılan melezleme çok azda olsa başarılıdır. Bu türler arası melez  $F_1$  (*S. torvum* x K-1) kısır ve morfolojik özellikleri belirlenmiştir. Melez  $F_1$ , yaprak şekli ve diken bölgeleri *S. torvum*'a benzer iken, dikenlilikte azalma dikkati çekmiştir. Çiçek rengi, *S. melongena* ile *S. torvum* arasında olduğu, melez bitkinin dallanma şekli *S. torvum*'a benzer iken, melez bitkinin dallarının rengi *S. torvum*'a göre biraz daha açık renk olduğu tespit edilmiştir. *S. torvum*'un dal

rengi mor iken, melez bitkinin dallarında mor renk görülmekle birlikte yeşil rengin hakim olduğu dikkati çekmiştir.



Şekil 3.10. *S. torvum* yabani patlıcan türüne ait meyve olgunluğu döneminde (solda), *S. torvum* x K-1 melez (sağda) bitkilerin görünümü

### 3.4.3. Ümitvar Görülen Bitkilerin İkinci Yıl Yaşatılması

2004 ve 2005 yıllarında yapılan patojenisite test sonucunda dayanıklı/ tolerant olarak belirlenen DK-5 hattını kaybetmemek ve devam eden çalışmalarımızın daha sağlıklı bir şekilde devam edebilmesi ve sonuca daha kısa zamanda ve daha sağlıklı olarak ulaşmak amacıyla kışında yaşamaları sağlanmıştır. Ayrıca yine aynı amaçla bahar başlangıcında melezlemelerde kullanmak üzere K-1 ve K-2 çeşitleri de aynı sistemde kışın yaşatılmışlardır. Bunu sağlar iken çalışmamızı yürüttüğümüz enstitümüzde ısıtılmalı seramız olmadığı için cam sera içersine tekrardan plastik sera örtüsü ile ikinci bir sera oluşturmaya çalışılmıştır.



Şekil 3.11. Melezleme ve kendileme işlemlerinde zaman kazanmak amacıyla ikinci yıl yaşatılan patlıcan bitkilerinden görünüm

Sera oluşturulduktan sonra 2004-2005 kış sezonu ve 2005-2006 kış sezonu boyunca bu bitkilerin tüm kültürel bakım işlemleri yapılmıştır. Isıtma plastik örtünün içersine yerleştirilen petekler sayesinde gerçekleştirilmiştir. Bu bakım işlemleri sonunda bitkiler kışı sağlıklı bir şekilde geçirerek bahar ayında çok daha erken çiçeklenmişlerdir. Bunlarda yapılan kendileme ve melezlemelerde, yeni ekilen tohum ve yerlerine alınan fidelere göre çok zaman kazanılmıştır.



Şekil 3.12. ikinci yıl yaşatılan ve erken ilk baharda melezleme işlemi gerçekleştirilerek 25 haziran tarihinde tohum alımı için uygun aşamaya gelmiş DK-5 X K-1 melez meyvesinin görünümü

18 Nisan 2005 tarihinde melezlenen DK-5 X K-1 melezi 25 haziran 2005' te bu resimde görüldüğü şekilde tohum alımı için uygun aşamaya gelmiştir. Daha sonra bu meyveden çıkarılan tohumlar uygun koşullarda kurutma işleminden sonra 30 haziran ayı itibariyle tohum ekimi gerçekleştirilmiştir. Temmuz ayı içerisinde pişkin fide aşamasına gelen fidelerin yerlerine dikimi yapılmıştır. Bu fidelerin düzenli bakım işlemleri yapılmıştır. Daha sonra bu bitkilerin kendilenmesiyle F<sub>2</sub> ve daha sonra geriye melezleme gerçekleştirilmiştir.



Şekil.3.13. 2004 ve 2005 yıllarında yapılan patojensite test sonucunda

dayanıklı/ tolerant olarak belirlenen DK-5 hattının 2. yaş görünümü

Şekil 3.13. de bir kış geçirdikten sonra DK-5 hattının 2. yaşında bitkilerin oldukça fazla boylandıkları görülmekte. Bunun yanı sıra Şekil 3.13. de görüldüğü gibi patojenisite testinden 2004 yılında yapraklardaki sararmadan yola çıkarak elde edilen % 38 hastalık şiddeti ile patojenisite testinde en iyi sonucu veren DK-5 hattı, zaten patojenisite testinde de saksının içerisinde olan bitkiler, testten en iyi sonuçla çıkınca daha büyük saksılar içersine alınarak gübrelenmiş ve kışı sağlıklı bir şekilde geçirmeleri için gerekli tüm olanaklar sağlanmıştır. Bu bitkiler saksı içersinde patojenisite testi sonunda Bitki koruma serasından Sebzeçiliğin serasına getirildiğinde zaten durumları kötü olmadığı

için ve ardından gübrelenerek tüm bakım işlemleri düzenli olarak yapıldığı için DK-5 hattının bitkilerinin kökleri saksıdan dışarı çıkarak toprağın derinlerine gitmiştir ve bunun sonucunda bitki boyu oldukça fazla artmıştır. Sadece melez işlemlerini gerçekleştirebilmek için ( patojenisite test sonucu 2004 yılında K-1 : %88, K-2: %70, 2005 yılında K-1 : %86, K-2: %83 ) Bitki Koruma Serasından, Sebzeçilik Serasına alınan K-1 ve K-2 kültür çeşitleri zaten patojenisite testinden iyi durumda çıkmayınca Sebzeçilik serasında DK-5 hattı ile aynı bakım işlemleri de uygulansa bitkiler toparlanamamış ve boylanmamıştır (Çizelge 3.2). Fakat melez işlemleri için gerekli çiçek bu çeşitlerden temin edilebilmiştir.

Çizelge 3.2. İki yıllık Patlıcan Çeşitlerinde ve Hattında Bitki Özellikleri (2005)

Çeşit	Bitki Uz. (cm)	Gvd Uz. (cm)	Boğum Arası Uz. (cm)	Yaprak	
				En (cm)	Boy (cm)
K-1	112.6	11.2	9.0	10.7	17.8
K-2	76.4	6.8	5.3	9.3	15.9
DK-5	166.6	14.4	3.2	11.1	17.8

Gvd=gövde, Uz=uzunluk

Çizelge 3.2'deki değerler 2005 yılı yaz ayında ölçülmüştür. Çünkü bu bitkiler Sebzeçilik serasına 2004 yılı Kasım ayında alınmıştır ve bir kışı yukarıda anlatılan şekilde iki kat örtü içinde geçirdikten sonra 2005 yılının yaz aylarında buradaki bitkiler Çizelge 3.2'deki ölçüm değerlerine sahip olmuşlardır.



### 3.5. TARTIŞMA

Islah çalışmalarının temelini oluşturan kendileme ve melezleme çalışmaları, bir çok projenin amacına ulaşmasında için zaman zaman devreye girmesi gerekli ara işlemlerden birisidir. Islah denince daha çok akla melezleme gelir. Özellikle yeni çeşit geliştirmede melezleme ıslahına başvurulur. Melezlemede esas, genotipik varyasyon yaratmaktır. Bitki ıslahında melezleme, genetik varyasyonu çoğaltmak ve istenen allelleri bir araya getirmek amacıyla uygulanır. Hastalıklara dayanıklılık ıslahı çalışmalarında kendileme ve melezleme mutlak kullanılmak zorunda olan ıslah teknikleri olması sebebiyle bu çalışmanın temelini oluşturan melezleme, kendileme çalışmaları 2004 ve 2005 yıllarında devam etmiştir. Özellikle kendileme ve melezleme yapmak amacıyla, dayanıklı, dayanıksız genitörler ve yabani hatların ekimini yapılırken yabani hatlara 500 ppm dozunda gibberellik asit (GA<sub>3</sub>) 24 saat boyunca uygulanmıştır. Uygulama sonucu bu tohumlar saf sudan geçirilerek ekim yapılmıştır ve bu tohumların çıkışında sorun yaşanmamıştır. Daunay ve ark. (1998a)'nın yapmış oldukları çalışma sonunda, GA<sub>3</sub>'in standart koşullarda çimlenmesi düşük olan türlerde, çimlenmeyi yükseltici etkisi olduğu sonucu ile paralellik göstermektedir.

2004 yılında bir taraftan dayanıksız, dayanıklı ve yabani hatlar patojenisite testi ile klasik olarak testlenir iken, diğer taraftan zaman kazanmak açısından sera koşullarında yetiştirilen dayanıksız çeşitler, dayanıklı genitörlerle ve yabani hatlar ile melezlenmiştir. Burada amaç patojenisite testi sonucu dayanıklı veya tolerant hatlar ile dayanıksız çeşitlerin melezlerini aynı yıl içersinde elde etmiş olmaktır. Bu arada 2004 yılında daha fazla kültür çeşidi (ana) x dayanıklı genitör (baba) olarak kullanılarak melezleme işlemleri yapılmaya çalışılmakla birlikte, genelde melezlemeler resiprokal olarak yapılmıştır (Demir 1975). Yabani çeşitlerle yapılan bir çok melezleme sonunda sadece *Torvum* x K-1 melezi elde edilebilmiştir. Bu sonuç literatürdeki bir çok çalışma gibi Daunay ve ark. (1998b) nın yabani çeşitler ile yapmış oldukları bir çok resiprokal melezlemeler sonucu varmış oldukları; yabani türler ana olarak kullanıldığı zaman genellikle meyve tutumu başarısız olmaktadır sonucu ile ters düşmektedir. 2004 yılı vejetasyon periyodu sonunda melezleme yapılan tüm hatlardan tohum temin edilmiştir. Yine 2004 yılında yapılan patojenisite test sonucu dayanıklı/ tolerant olarak belirlenen tek hat "DK-5" olmuştur. 2005 yılında melezleme çalışmaları "K-1", "K-2" çeşitleri ve "DK-5" hattı ile devam edilmiştir. Ayrıca yabani hatlar ile olan melezlerde kültür çeşitleri ile geriye melezlemeler yapılmıştır, fakat vejetasyon sonunda yapılan geriye

melezlemelerin hiç birinden tohum alınamamıştır. Bu sonuç Bletsos ve ark. (2000)'nın çalışması ile kısmen paralellik göstermektedir. Bletsos ve ark. (2000) "Emi", "Tsakoniki", "Langada" Yunan çeşitleri ile yabancı türlerden *Solanum torvum*, *Solanum sisymbriifolium*'un melezlenmesini başarmıştır. Yalnız Beletsos ve ark (2000) türler arası melez F<sub>1</sub> hibrit yalnızca *S. torvum* ile Yunan patlıcan çeşitlerinden elde ettiklerini beyan etmişlerdir. Bizim çalışmamızın devamında bu yönde geriye melezleme çalışmaları yoğun şekilde devam edecektir. 2005 yılında melezleme çalışmaları "K-1", "K-2" ve "DK-5" hattı ile tamamen resiprokal olarak planlanmıştır; yapılan melezler K-1 X DK-5, DK-5 X K-1, K-2 X DK-5, DK-5 X K-2 şeklindedir. Bu melezlerin sonunda elde edilen meyve şekil ve rengi Şekil 3.6, 3.7., 3.8, 3.9'da görüldüğü gibi olmuştur. Çizelge 3.1 de görüldüğü gibi DK-5 hattının Minolta renk ölçüm cihazı ile yapılan ölçümde L parlaklık renk değeri 69.72 (beyaz renge oldukça yakın) iken, K-1 çeşidinin 28.69, K-2 çeşidinin 26.44 olarak tespit edilmiştir. Şekil 3.5 de görüldüğü gibi K-1 X DK-5 melezinin meyvelerinin renginde açılma görülmemiştir ve yapılan ölçümde L değeri 32.46 olarak belirlenir iken, DK-5 X K-1 melezinin meyvelerinin rengi oldukça açılmıştır ve renk ölçümü sonunda L değeri 89.38 olarak tespit edilmiştir. DK-5 X K-2 melezinin meyve renginde açılma oluşur fakat DK-5 X K-1 melezinde olduğu kadar renkte açılma görülmemiştir, nitekim renk ölçümü sonucu L değeri 29.80 olarak belirlenmiştir. Bunun yanı sıra K-2 X DK-5 melezinde renk 33.40 olarak tespit edilmiştir. Meyvelerde ananın DK-5 hattı olduğu melez çalışmaları sonucu rengin açık olması, DK-5 hattının baba olduğu melez çalışma sonucu renkte değişim olmaması sitoplazmik etki (anasal etki) den kaynaklandığı düşünülebilir. Bu bizim çalışma konumuzun amacı olmaması ve zamanın sınırlı olması nedeniyle çok uzun üzerinde duramadığımız fakat dikkati çeken bir konu olmuştur ve bu bulunan sonuç Klug ve Cummings (2003), anasal (maternal) etki veya anasal tesir, yavruların fenotipindeki belirli bir özelliğin, yumurtada mevcut olan çekirdek gen ürünlerinin kontrolü altında olduğunu belirtmesi ile paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda emaskülasyon ve elle tozlamalar aynı zamanda yapılmıştır. Bu literatürde yapılmış olan çalışmaların çoğunda izlenen yoldur. Chen (2005) çalışmalarında bu yolu izlediğini belirtmiştir.

Sonuç olarak; çalışmamızda 2004 ve 2005 yıllarında patojenisite test sonucunda tolerant olarak belirlenen "DK-5" hattı ile "K-1" ve "K-2" çeşitleri melezlenmiş ve F<sub>1</sub> bitkileri elde edilmiştir. *V. dahliae* resesif karakterde bir hastalık olduğu için klasik

testlemede  $F_1$ 'de hastalıkla ilgili herhangi bir belirti görülmek mümkün olmayacağı için kendileme yapılmıştır ve  $F_2$  bitkileri elde edilmiştir. Bunun yanı sıra yabani hatlar ile de melezleme yapılmıştır ve  $F_1$  tohumları elde edilmiştir. Bu tohumlar ekilerek kültür bitkisi ile geriye melezleme çalışmaları yapılmıştır, fakat geriye melezleme işlemi yapılmış olunan çiçeklerde dökülme olmuştur ve tohuma kadar gitmek mümkün olmamıştır.

## BÖLÜM 4. HAPLOİDİZASYON

### 4.1. GİRİŞ

Tarımda yeni kültür çeşitlerinin geliştirilmesinde kullanılan klasik ıslah yöntemleri bugüne dek geçerliliğini korumuştur. Bitki ıslahçıları heterozigot gametlerin derecesini azaltmak için melezlemede homozigot hatları kullanırlar. Homozigot hatlar ancak klasik kendileme yöntemi ile elde edilebilir. Melezleme çalışmalarında melez hatlar birkaç yıl kendilemeden sonra homozigotlaşır. Bu durum ıslah çalışmalarının süresini uzatır. Ayrıca yabancı döllen bitkilerde heterozigoti olması nedeniyle kendilemede de problemlerle karşılaşmaktadır (Çağlar ve Abak 1999, Sarı ve Abak 1996). Ancak gelişmiş ülkelerin tümünde bilinen klasik ıslah yöntemlerinin yanında süreyi kısaltıcı ve ıslah engellerini aşmada yardımcı olabilen teknolojik yöntemlerden de yararlanılmaktadır. F<sub>1</sub> hibrit geliştirmede önemli homozigot bitki elde edilmesinde uygulanan haploid tekniği son yıllarda farklı sebze türlerinde kullanım alanı bulmuştur. Ancak yöntem; bazı bitkilerde olumlu sonuçlar verirken bazı bitkilerde henüz denemelere devam edilmektedir (Şeniz 1990).

Doğada haploid bitkiler; apomixis veya partonegenesis sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu durumda, döllenmemiş yumurta hücresi, erkek gamet veya sinerjid çekirdeklerden haploid bitkiler oluşmaktadır. Haploid bitkilerin elde edilmesinde ise; ışın uygulaması, ısı şoku, uzak akrabalar arası melezleme, geç tozlama, dölleme kabiliyetinde olmayan çiçek tozları ile tozlama ve farklı kimyasalların kullanılması gibi yöntemlerle yumurta hücresi, sinerjitler veya polen danesinden haploid bitkiler elde edilmektedir (Hatipoğlu 1997).

Haploidizasyon, bir bitki materyalinin homozigot hale getirilmesi için ard arda yapılması gerekli kendilemeler için iyi bir alternatiftir. Canlıların kromozomları  $2n$  yapısına sahiptir.  $n$  kromozom yapısına sahip canlılara haploid canlılar denir. Haploid yapıdaki bitkiler ıslah çalışmaları için oldukça önemlidir, çünkü homozogot yapıdadırlar.

Haploidizasyon yöntemi ve dihaploid bitkiler ıslah çalışmalarında değişik amaçlar için kullanılmaktadır. Bu durum ıslahçılar için önemli avantajlar sağlar (Elliältiođlu ve ark. 2001).

a. Haploidleri kullanmanın en başta gelen avantajı, tam bir homozigot bitkiyi çok kısa bir sürede elde etme olanağını sunmasıdır. Dihaploid hatların kullanılmasıyla genetik ve ıslah çalışmalarını yapmak kolaylaşmakta ve sonuca daha çabuk ulaşılabilmektedir. Yabancı döllenmiş türlerde heterozigoti oranı çok yüksek olduğundan bunlarda homozigot hatların elde edilmesi için 10-12 generasyon boyunca kendilemeler gerekmekte; kendine döllenmiş türlerde bile aynı amaçla 5-7 generasyon kendileme işlemine gereksinim duyulmaktadır. Dihaploidizasyon yöntemi kullanılarak homozigot hatlara bir generasyonda ulaşmak olasıdır.

b.  $F_1$  hibrit çeşitlerin geliştirilmesinde homozigot hatlar arasında üstün kombinasyon yeteneği verenlerin belirlenmesi yöntemi kullanıldığından, haploidinin hibrit çeşit ıslahında özel bir önemi bulunmaktadır. Dihaploid bitkilerden elde edilen safhatlar  $F_1$  çeşit ıslahında ebeveyn olarak kullanılabilirler.

c. Haploidler ve bunların katlanması ile geliştirilen dihaploidler sitolojik, fizyolojik ve genetik açıdan önemli deneysel materyallerdir.

d. Islah etkinliğinin artırılması, haploidizasyonun sağladığı en önemli avantajlar arasındadır. Bu etkinlik artışı iki şekilde açıklanmaktadır:

1. Dihaploid bitkilerin döllerinde bir açılım olmadığı için genotipler arasında çok iyi bir eliminasyonun yapılması.

2. Dominansinin etkisinin kalkması ve eklemeli gen etkisinin ikiye katlanması.

Haploid bitkiler, farklı patojenler ve patojenlerin fizyolojik ırklarına karşı *in vitro* seviyede seçime olanak vermekte, hastalıklara dayanıklılık çalışmalarında zaman, yer ve maddi kazanç sağlamaktadır (Ellialtıoğlu ve ark. 2001).

Bitki doku kùltürü teknikleri içersinde, haploid bitkiler elde edilmesini sağlayarak ıslah çalışmalarına hizmet eden anter kùltürü ayrı bir öneme sahiptir. Anter kùltürü esas olarak, içersinde olgunlaşmamış çiçek tozlarını (mikrospor) bulunduran anterlerin tomurcuklardan izole edilerek *in vitro* koşullarda yapay besin ortamlarına alınması ve burada olgunlaşmamış çiçek tozlarından haploid embriyolar elde edilmesi olayına verilen isimdir. Yeni F<sub>1</sub> hibrit çeşitlerinin geliştirilmesi ve yerel populasyonların saflaştırılması amacıyla generasyonlar boyu sürdürölen kendileme işlemi, anter kùltürü yoluyla devre dışı bırakılabilmekte ve yeni çeşitlerin ıslah edilmesi için gereken süre klasik yöntemlere göre büyük ölçüde kısaltılabilmektedir (Ellialtıoğlu 2005).

Doğada çeşitli şekillerde kendiliğinden ortaya çıkan haploidi uzun yıllardan beri bilinmekle birlikte, spontan haploidlerin ortaya çıkış oranı ve sıklığı çok azdır (Karakullukçu 1991). Bu nedenle ıslah programlarında kullanım şansları çok sınırlıdır. *In vitro* teknikler kullanılarak haploid bitkilerin elde edilmesi ve bunların kromozom sayılarının kimyasal madde yardımıyla iki katına çıkartılması olarak özetlenebilecek dihaploidizasyon tekniği, bitki ıslahçılarına geniş olanaklar sunmakta ve birçok amaca hizmet etmektedir. Haploidlerin kullanım alanlarını şöylece özetlemek mümkündür:

**Seleksiyon ıslahında :** Yetiştiriciliği yapılan karışık çeşitler ve populasyonlar kısa sürede saflaştırılabilmektedir. Elde edilen saf hatlar arazi koşullarında değişik lokasyonlarda denenerek birkaç yılda ilginç özellikleri olan, adaptasyon yeteneği geniş çeşitler geliştirebilmektedir.

**Melezleme ıslahında:** Başlangıç melezlemesinden sonra açılım generasyonlarında homozigotlaştırma için geçen 6-7 generasyonluk süre, bir generasyona indirilebilmektedir. Bu yolla kombinasyon ıslahı süresini 12-13 yıldan 5-6 yıla indirmek olasıdır (Abak 1986).

**Mutasyon ıslahında:** Haploid bitkilerde veya hücrelerde ortaya çıkan mutasyonlar, bu bitkilerin kolaylıkla diploidleştirilmesi ve homozigot hale getirilmesi nedeniyle yeni çeşitlerin hızla geliştirilmesinde kullanılabilir. Haploid hücre kùltürü, mutasyonlar ve hücre modifikasyonlarının incelendiği somatik hücre genetiği

çalışmalarında çok elverişli bir yöntemdir (Reinert ve Bajaj 1977). Ayrıca diploid materyale uygulanan mutagenlerin resesif yönde yarattığı mutasyonlar, bu materyalden çekilen haploidler yardımıyla ilk generasyonda belirlenebilmektedir.

**F<sub>1</sub> Hibrit gücü ıslahında:** Bu yöntemle ebeveyn aday olabilecek materyalin hazırlanması 5-6 dan bir yıla indirilebilmektedir. Özellikle kendine uyumsuzluk gösteren türlerde olduğu gibi kendileme ile saf hatların oluşturulmasında güçlükle karşılaşıldığında veya doğal olarak yabancı döllendikleri için kendilenmiş saf hatların eldesi uzun süren türlerde anter kültürü devreye girerek süreyi kısaltmaktadır (Ellialtıoğlu 2005).

**Hastalıklara dayanıklı çeşit ıslahında:** Dayanıklı veya duyarlı çeşitlerin melezlenmesinde elde edilen bitkilerden anter kültürü ile elde edilen haploidler katlanmakta ve bu hatların çok çok sayıda ırka mukavemeti aynı anda kontrol edilebilmektedir (Abak 1982, Abak1985).

## 4.2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bugüne dek Angiospermlerde haploid uyartımının 37 familya, 88 cins ve 247 türde gerçekleştirilebildiği bildirilmektedir. Ancak haploid üretiminin sağlanabildiği bitki cins ve türlerini kesin ifadelerle sınıflandırmak mümkün görülmemektedir. Çünkü bir cins içerisinde bile haploid oluşumu ‘çok kolay’ diye tanımlanabilecek bir düzeyden ‘olanaksız’ olarak nitelendirilebilecek bir durum arasında değişebilmektedir. *Oryza*, *Lycopersicon*, *Arabidopsis*, *Solanum*, *Triticum* ve *Nicotiana* cinslerinde, haploid oluşturma özelliği bakımından türler arasında önemli düzeyde farklılıklar bulunmaktadır. Tek yıllık veya otsu bitkilerde anter kültürü beklentilere az veya çok yanıt verdiği halde, odunsu bitkilerde anter kültüründen elde edilen başarı çok düşüktür. Androjenetik anter sayısı ve anter başına elde edilen embriyo sayısı, birçok faktörün etkisi altında bulunmaktadır. Anter kültüründen elde edilecek başarıyı etkileyen faktörlerin bir bölümü, anterlerin alındığı donör bitkiden kaynaklanmakta olup diğer bir bölümü de anter kültürü tekniğinin uygulanması sırasındaki koşullarla ilişkilidir. Bir mikrosporu, normal gelişme yönünden çevirerek sporofitik yönde gelişmeye teşvik eden mekanizma hakkında fazla bilgi bulunmamaktadır. Ancak, anter kültüründen elde edilen haploid bitki sayısı üzerinde etkisi bulunan faktörlerle ilgili çok sayıda araştırma yapılmış ve önemli bilgilere ulaşılmıştır (Ellialtıoğlu 2005).

Literatürde aynı bitki türü ve hatta çeşitlerle yapılan çalışmalardan değişik sonuçların alınması da, genotip aynı olsa bile donör bitkinin yetiştirme koşullarının anter kültüründen elde edilecek başarı üzerinde önemli düzeyde etki ettiğini göstermektedir. Bir grup araştırmacı, donör bitkilerin yetiştirildiği koşulların anter kültürü üzerindeki etkisini, anterlerin içerisinde oluşan embriyonik polenlerin oranına bağlamaktadır. Bununla birlikte donör bitki yetiştirme koşullarının etkisi, yalnızca polen morfolojisi üzerinde değil, aynı zamanda bitkideki fizyolojik ve biyokimyasal olaylar üzerindedir. Yetiştirildiği çevre koşullarının etkisi altında, aminoasitler ve büyümeyi düzenleyiciler gibi içsel maddeler bakımında farklı kompozisyonlara sahip anterler kültüre alındıklarında, bunların androjenetik verimlilik bakımından farklılık göstermeleri doğaldır. Genel olarak pek çok bitki türünde normal yetiştirme sezonunda ve açıkta yetiştirilen bitkiler; normal yetiştirme döneminin dışında sera veya iklim odası koşullarında yetiştirilen materyale göre, anter kültüründe göstermiş oldukları performans bakımından daha üstündür (Ellialtıoğlu 2005).



Çağlar ve Abak (1999), hıyarda ışınlanmış polenlerle *in situ* uyartım sonucu elde edilen değişik gelişme safhalarındaki haploid embriyoları *in vitro* kültüre alarak, bitkiye dönüştürme amacıyla 1992-1994 yılları arasında yılın değişik mevsimlerinde dört değişik hıyar genotipinden elde edilen embriyolar steril koşullar altında E20A ortamı üzerinde kültüre alınmışlardır. İleri safhasındaki haploid embriyolar globüler safhadakilere göre daha kısa sürede (3.5 günde) ve daha yüksek oranda (1. yıl %60, 2. yıl %80) bitkiye dönüşmüşlerdir. Mayıs-eylül ayları arasında *in vitro* kültüre alınan embriyolardan yılın öteki dönemlerine göre daha fazla sayıda haploid bitki elde edilmiştir. İkinci yıl haziran ayında embriyoların bitkiye dönüşmeleri %80'e ulaşmıştır.

Mikrospor tanelerinde nişasta birikimi, anter kültürü için kritik bir önem taşımaktadır. Birinci polen mitozunu geçirdikten sonra mikrosporlarda nişasta birikimi artmakta ve artık bu aşamaya gelmiş olan mikrosporları embriyo oluşturmak üzere sporofitik gelişmeye yönlendirme şansı kalmamaktadır. Düşük sıcaklıklarda; birinci polen mitozu aşamasında tutuklanan mikrospor sayısında artış olmakta ve nişasta üretimi bloke edilmektedir. Bilindiği gibi nişasta içeriği düşük tek çekirdekli mikrosporlar, kültür koşullarında embriyo oluşturmak üzere sporofitik gelişmeye doğru daha kolay yönlendirilebilmektedir (Foroughi-Wehr 1993).

Ellialtıoğlu ve Tıprıdamaz (2000) tarafından patlıcanda anter kültürü üzerine yapılan çalışmada kemer patlıcan çeşidine ait çiçek tomurcuklarına yapılan soğuk şoku uygulamalarının ve besin ortamına katılan aktif kömürün, anterlerdeki içsel absizik asit miktarı üzerine etkilerini incelenmiştir. Soğuk şok +4°C'de 80 saat veya +9°C'de 5 gün tutulmak suretiyle uygulanmıştır. Aktif kömür ise, rejenerasyon ortamında %0.1, %1 ve %2 dozlarında olacak şekilde ilave edilmiştir. Denemelerde kullanılan soğuk şokları ve aktif kömür katkısı, patlıcan anterlerindeki ABA miktarını azaltırken; embriyo oluşturma yönünde olumlu bir etki yapmamıştır. Embriyolar sadece kontrol ortamlarından elde edilmiştir (% 7.75).

Abak (1984), biberde 5 mg/l kinetin ve 5 mg/l 2,4-D içeren ortamlarda şeker ve demir konsantrasyonlarının yükseltilmesinin haploid embriyo ve bitki oluşumunu mümkün kıldığını, 90 ve 120 g/l şeker içeren ortamlarda, demir konsantrasyonunun da iki katına çıkartılmasının, hem embriyo, hem de bitki oluşumunu önemli düzeyde yükselttiğini belirtmiştir.

Karakullukçu (1991) tarafından 13 patlıcan çeşidinde yapılan 8 ayrı denemenin sonucunda, patlıcanda androgenesis olayının genotiple yakın bir ilişki içinde olduğu görülmüştür. Kullanılan çeşitler içerisinde yalnızca Halep Karası ve Baluroi F<sub>1</sub> çeşitlerinden haploid bitki elde edilebilmiş, Prelane F<sub>1</sub> ve Kemer çeşitlerinde de embriyolar oluşmuş ancak bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. Diğer çeşitlerden (Dourga, Pala, Adana, Topan, Şeytan, Black Beauty, Marfa F<sub>1</sub>, Fabina F<sub>1</sub>, Galine F<sub>1</sub>) ise haploid embriyo veya bitki elde edilememiştir. Çalışmanın değişik aşamalarında toplam 22 adet embriyo ve 13 adet haploid bitki elde edilmiştir.

Karakullukçu ve Abak (1993a) patlıcanda anter kültürü yoluyla haploid bitki elde etmek için en uygun mikrospor gelişme dönemini araştırmışlardır. Pala, Kemer, Baluroi ve Prelane F<sub>1</sub> çeşitlerinin kullanıldığı denemede sekiz farklı büyüklük ve gelişme devresindeki anterler kültüre alınmıştır. Çeşitlerin meyve gelişimine göre, tomurcuk büyüklükleri veya uzunlukları arasında farklılık olmakla birlikte, genel olarak taç yaprakların seviyesinin çanak yaprakların birleşme yerinde olduğu 5. gelişme dönemi ile, çanak yaprakların hafifçe açılmaya başladığı ve taç yaprakların 1-2 mm'lik kısmının görüldüğü dönem olan 6. gelişme dönemi, patlıcan anter kültürü yoluyla haploid embriyo elde etmek için uygun dönemler olarak bulunmuştur. Bu devrede tomurcuk uzunluklarının çeşitlere bağlı olarak 22.4-24.7 mm, tomurcuk çaplarının 10.8-12.5 mm olduğu belirlenmiştir. Sitolojik incelemelerde ise bu devrenin polen mitozundan hemen önceki devreye karşılık geldiği görülmüştür. 5. ve 6. tomurcuk gelişme döneminde kültüre alınan patlıcan anterleri içinde Baluroi F<sub>1</sub> çeşidine dahil olanlar 100 anter başına 6.9 adet haploid bitki vermiştir. Diğer üç çeşitte anterler androgenik bir yapı gösterdikleri halde, embriyo oluşumu meydana gelmemiştir.

Besin ortamına değişik düzeylerde katılan bazı organik maddelerin (sakkaroz, glikoz, aktif karbon) ve büyümeyi düzenleyicilerin (kinetin, zeatin, 2,4-D, NAA) patlıcan anter kültüründe haploid bitki oluşumu üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, ilk 12 gün boyunca % 12 sakkaroz, %3 sakkaroz veya %6 sakkaroz+%6.3 glikoz uygulamalarına kıyasla daha iyi sonuç vermiştir. Aktif karbonun embriyo oluşumuna olumlu bir etkisi gözlenmemiştir. Anterler kinetin+ 2,4-D kombinasyonlarında, zeatin+ 2,4-D veya kinetin+ NAA kombinasyonlarına göre daha iyi cevap vermişlerdir. Çalışmanın değişik aşamalarında 5mg/l kinetin +5 mg/l 2,4-D ve %12 sakkaroz kullanılan ortamlarda Baluroi F<sub>1</sub> çeşidinde %12.1, kemer çeşidinde %1.5

ve Halep Karası çeşidinde %3.8 oranında embriyo elde edilmiştir (Karakullukçu ve Abak 1993 b).

Dört değişik patlıcan genotipinin anter kültürüne verdikleri yanıt incelenmiş ve bu açıdan en iyi sonuç Halep Karası çeşidinden %7.8 oranında embriyo ve %4.4 oranında haploid bitki elde edilmiştir. Adana Topağı, Birecik Yerlisi ve Black Beauty çeşitlerinin anterlerinde irileşme olmuş, kallus gelişmiş, ancak embriyo ve haploid bitki oluşmamıştır (Karakullukçu 1991).

Ellialtıoğlu (1994), yaptığı bir araştırmada patlıcan (*Solanum melongena* L. cv. Kemer) fidelerinin sürgün ucu veya gövde segmentleri ile yaprak parçalarından doku kültürü yoluyla yeni bitkilerin oluşturulması amaçlanmıştır. MS mineral tuzları + B5 vitaminleri +% 0.8 agar kullanılan besin ortamlarına , demir bileşenleri MS veya ½ MS dozunda katılmıştır. IAA, NAA ve BAP'in değişik dozlarının denendiği araştırmada IAA'nın yalnız başına bulunduğu ortamlarda sürgün uçları gelişip tam bir bitkiye dönüşmüş; gövde segmentlerinden istenen gelişme sağlanamazken yaprak eksplantları çok sayıda somatik embriyo oluşturmuştur. MS demir bileşimine sahip ve 10 mg/l NAA içeren ortamlarda yaprak eksplantlarının her birinden ortalama 26 adet somatik embriyo elde edilmiştir.

Ellialtıoğlu ve Öztürk (1998), Aydın Siyahı Patlıcan çeşidinde üç farklı embriyo gelişme dönemine sahip embriyolar kültüre alınarak bitkiye dönüşüm oranları belirlenmiş, embriyo kültürü için en uygun embriyo gelişme dönemi belirlenmiştir. Bu amaçla 27, 35 ve 40 gün yaşlı patlıcan embriyoları hormonsuz MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Üç farklı yaştaki embriyoların kültür ortamındaki yaşama oranları genelde %100'e yakın bulunmuş, ancak gelişme hızı ve kuvveti bakımından farklılık ortaya çıkmıştır. 40 günlük embriyolar çok hızlı gelişip tam bitkiye dönüşürken, bunu 35 gün yaşlı embriyolar izlemiştir. 27 günlük embriyoların gelişme hızları ise daha düşük olmuştur. Embriyoların tohum içersinden izolasyonundaki kolaylık ve gelişme hızları birlikte değerlendirildiğinde patlıcan embriyo kültürü çalışmalarında en elverişli embriyo yaşının 35 gün olduğu belirlenmiştir. Bu yöntem kullanıldığında ıslah çalışmalarında bir generasyon için gerekli sürenin teorik olarak iki ay kadar kısaltılabileceği ortaya konulmuştur.

Ellialtıoğlu (2000)'e göre, haploid bitkilerin elde edilmesinde iki yöntem vardır, ya embriyo kesesindeki haploid dokuların –normalde yumurta hücresinin- uyarılması sayesinde dişi gametten; ya da polen rejenerasyonu yoluyla erkek gametten *in vitro* koşullarda bitki oluşumunu sağlamak. Her iki yoldan da haploid oluşumu, doğada kendiliğinden ortaya çıkabilmektedir. Doğal partenogenezis veya polen embriyogenezisi yollarının her ikisi de, ıslah programları için gereksinim duyulan haploid bitkileri sağlayabilmekten çok uzaktır. Bu nedenle, haploid üretim yöntemleri geliştirilmiştir. Günümüzde DH (double Haploid Lines) hatların elde edilmesinde en başarılı yöntem olarak anter kültürü söylenebilir. Anter kültüründeki başarılı etkilleyen faktörler; donör bitkisinin genotipi ve gelişimi, anterlerin gelişme dönemi, anterlere yapılan ön uygulamalar, besin ortamı ve kültür koşulları olarak özetlenmiŐtir.

Kavunda  varyeteye dağılan 14 genotipte embriyo elde edilmiş ve bunlar *in vitro* embriyo kurtarma yoluyla bitkiye dönüŐtürülmüŐtür. Haploid *in vitro* bitkicikler 2 saat % 0.5'lik kolhisin zeltisinde tutularak ve ardından eliklenerek *in vitro*'da diploid hale sokulmuŐtur. Elde edilen diploid bitkiler daha sonra dış koşullara aktarılarak yetiŐtirilmiŐtir. DıŐarıya alıştırmada başarı oranı % 57 ile % 63 arasında değişmiştir. Serada geliştirilen tüm bitkilerden kendileme yoluyla tohum alınmış ve diploid hatlar oluŐturulmuŐtur. Haploid ve diploid bitkilerin ploidi düzeyleri yaprak dokularında akıŐkan sitometri yöntemi ve kök uçlarında kromozom sayımları ile doğrulanmıştır. Ayrıca ploidi düzeyini morfolojik olarak anlayabilmek amacıyla stoma boyutları ve bekçi hücrelerindeki kloroplast sayıları araştırılmıştır. Diploidlerde haploidlere göre stoma çaplarının % 31, stoma uzunluklarının ise % 58 daha fazla olduğu saptanmıştır. Kloroplast sayıları haploidlerde 6-8, diploidlerde 10-12 arasında değişmiştir (Abak ve ark. 1996).

Sarı ve ark. (1996), iŐınlanmıŐ iek tozları ile tozlama sonucu partenogenetik yolla elde edilen haploid bitkilerden *in vitro* koşullarda diploid hatların oluşturulması amacıyla farklı kolhisin dozları (% 0.5 ve % 1) ve süreleri (1, 2, 4 ve 6 saat) denenmiştir. Uygulamalar Sugar Baby, K-5 Karası, Crimson Sweet eŐitlerinin 3-4 haftalık *in vitro* haploid mikro çeliklerine yapılmıştır. % 0.5 yoğunlukta kolhisin uygulanan bitkilerin % 64' yaşamış ve % 56'sı gelişerek yeni bir bitkiye dönüşmüştür. % 1 dozunda ise yaşama ve gelişme oranları % 40 olarak belirlenmiştir. Denenen süreler arasında 6 saat uygulaması en fazla bitki ölümlerine neden olmuştur. Haploid bitkilerden diploidlerin elde edilmesi için *in vitro* mikro çeliklerin % 0.5'lik kolhisin

çözeltisinde 4 saat veya %1'lik kolhisin çözeltisinde 2 saat tutulmasının en uygun yöntem olduğu saptanmıştır. Daha yüksek doz ve süreler bitkilerin kuruyarak ölmesine neden olmuş; düşük doz ve kısa sürelerde bitkiler haploid kalmıştır.

Bitkilerde ploidi düzeyinin belirlenebilmesi için değişik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Bitkinin fenotipine göre yapılan ayrımlar kromozom sayısı bakımından bir fikir verse de, kuşkusuz ploidi belirlemede kullanılan en eski ve en güvenilir yöntem, hızlı büyüyen doku ve organlarda (özellikle kök uçlarında) yapılan kromozom sayımlarıdır. Ancak son yıllarda kromozom sayımlarına alternatif yöntemler de geliştirilmiş ve değişik bitki türlerinde uygulama alanı bulmuştur. Flow sitometri ve stoma hücrelerinde yapılan gözlemlere dayanarak geliştirilen yöntemler, günümüzde ploidi düzeyinin belirlenmesinde kromozom sayımlarının yanı sıra rutin olarak kullanılabilir aşamaya gelmiş yeni tekniklerdir.

Stomalar, yaprak epidermisinde gömülü olarak bulunan, havadaki karbondioksitin yaprağa girmesini, su ve oksijenin ise yapraktan çıkmasını sağlayan açıklıklardır. Değişik bitki türlerinde stomaların iriliği, dolayısıyla alanda bulunan stoma sayısı ile ploidi düzeyi arasında güvenilir ilişkiler saptanmıştır. Örneğin kereviz, tütün, Brüksel lahanası, havuç, karpuz, kavun, hıyar, kahve, biber ve kabak'ta haploid bitkilerin stomalarının diploidlere göre daha küçük olduğu, dolayısıyla birim alanda daha fazla stoma bulunduğu saptanmıştır (Ellialtıoğlu ve ark. 2001 ).

Kurtar ve ark. (2002), kabakta ışınlanmış polen tekniğini kullanarak elde ettikleri haploid ve daha sonra dihaploid hale dönüştürdükleri bitkilerde ploidi seviyesini direkt (kök ucu kromozom sayımı) ve indirekt (stoma boyutu, bekçi hücrelerindeki kloroplast sayıları ve morfolojilerinin incelenmesi) metotlar ile belirlemişlerdir. Kök uçlarında kromozom sayımı feulgen tekniği ile yapılmıştır. Stoma boyutlarının ölçülmesi ve bekçi hücrelerindeki kloroplast sayıları sürgünlerin tepe noktasındaki 7. ve 8. yapraklar kullanılarak yapılmıştır. Yaprığın altındaki epidermal tabakayı saran kılıf % 1'lik AgNO<sub>3</sub>'tan 1 damla damlatıldıktan sonra kaldırılır. Stomatal indeks, stoma uzunluğu/stoma çapı ölçülmüştür. Gelişme boyunca; ana, baba çiçeklerin anthesis periyodu, polen canlılığı, meyve tutumu ve yaprak boyutları belirlenmiştir. Sonuçta farklı dozlarda ışın uygulaması ile yapılan bu çalışmada elde edilen haploidlerde embriyoların şekli globular ve torpedo olmak üzere farklı şekillerdedir, diploidlerde ise kotiledon şeklindedir. Elde edilenlerin haploid bitkilerin %53.8'i

torpedo şeklinde embriyoya sahip iken, % 23.1'i ise yürek şeklinde embriyoya sahiptir. Kabak bitkilerinde stomatal büyüklük ve mm<sup>2</sup>'deki bekçi hücrelerindeki kloroplast sayıları ploidi seviyesinin belirlenmesinde farklı bir alternatif olarak bakılmıştır. Haploid bitkilerde stoma boyutları, miktarı ve bekçi hücrelerindeki kloroplast sayısı belirlenmiş ve diploid bitkilerde de belirlenmiştir ve kromozom sayımı ile karşılaştırılmıştır. Bunlardaki farklılık %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Bazı morfolojik özelliklere karşılaştırmalı olarak bakılmıştır. Haploid bitkilerde ana ve baba çiçekler küçük ve erkek çiçekler polen üretmemektedir. Haploidlerde dişi çiçekler normal diploid kabak poleni ile tozlandığında meyvenin tutmadığı, diploid bitkilerde meyve tuttuğu ve tohum alındığı gözlenmiştir. Haploid bitkilerin yaprak boyutları, diploid bitkilere göre daha küçük olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar göstermektedir ki, tüm metotlar başarı ile kullanılabilir. Ancak kromozom sayımı kullanışsız bulunurken, morfolojik inceleme de ise, bitkinin uygun aşamaya gelmesi için uzun zaman geçmesi gerektiği belirtilmiştir. Stoma ve kloroplast sayımı basit ve diğer yöntemlere göre daha pratik bulunmuştur.

Yapılan bir başka çalışmada 4 patlıcan çeşidinin ve 6 hibrit patlıcan çeşidinin anter kültürüne cevabı araştırılmıştır. Çiçekler uygun aşamada bahar ve yaz ayı boyunca toplanmıştır, bitkiler açık arazi koşullarında yetiştirilmiştir. Anter kültürü Dumas de Vaulx ve ark. (1982)'na göre gerçekleştirilmiştir. IAA, NAA, zeatin ve glikoz konsantrasyonu ile modifiye edilmiştir. 9050 adet kültüre alınan anterden 531'inden iyi performansta androjenetik embriyo elde edilmiştir. Anter kültürüne cevabı etkileyen özelliklerden en önemlisi genotiptir, en iyi performansı L.V. Barbentanel eşidi göstermiştir. Ortamdaki hormon içeriği de anter kültürünün başarısını etkilemektedir. Örneğin, NAA ve zeatin 'L.V. Barbentanel ve IWIR 768 X Viserbal hibrit çeşit' te embriyo yüzdesini arttırmada yetenekli bulunmuştur. Sakkaroz ve glikoz da etkili olmaktadır, yüksek konsantrasyonda en iyi sonuç alınmıştır. Oksin ve sitokinin oranlarının dengeli olması patlıcanda anter kültüründe başarıyı etkilemektedir. Bu çalışmada anter kültürü ile elde edilen bitkilerde ploidi seviyesi belirlenememiştir. Daha önce yapılan benzer çalışmada haploid ve diploid bitkilerin yüzdeleri % 35 ve % 65 olmuştur (Rotino ve ark. 1987).

Prabhavathi ve ark. (2003), anther kültürü ve haploid bitkilerin gelişmesi için bir protokol geliştirmiştir. 3 hibrit patlıcan çeşidinden alınan anterler Murashige ve Skoog's (MS) ile Gresshoff ve Doys ortamları kallus için 2,4-D, BA (benzyladenine)

yada 0.5, 1.0, 2.0 mg/l NAA içeren ortamalara dikilmiştir. Bunlar daha sonra 20-30 gün 25 °C’de inkübasyona alınmıştır. İlk önce kallus oluşmuş ve bu kültürlerle 16 saat fotoperiyot uygulanmıştır. Kalluslar 3-8 hafta sonra oluşmuştur. En yüksek % kallus oluşum oranı % 20, MS ortamında “Pant Rituraj” çeşidine ait anterlerden elde edilmiştir. Anterden ya embriyonik kalluslar oluşmakta veya direkt embriyo oluşmaktadır. Direkt oluşan embriyolar sürerler. Embriyonik kalluslar ise 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 veya 2.5 mg NAA/litre içeren çeşitli MS ortamlarına transfer edilmiştir. Bu çalışmada, ilk olarak embriyonik kallus 2.0 mg 2,4-D/l içeren ortamdan elde edilmiştir. 5 °C’de 2-3 saat anterlere uygulanan soğuk uygulaması kallus oluşumunu hızla arttırmıştır. Kallustan ilk sürme 0.2-0.5 mg NAA/l içeren MS ortamında olmuştur. Sürmeler 1.0 mg BA ile 0.2 mg IAA /l karışımı bulunan ortamlarda olmuştur. Bu eksplantlar, hormonsuz MS ortamına boylarının uzaması için transfer edilmiştir. Uzamış sürgünler yarı MS özelliğindeki ortama köklenme için transfer edilmiştir. Haploid oldukları farz edilen bitkiler dış koşullara alıştırmış ve açık araziye transfer edilmiştir.

### **4.3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **4.3.1. Materyal**

Araştırma, 2004-2006 yılları arasında Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Enstitüsü, Sebzeçilik Bölümü Seraları, Doku Kùltürü Laboratuvarı ve Doku Kùltürü Alıştırma Serasında gerçekleştirilmiştir.

#### **4.3.2. Yöntem**

##### **4.3.2.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi**

Çalışmada kullanılan “K-1” “K-2”, “K-4”, “K-5”, “DK-6”, “25”, “11” çeşitlerin ve “DK-5” hattının tohumları, yastıklarda 10'luk saksılara 6/10'ü tam yanmış gübre, 3/10'u toprak, 1/10'u kumdan oluşan harca ekim yapılmıştır. Harç 90 °C -100 °C' de buharla 45 dk- 60 dk sterilize edilmiştir. Bitkilerin gerekli kültürel bakım işlemleri yapılarak, sağlıklı olarak yetiştirilmesi sağlanmıştır.

##### **4.3.2.2. Çiçek Tomurcuklarının Toplanması**

Çiçek tomurcukları toplanırken, Karakullukçu (1991) tarafından 8 gelişme devresine ayrılmış tomurcuklar içersinden, 5. ve 6. devredeki tomurcukların alınmasına özen gösterilmiştir. Bu 8 devrenin en erkeni olan 1. devre tomurcuklarında, tomurcuklar henüz küçük (yaklaşık 1 cm boyunda) ve kapalı, anter rengi çok açık yeşilken; 8. devredeki tomurcuklar patlamak üzere, taç yapraklar pembe, anter koyu sarı, kenarları mor çizgili bir görünüm arz etmektedir. İlk devre tomurcuklarında yalnızca mikrospor ana hücrelerine rastlanırken, sekizinci aşamadaki tomurcuklarda çoğunlukla olgun polenler saptanmıştır (Şekil 4.1).





Şekil 4.1. Tomurcuk özelliklerine göre sınıflandırılan tomurcukların görünüşleri (K-1 Çeşidi)

Denemelerimizde, 5. devre tomurcuklarında çanak yapraklar açılmak ve taç yapraklar birleşme yerine gelmek üzere, anterler yeşilimsi sarı renkte, tomurcuk boyları çeşitlere bağlı olmakla birlikte 22.4 - 24.7 mm arasında, tomurcuk çapları ise, 10.1 - 11.7 mm arasında olduğu zaman alınmıştır. Bu devredeki tomurcuklardan alınan anterler içerisinde çok sayıda tek çekirdekli mikrosporun bulunduğu, bunun yanında tetratlara da rastlandığı yine Karakullukçu (1991) tarafından bildirilmiştir. 6. devre tomurcuklarında ise, taç yapraklar, çanak yaprakların birleşme yeri seviyesinde ve hafifçe görünmekte, anterler yeşil sarı renkte olup, tomurcuk boyları 23.6 - 24.6 mm arasında, tomurcuk çapları ise 11.7 - 12.5 mm arasında olduğu zaman alınmıştır (Şekil 4.2, Şekil 4.3). Bu devre tomurcuklarından alınan anterlerin içinde 1. polen mitoz, aşamasının değişik devrelerindeki mikrosporların bulunduğu, Karakullukçu (1991) tarafından belirtilmiştir.



Şekil 4.2. Patlıcanda anter kültürü için uygun tomurcuk aşaması



Şekil 4.3. Patlıcanda anter kültürü için uygun aşamadaki tomurcuğun içersindeki anterlerden görünüm

#### 4.3.2.3. *In Vitro* Kültürler

##### 4.3.2.3.1. Besin Ortamlarının hazırlanması

Dumas de Valux ve ark. (1982)'nin önerdiği C (callus) ve R (regeneration) ortam bileşimleri denemelerde kullanılan besin ortamı olmuştur. Bu temel besin ortamının bileşimi Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

DDV temel besin ortamının kullanıldığı çalışmada, anterler kültürün ilk 12 günü "C" ile simgeleştirilen ortamda tutulmuşlar, daha sonra değişik yapılara sahip "R" ortamına transfer edilmişlerdir. Ortamların tümü agar (%0.8) ile katılaştırılmıştır. Denemelerde kullanılan tüm çeşitlerde çiçek tomurcuklarından izole edilen anterler "C" ortamına dikim yapılmış; gelişme gösteren anterler 0.1 mg/l kinetin içeren R ortamına transfer edilmişlerdir.

Denemelerin tümünde besin ortamlarının pH seviyeleri otoklavlanmadan önce 5.8'e ayarlanmış, ardından ortamlar 20 dakika süreyle 121 °C'de otoklavda sterilize edilmiştir. Kültüre alma işleminde kullanılan 8 cm çapındaki cam petri kapları, besin ortamlarından önce otoklavda 125 °C'de bir saat süreyle tutularak sterilize edilmiş ve izolasyon kabininde soğumaya bırakılmıştır. Ağızları alüminyum folye ile kapatılmış ve erlenmayerler içersinde otoklavlanan besin ortamları, sterilizasyon işleminden sonra

kabin içersinde aseptik koşullarda, her bir petri kabına yaklaşık 10 ml besin ortamı düşecek şekilde doldurulmuştur. Ortamlar, petri kapları içersinde bir saat kadar bekleyince agarın etkisiyle jel kıvamına ulaşmış ve dikime hazır hale gelmiştir.

Anterlerden elde edilen bitkiciklerin geliştirilmesi için büyüme düzenleyici katkısı yapılmayan % 3 oranında sakkaroz ilave edilmiş MS ortamı kullanılmıştır. Sakkaroz ve %0.7 oranında agar katılarak pH'sı 5.7'ye ayarlanan ve kaynatılan ortamlar; 2.5x10 cm boyutlarındaki cam tüplere, 10'ar ml doldurulmuş ve ağzı cam kapak ile kapatılmıştır. Sterilizasyon işlemi tamamlanan ortamlar dikimi hazır hale getirilmiştir.

Çizelge 4.1. Denemede Kullanılan Dikim Ortamının Bileşimleri (Karakullukçu 1991).

<b>Mikro Bileşikler</b>	<b>(mg/l)</b>	<b>Mikro Bileşikler</b>	<b>(mg/l)</b>
KNO <sub>3</sub>	2150	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	22.130
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1238	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	3.625
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	412	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3.150
CaCl <sub>2</sub> .2 H <sub>2</sub> O	313	KI	0.695
KH <sub>2</sub> PO <sub>2</sub>	142	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.188
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4 H <sub>2</sub> O	50	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.016
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O	38	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.016
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	34		
KCl	7		
<b>Organik Bileşikler</b>	<b>(mg/l)</b>	<b>Fe Şelat</b>	<b>(mg/l)</b>
My inositol	50.300	Na <sub>2</sub> EDTA	18.65
Pridoksin HCl	5.500	FeSO <sub>4</sub> .7 H <sub>2</sub> O	13.90
Nikotinik asit	0.700	Sakkaroz	%12
Thiamin HCL	0.600	Agar	%0.7
Ca-pantetonat	0.500	PH	5.7
Vitamin B <sub>12</sub>	0.30		
Biotin	0.005		
Glisin	0.100		

Denemede kullanılacak olan transfer ortamında ise, büyümeyi düzenleyici olarak yalnız 0.1 mg/l kinetin kullanılacak olup, ortamın bileşimi Çizelge 4. 2'deki gibidir.

Çizelge 4.2. Denemede Kullanılan Transfer (R) Ortamının Bileşimi (Karakullukçu 1991).

<b>Mikro Bileşikler</b>	<b>(mg/l)</b>	<b>Mikro Bileşikler</b>	<b>(mg/l)</b>
KNO <sub>3</sub>	2150	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	20.130
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1238	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	3.225
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	412	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1.150
CaCl <sub>2</sub> .2 H <sub>2</sub> O	313	KI	0.330
KH <sub>2</sub> PO <sub>2</sub>	142	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.138
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4 H <sub>2</sub> O	50	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.011
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O	38	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.011
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	34		
KCl	7		
<b>Organik Bileşikler</b>	<b>(mg/l)</b>	<b>Fe Şelat</b>	<b>(mg/l)</b>
My inositol	50.300	FeSO <sub>4</sub> .7 H <sub>2</sub> O	13.90
Pridoksin HCl	5.500	Na <sub>2</sub> EDTA	18.65
Nikotinik asit	0.700	Sakkaroz	%12
Thiamin HCL	0.600	Agar	%0.7
Ca-pantetonat	0.500	pH	5.7
Biotin	0.005		
Glisin	0.100		

#### 4.3.2.3.2. Anterlerin Çıkartılması ve Dikim

Belirlenen aşamadaki anterleri bulunduran çiçek tomurcukları birkaç damla Tween-20 damlatılmış %20'lik ticari sodyum hipoklorit içerisinde 15 dakika boyunca yüzeysel sterilizasyon işlemine tabi tutulduktan sonra en az 3 kez steril saf su ile durulanmıştır. Steril koşullarda tomurcukların içerisinde çıkarılan anterler, önceden hazırlanmış ve otoklavlanarak steril hale getirilmiş besin ortamlarının üzerine yerleştirilmiştir. Anterlerin tomurcuk içinden çıkarılması sırasında ezilmemesine ve filamentlerinin, anterle birleştiği noktadan kesilerek uzaklaştırılmasına dikkat edilmiştir. Çoğunlukla petri kutularında, agarla katılaştırılmış besin ortamlarına yerleştirilen anterlerin dikim işlemi tamamlandıktan sonra petri kutularının kenarları bir film şeritle kapatılarak herhangi bir enfeksiyona karşı, dış atmosferle olan ilişki kesilmiştir. Normal

olarak 7 cm çapındaki bir petri kutusu içersine çeşitlere ve anter büyüklüğüne göre değişmekle birlikte 23-24 adet anter yerleştirilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Patlıcanda uygun tomurcuk aşamasında alınarak ortama dikilen anterlerden görünüm

#### 4.3.2.3.3. Kültür Koşulları

Petri kapları içersindeki anterler inkübasyon için Karakullukçu (1991)'ya göre önce 35°C'deki etüvde ilk 8 gün boyunca karanlıkta tutularak, daha sonra ise 25°C sıcaklık ve 16 saat gün uzunluğuna ayarlanmış iklim dolabına alınmışlardır. Bu ortamda 4 gün daha bekletilen anterler, 12. günden sonra transfer (R) ortamına aktarılmışlardır. Anterler bundan sonra iklim dolabında 25°C sıcaklık ve 16 saat gün uzunluğunda gelişmeye bırakılmışlardır.

#### 4.3.2.3.4. Kolhisin Uygulaması

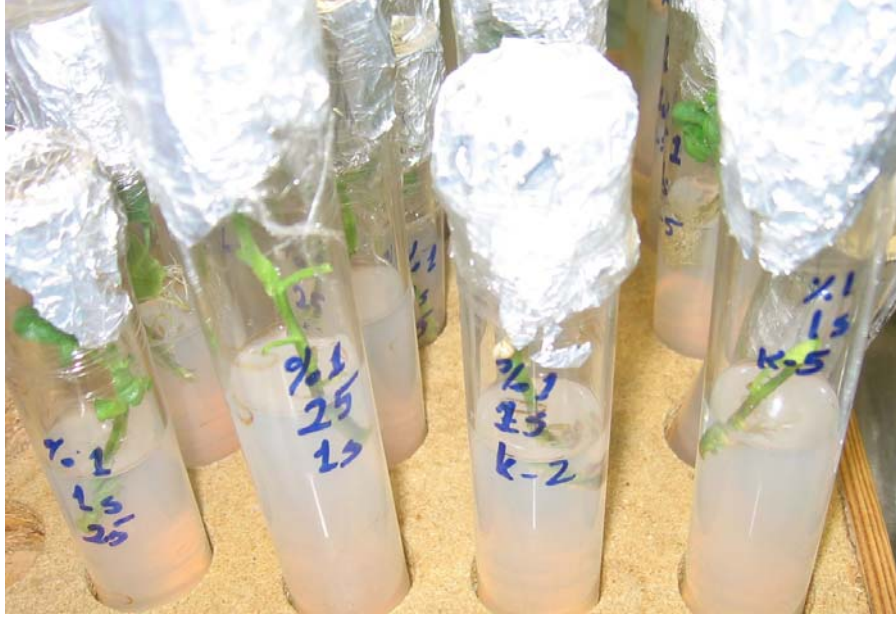
Mikro çelikler *in vitro* koşullarda %1 kolhisin çözeltisinde 1 saat ve 2 saat, % 0.5 kolhisin çözeltisinde 1 saat ve 2 saat olmak üzere farklı kombinasyonlarda bekletilmiştir (Şekil 4.5 Şekil 4.6) Bitkicikler yıkanarak tekrar kültüre alınmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.5. % 0.5 ve %1lik hazırlanan kolhisin çözeltilerinden görünüm



Şekil 4.6. Mikro çeliklerin *in vitro* koşullarda kolhisin uygulamasından görünüm



Şekil 4.7. Kolhisin çözeltisinden alınan mikro çeliklerin yıkanarak tekrar kültüre alınmasından görünüm

#### 4.3.2.3.5. Elde Edilen Bitkilerde Kromozom Sayımı

Kromozom sayımı için Tan (1994)'ın önerdiği kolay ve hızlı sonuç veren “Laktopropiyonik Orsein Ezme” yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla tüplerden alınan genç bitki kökleri oda sıcaklığındaki 8-hidroksikuinolin (200 cc saf suya 0.058 g 8-hidroksikuinolin ilave edilir) içinde 3 saat bekletilerek “ön uygulama” işlemi yapılmıştır. Ön uygulama işleminden sonra materyal 3:1 oranındaki glasiyel asetik asit: ethanol (3 kısım glasiyel asetik asit, 1 kısım %90'lık ethanol) içinde 2-4 saat tutularak “fiksasyon” işlemine tabii tutulmuştur. Fiksatiften alınan materyal 1 N HCL ile 60 °C'de 10 dakika hidroliz edilmiştir. Hidrolizasyondan sonra boyama için daha önce hazırlanmış olan laktopropiyonik orsein (2 g doğal orsein, 50 mL laktik asit içinde ertilerek filtre edilmiş, kullanılırken suyla %45 seyreltik hale getirilmiştir) içinde 15 dakika tutularak boyama sağlanmıştır.

Boyama işleminden sonra materyal lam üzerinde iyice ezilerek lamelle kapatılmış ve ışık mikroskobunda incelenmiştir (Akbudak 2005).

#### **4.3.2.3.6. Gelişen Bitkilerin Toprağa Transferi**

Dış şartlara alıştırmada genç bitkicikler, sterilize edilmiş kokos ortamına dikilmiştir. Tüplerden çıkarılan bitkicikler steril ortama dikildikten sonra alıştırma serasının içersinde oluşturulmuş plastik tünel içersine dikim yapılmıştır. Bu bitkilerin sulanmasında steril saf su kullanılmış ve bitkiler önceden hazırlanan besin çözeltilisi ile sulanmıştır. Bitkicikler kademeli olarak dış ortam şartlarına alıştırılmışlardır.

#### **4.3.2.4. Sitolojik Gözlemler ve Sonuçların Değerlendirilmesi**

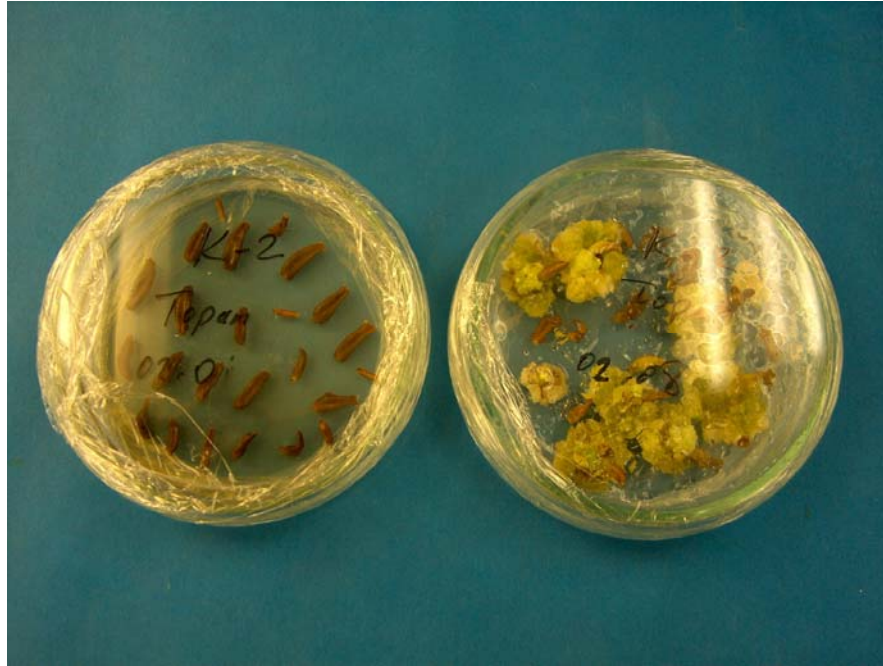
Kromozom sayımları ve stomatal incelemeler için hazırlanan preparatlarda incelemeler ışık mikroskobunda yapılmıştır. Mikroskoptan yapılan fotoğraflar için 400 ASA'lık renkli Kodak Pan film kullanılmıştır. Mikroskoptan yapılan fotoğraf çekimlerinde preparatlar 40x10'luk objektif ve oküler büyütmesi kullanılarak (400 kez) büyütülmüştür.



#### 4.4. BULGULAR

##### 4.4.1. Patlıcan Genotiplerinde Yaz Döneminde Anter Kültüründen Elde Edilen Sonuçlar

“K-1”, “K-2”, “K-4”, “K-5”, “DK-6”, “25”, “11” çeşitleri ve “DK-5” hattının serada yaz periyodunda yetiştirilen bitkilerinden izole edilerek kültüre alınan anterlerde yapılan gözlemler sonucunda elde edilen değerler Çizelge 4.3’de verilmiştir. Bu 8 hat ve çeşitlere ait bitkilerden alınan uygun aşamadaki tomurcuklar ticari hipoklorit ile dezenfeksiyonu sağlandıktan sonra her bir tomurcuk açılarak içersindeki anterlerin C ortamına dikimi yapılmıştır. 8 gün boyunca 35 °C sıcaklıktaki inkübatör içerisinde bekletildikten sonra 25 °C’deki iklim odasına alınmıştır. İklim odasında 4 gün bekletildikten sonra anterler R ortamına alınmıştır. Burada ortalama 40 gün geçtikten sonra dikim yapılan tüm çeşit ve hatların anterlerinde gelişme tespit edilmiştir. Yaz döneminde serada yetiştirilen patlıcan bitkilerinde alınan anterler, kültür ortamında gelişmeye bırakıldıklarında; gelişme olarak kabul edilen olgu, anterlerin kültür ortamına alındıktan sonra şişerek farklılaşmaları veya bozulma, kuruma olmaksızın canlılıklarını sürdürmeleri olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Anterlerin kültür ortamına alındıktan sonra şişerek farklılaşmaları (sağda), kallus oluşumu (solda)

Kuruyan, büzüşen ve kararın anterler ise gelişmeyen anterler olarak nitelendirilmiştir. Bu şekilde değerlendirildiğinde, “K-1” çeşidinde anter gelişim oranı % 53,0, “K-2” çeşidinde % 65.8, “K-4” çeşidinde % 59.3, “K-5” çeşidinde % 88.1, “DK-5” hattında % 57.5, “DK-6” çeşidinde % 60.3, “25” çeşidinde % 91.4 ve “11” çeşidinde % 62.5 olarak tespit edilmiştir. Görüldüğü gibi en yüksek anter gelişim oranı “25” çeşidinde belirlenmiştir. “K-1”, “K-4”, , “DK-6” çeşitlerinde ve “DK-5”hattında kallus oluşumu meydana gelmiştir. Dikim yapılan tüm çeşit hatlarda belli miktarlarda kallus oluşumu görülmüştür, “K-1” çeşidinde kallus oluşum oranı % 45.0, “K-2” çeşidinde %24.1, “K-4” çeşidinde % 11.9, “K-5” çeşidinde %25.0, “DK-5” hattında %26.9, “DK-6” çeşidinde % 60.3, “25” çeşidinde % 20.0 ve “11” çeşidinde % 26.6 olarak tespit edilmiştir. En yüksek kallus oluşum oranı “DK-6” çeşidinde görülürken, “K-1” çeşidi takip etmiştir. Anter kültüründe direkt olarak embriyo oluşumu gerçekleşebildiği gibi bazen kallus oluşumunun ardından embriyo oluşumu gerçekleşebilmektedir, fakat “K-1”, “K-4”, “DK-6” çeşitleri ve “DK-5” hattında kallus oluşumunun ardından embriyo oluşumu sağlanamamıştır. “K-2” çeşidinde % 6.25 oranında embriyo oluşum oranı elde edilirken, “K-5” çeşidinde % 2.63, “25” çeşidinde % 14.2 ve “11” çeşidinde % 4.16 oranında embriyo oluşum oranı elde edilmiştir.

Çizelge 4.3. Patlıcan Genotiplerinde Yaz Döneminde Anter Kültüründen Elde Edilen Sonuçlar

Hat ve Çeşitler	Kül.Al. Ant.Say.	Gelişen anter		Kallus Oluşum		Emb Oluş.		Bitki Oluş.	
		(adet)	(%)	(adet)	(%)	(adet)	(%)	(adet)	(%)
“K-1”	200	106	53.0	90	45.0	-	-	-	-
“K-2”	240	158	65.8	58	24.1	15	6.25	8	5.0
“K-4”	320	190	59.3	38	11.9	-	-	-	-
“K-5”	380	335	88.1	95	25.0	10	2.63	5	1.3
“DK-5”	160	92	57.5	43	26.9	-	-	-	-
“DK-6”	260	157	60.3	80	30.8	-	-	-	-
“25”	140	128	91.4	28	20.0	20	14.2	7	5.4
“11”	120	75	62.5	32	26.6	5	4.16	4	5.3

Kül= kültür Ant= anter  
A= alınan Say= sayısı

Emb= embriyo  
Oluş= oluşum

Dikim yapılan tüm çeşitlerde ve hatta, anter gelişimi ve kallus oluşumu belli oranda tespit edilir iken embriyo oluşumu tüm hatlarda izlenememiştir. “K-1”, “K-4”, “DK-6” çeşitleri ve “DK-5” hattında embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir. Bunun yanı

sıra “K-2” çeşidinde embriyo oluşum oranı % 6.25, “K-5” çeşidinde % 2.63, “25” çeşidinde % 14.2 ve “11” çeşidinde % 4.16 olarak tespit edilmiştir. En yüksek embriyo oluşumunu %14.2 oranı ile “25” çeşidi gösterirken, en düşük embriyo oluşumunu % 2.63 oranı ile “K-5” çeşidi olmuştur.

Anterlerin içersinden çıkarak büyüyen embriyoların gelişme ortamlarına alınmasıyla, patlıcan bitkicikleri sağlıklı bir şekilde gelişmelerine devam etmişler ve % 5.4 oranı ile “25” çeşidi en fazla bitki elde edilen çeşit olmuştur, bunu % 5.3 oranı ile “11” çeşidi, % 5.0 oranı ile “K-2” ve % 1.3 oranı ile “K-5” çeşidi izlemiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Haploid patlıcan bitkilerinin görünümü

Bitkicikler Şekil 4.9’deki durumlarına geldiklerinde haploid patlıcan bitkilerinin kolhisin ile muamele edilmesinin ardından dihaploid sürgünler ve bunlardan da kendilenmiş meyveler elde edilmiştir (Şekil 4.10). Bitkiler Şekil 4.10 da görüldüğü aşamada iken hava sıcaklıkları kış aylarının başlaması sebebiyle düşmüştür. Kış boyunca bitkiler elektrikli ısıtıcı yardımıyla ısıtılmış ve tüm bakım işlemleri yapılarak kışı geçirmeleri sağlanmıştır, fakat bitkilerde hiçbir büyüme olmamıştır. Daha sonra bahar ayında bu bitkiler seradaki yerlerine alınmıştır (Şekil 4.11).



Şekil 4.10. Anter kültürü yoluyla elde edilmiş diploid patlıcan bitkilerinden görünüm



Şekil 4.11. Bahar dönemi anter kültüründen elde edilen, kolhisin uygulanan ve seradaki yerlerine alınan bitkiler

#### 4.4.2. Patlıcan Genotiplerinde Sonbahar Döneminde Anter Kültüründen Elde Edilen Sonuçlar

“K-1”, “K-2”, “K-4”, “K-5”, “DK-5”, “DK-6” çeşitleri ve “25” ile “11” numaralı hatların normal yaz peryodunun ardından sonbahar başlangıcında, çiçeklenme döneminde günlük ortalama sıcaklığın 20-22°C arasında değiştiği ısıtılmayan serada yetiştirilen bitkilerden izole edilerek kültüre alınan anterlerde yapılan gözlemler sonucunda elde edilen değerler Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Patlıcan Genotiplerinde Sonbahar Döneminde Anter Kültüründen Elde Edilen Sonuçlar

Hat ve Çeşitler	Kül.Al. Ant.Say.	Geliş. Anter		Kallus Oluşum		Emb Oluş		Bitki Oluş.	
		(adet)	(%)	(adet)	(%)	(adet)	(%)	(adet)	(%)
“K-1”	356	64	17.9	-	-	-	-	-	-
“K-2”	579	87	15.0	5	0.8	-	-	-	-
“K-4”	230	36	15.6	2	0.8	-	-	-	-
“K-5”	342	132	38.5	-	-	-	-	-	-
“DK-5”	274	30	10.9	-	-	-	-	-	-
“DK-6”	174	58	33.3	1	0.5	-	-	-	-
“25”	374	73	19.5	-	-	4	1.06	-	-
“11”	178	35	19.6	-	-	-	-	-	-

Kül= kültür Ant= anter Geliş= gelişen Emb= embriyo  
A= alınan Say= sayısı Oluş= oluşum

Bu dönemde yapılan anter kültürlerinde, tüm çeşitlerin anterinde gelişme izlenmiştir. “K-1” çeşidinde anter gelişim oranı % 17.9, “K-2” çeşidinde % 15.0, “K-4” çeşidinde % 15.6, “K-5” çeşidinde %38.5 “DK-5” hattında % 10.9, “DK-6” çeşidinde % 33.3, “25” çeşidinde % 19.5 ve “11” çeşidinde %19.6 olarak tespit edilmiştir. Bu durumda en yüksek gelişen anter oranı %38.5 oranı ile “K-5” çeşidinde görülür iken, bunu % 33.3 oranı ile “DK-6” çeşidi izlemiştir. Anter kültürü yapılan tüm çeşitlerde ve hatta anter gelişimi var iken aynı çeşitlerin ve hattın tümünde kallus oluşumu izlenememiştir. Yalnız “K-2”, “K-4” ve “DK-6” çeşitlerinde oldukça düşük oranlarda kallus oluşumu meydana gelmiştir. “K-2” çeşidinde % 0.8 kallus oluşumu belirlenirken, “K-4” çeşidinde % 0.8 ve “DK-6” çeşidinde ise % 0.5 kallus oluşumu tespit edilmiştir. Sonbahar başlangıcında “K-1”, “K-2”, “K-4”, “K-5”, “DK-6”, “25”, “11” çeşit ve “DK-5”, hattında yapılan anter kültüründe embriyo oluşumu sadece “25” çeşidinde %1.06 oranında tespit edilmiştir.

#### 4.4.3. Sitolojik Gzlemler ve Sonuqların Değerlendirilmesi

Patlıcan genotiplerinde sonbahar d3nemi uygulanan anter k3lt3r3nden embriyo oluşunu gerçekleşmemiştir. yaz d3neminde anter k3lt3r3nden elde edilen bitkiciklerden “25” çeşidine ait bitkiciğin k3k uçlarından alınan 3rneklerde kromozomların g3r3n3m3 (n=12) (şekil 4.12) ve yine aynı hattın kolhisin uygulanmış bitkiciğinin k3k uçlarından alınan 3rneklerde kromozomların g3r3n3m3 (2n= 24) (şekil 4.13).



şekil 4.12. “25” numaralı hattan oluşan bitkiciğin k3k uçlarından alınan 3rneklerde kromozomların g3r3n3m3 (n=12)



şekil 4.13. “25” numaralı hattan oluşan kolhisin uygulanmış bitkiciğin k3k uçlarından alınan 3rneklerde kromozomların g3r3n3m3 (2n=24)

#### 4.5. TARTIŞMA

İnsan beslenmesinde değerli bir sebze olan patlıcanın ülkemizde Karadeniz, İç ve Doğu Anadolu Bölgemizin bazı yerleri dışında hemen tamamında tarımının yapıldığını görebiliriz. Patlıcan, ülkemizde açıkta yazlık sebze olarak, örtü altında ise kış ve bahar aylarında yetiştirilen ve tüketilen önemli bir sebzemizdir. Patlıcanda, gerek sera gerekse açıkta yetiştiricilikte kullanılacak üstün özellikli çeşitlerin ıslahı için çalışmalar yapılmaktadır. Islah çalışmalarında zaman kazancı sağlaması yönüyle bilinen anter kültürü, çalışmamızda da yine aynı amaçla kullanılmıştır. Projede anter kültürünün bulunma nedeni, çalışmamızın amacı olan *Verticillium dahliae*'ya dayanıklı hatların tespitinden sonra bu hatların kısa sürede saflaştırılması aşamasında kullanmaktır. Bu amaçla patojenisite testleri ve melezleme çalışmaları devam ederken diğer taraftan elde bulunan genotiplerin anter kültürüne cevabına bakılmıştır.

Yaz ve sonbahar dönemleri olmak üzere Yalova koşullarında serada yetiştirilen patlıcan bitkilerinden “K-1”, “K-2”, “K-4”, “K-5”, “DK-6” “25” ve “11” çeşitlerinden ve “DK-5”, hattından normal yaz periyodunda yetiştirilen bitkilerinden izole edilerek kültüre alınan anterlerde yapılan gözlemlerde gelişme olarak kabul edilen olgu, anterlerin kültür ortamına alındıktan sonra şişerek farklılaşmaları veya bozulma, kuruma olmaksızın canlılıklarını sürdürmeleri olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.8). Kuruyan, büzüşen ve kararan anterler ise gelişmeyen anterler olarak nitelendirilmiştir. Bu şekilde değerlendirildiğinde, “K-1” çeşidinde anter gelişim oranı % 53,0, “K-2” çeşidinde % 65,8, “K-4” çeşidinde % 59,3, “K-5” çeşidinde % 88,1, “DK-5” hattında % 57,5, “DK-6” çeşidinde % 60,3, “25” çeşidinde % 91,4 ve “11” çeşidinde % 62,5 olarak tespit edilmiştir. Görüldüğü gibi en yüksek anter gelişim oranı “25” çeşidinde belirlenmiştir. “K-1”, “K-4”, “DK-6” çeşitlerinde ve “DK-5”, hattında kallus oluşumu meydana gelmiştir. Dikim yapılan tüm çeşit hatlarda belli miktarlarda kallus oluşumu görülmüştür, “K-1” çeşidinde kallus oluşum oranı % 45,0, “K-2” çeşidinde %24,1, “K-4” çeşidinde % 11,9, “K-5” çeşidinde %25,0, “DK-5” hattında %26,9, “DK-6” çeşidinde % 60,3, “25” çeşidinde % 20,0 ve “11” çeşidinde % 26,6 olarak tespit edilmiştir. En yüksek kallus oluşum oranı “DK-6” çeşidinde görülürken, “K-1” çeşidi takip etmiştir. Anter kültüründe direkt olarak embriyo oluşumu gerçekleşebildiği gibi bazen kallus oluşumunun ardından embriyo oluşumu gerçekleşebilmektedir, fakat

“K-1”, “K-4”, “DK-6” çeşitlerinde ve “DK-5” hattında kallus oluşumunun ardından embriyo oluşumu sağlanamamıştır. “K-2” çeşidinde % 6.25 oranında embriyo oluşum oranı elde edilirken, “K-5” çeşidinde % 2.63, “25” çeşidinde % 14.2 ve “11” çeşidinde % 4.16 oranında embriyo oluşum oranı elde edilmiştir. Dikim yapılan tüm çeşitlerde ve hatta anter gelişimi ve kallus oluşumu belli oranda tespit edilir iken embriyo oluşumu tüm hatlarda izlenememiştir. “K-1”, “K-4”, “DK-6” çeşitleri ve “DK-5” hattında embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir. Bunun yanı sıra “K-2” çeşidinde embriyo oluşum oranı % 6.25, “K-5” çeşidinde % 2.63, “25” çeşidinde % 14.2 ve “11” çeşidinde % 4.16 olarak tespit edilmiştir. En yüksek embriyo oluşumunu %14.2 oranı ile “25” çeşidi gösterirken, en düşük embriyo oluşumunu % 2.63 oranı ile “K-5” çeşidi olmuştur.

Anterlerin içersinden çıkarak büyüyen embriyoların gelişme ortamlarına alınmasıyla, patlıcan bitkicikleri sağlıklı bir şekilde gelişmelerine devam etmişler ve % 5.4 oranı ile “25” çeşidi en fazla bitki elde edilen çeşit olmuştur, bunu % 5.3 oranı ile “11” çeşidi % 5.0 oranı ile “K-2” ve % 1.3 oranı ile “K-5” çeşidi izlemiştir (Şekil 4.9). Çeşitlerden bazılarında hiç embriyo gelişiminin izlenmemesi, embriyo oluşturan çeşitler arasında da embriyo oluşum oranlarındaki farklılıkların bir çok sebebi olabildiği bilinmektedir. Bu sebeplerden en önemlisi ve bir çok yerde vurgulanan genotip etkisinin, anter kültüründeki başarı üzerinde ilk sırada gelen etken olduğu yapılan bir çok çalışma sonucunda vurgulanan bir konudur (Ellialtıoğlu ve Öztürk 1998, Ellialtıoğlu 2005). Hatta yapılan farklı çalışmalarda aynı çeşitlerde embriyo oluşum oranı olarak farklı sonuçlara ulaşılmaktadır. Örneğin Karakullukçu ve Abak (1993b) besin ortamına değişik düzeylerde katılan bazı organik maddelerin (sakkaroz, glikoz, aktif karbon ) ve büyümeyi düzenleyicilerin (kinetin, zeatin, 2,4-D, NAA) patlıcan anter kültüründe haploid bitki oluşumu üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, Halep Karası çeşidinde %3.8 oranında embriyo elde edilmişler, yapmış olduğumuz bu çalışmada aynı çeşitten % 2.63 oranında embriyo gelişimi ve % 1.3 oranında haploid bitki tespit etmiş bulunmaktayız. Yine yapılan farklı bir çalışmada; Karakullukçu ve Abak (1991) tarafından, dört değişik patlıcan genotipinin anter kültürüne verdikleri yanıt incelenmiş ve bu açıdan en iyi sonuç Halep Karası çeşidinden %7.8 oranında embriyo ve %4.4 oranında haploid bitki elde edildiği belirtilmiştir. Bu durumda; yapılan tüm çalışmalar farklı yerlerde yapılması yönüyle, genotipin tek başına etkisinden



ziyade, genotip x çevre etkileşiminin daha etken bir rol oynadığından bahsetmek daha gerçekçi bir ifade olarak görülmektedir. İşte bu noktada, yetiştirme koşullarının etkisi devreye girmektedir.

“K-2” çeşidinde % 6.25 oranında embriyo oluşum oranı elde edilirken, “K-5” çeşidinde % 2.63, “25” çeşidinde % 14.2 ve “11” çeşidinde % 4.16 oranında embriyo oluşum oranı elde edilmiş iken, bu çeşitlerden bitki elde etme oranı “K-2” çeşidinde % 1.3, “K-5” çeşidinde % 5.3, “11” çeşidinde % 5.0 ve “25” çeşidinde % 5.4 olduğu tespit edilmiştir. Dikkati çektiği gibi bu çeşitlerde embriyo oluşum oranları, bitki elde etme oranlarından yüksektir. Bitki elde kısmında kayıp olmuştur ve bunun birkaç sebebi vardır bunlardan ilki; embriyo oluşumundan sonra farklı doz ve sürelerde uygulanan kolhisin aşamasında olmuştur. Bu çalışmanın amaçları arasında olmamakla birlikte bize fikir vermesi açısından farklı kolhisin dozları (%0.5 ve %1) ve süreleri (1 saat, 2 saat) uygulanmıştır. Uygulamalar içerisinde en iyi sonucu veren %0.5 kolhisin + 2 saat veya %1 kolhisin + 1 saat olmuştur. Bu aşamada uygulanan bazı doz ve sürelerin bitkiciklerin gövdelerinde yanık veya kuruma şeklinde zarar yaptığı görülmüştür. Yukarıda belirtildiği gibi bu konu çalışmamızın amacı olmadığı için bunların düzenli kayıtları tutulup istatistiki analizi yapılmamakla birlikte sadece gözlemlere göre %1 dozun ve 2 saat süre ile kolhisinde bekletmenin bitkiciklerin gövdelerinde yanık şeklinde zarar yaptığı ve bu zararın ardından bitkiciklerde kurumaların olduğu tespit edilmiştir. Gözlenen bu sonuç Sarı ve Abak (1996), ışınlanmış çiçek tozları ile tozlama sonucu partenogenetik yolla elde edilen haploid bitkilerden *in vitro* koşullarda diploid hatların oluşturulması amacıyla farklı kolhisin dozları (% 0.5 ve % 1) ve süreleri (1, 2, 4 ve 6 saat) denenmiş oldukları çalışmada % 0.5 yoğunlukta kolhisin uygulanan bitkilerin % 64’ü yaşamış ve % 56’sı gelişerek yeni bir bitkiye dönüşmüştür. % 1 dozunda ise yaşama ve gelişme oranları % 40 olarak belirlenmiştir. Daha yüksek doz ve süreler bitkilerin kuruyarak ölmesine neden olmuş; düşük doz ve kısa sürelerde bitkiler haploid kaldığının tespit edildiği çalışma ile paralellik göstermektedir. Embriyo oluşum oranının, bitki oluşum oranından yüksek olmasının bir diğer sebebi; bitkilerin alıştırma serasına alındığı aşamada; bitkilerin alıştırma serasında optimum istekleri karşılanamamasından dolayı bitki kayıpları olmuştur.

Sonbahar döneminde Yalova koşullarında serada yetiştirilen patlıcan bitkilerinden “K-1”, “K-2”, “K-4”, “K-5”, “DK-6” “25” ve “11” çeşitleri ve “DK-5” hattının sonbahar periyodunda yetiştirilen bitkilerinden izole edilerek kültüre alınan anterlerde yapılan gözlemlerde; “K-1” çeşidinde anter gelişim oranı % 17.9, “K-2” çeşidinde % 15.0, “K-4” çeşidinde % 15.6, “K-5” çeşidinde % 38.5, “DK-5” hattında % 10.9, “DK-6” çeşidinde % 33.3, “25” çeşidinde % 19.5 ve “11” çeşidinde % 19.6 olarak tespit edilmiştir. Görüldüğü gibi en yüksek anter gelişim oranı “K-5” çeşidinde belirlenmiştir. Dikim yapılan tüm çeşit hatlarda kallus oluşumu görülmemiştir. “K-2” çeşidinde ve “K-4” çeşitlerinin her ikisinde % 0.8 kallus oluşum oranı belirlenir iken, “DK-6” çeşidinde % 0.5 kallus oluşum oranı tespit edilmiştir. En yüksek kallus oluşum oranı “K-2” ve “K-4” çeşitlerinde belirlenmiştir. Sonbahar periyodunda “K-1”, “K-2”, “K-4”, “K-5”, “DK-6”, “25” ve “11” numaralı çeşitler ve “DK-5” hattında yapılan anter kültüründe embriyo oluşumu sadece “25” çeşidinde %1.06 oranında tespit edilmiştir.

Yaz ve sonbahar döneminde serada yetiştirilen bitkilerden izole edilerek kültüre alınan anterlerden alınan sonuçları karşılaştırdığımızda; her iki dönem anterlerinde de embriyo gelişimi izlenmiştir. Fakat yaz dönemi bitkilerinden alınan anterlerde embriyo oluşum oranı, sonbahar dönemi bitkilerinden alınan antere göre oldukça yüksektir. Örneğin, yaz dönemi bitkilerinden alınan anterlerde en yüksek anter oluşum oranı “25” çeşidinde % 91.4 iken, sonbahar dönemi bitkilerinden alınan anterde en yüksek anter oluşum oranı ise “K-5” çeşidinde % 38.5 olmuştur. Bunun yanı sıra kallus oluşum oranı bakımından her iki dönemde uygulanan anter kültüründen alınan sonuçlara bakıldığında, aralarındaki fark daha fazla açılmaktadır. Örneğin, yaz dönemi bitkilerinden alınan anterlerde en yüksek kallus oluşum oranı “K-1” çeşidinde % 45.0 iken, sonbahar dönemi bitkilerinden alınan anterde en yüksek kallus oluşum oranı ise “K-2” ve “K-4” çeşitlerinde % 0.8 olarak belirlenmiştir. Yine aynı dönem bitkileri embriyo oluşumu açısından karşılaştırdığımızda, yaz dönemi bitkilerinden alınan anterlerde “K-2” çeşidinde % 6.25 oranında embriyo oluşum oranı elde edilirken, “K-5” çeşidinde % 2.63, “25” çeşidinde % 14.2 ve “11” çeşidinde % 4.16 oranında embriyo oluşum oranı elde edilmiş iken, sonbahar dönemi bitkilerinden alınan anterlerde ise sadece “25” çeşidinde ise embriyo oluşum oranı %1.06 oranında tespit edilmiştir. Yaz dönemi bitkilerinden alınan anterlerden oluşan embriyolardan bitki elde etme oranı “K-2” çeşidinde % 1.3, “K-5” çeşidinde % 5.3, “11” çeşidinde % 5.0 ve

“25” çeşidinde % 5.4 iken, sonbahar dönemi bitkilerinden alınan anterlerden oluşan embriyolardan bitki elde etmek mümkün olmamıştır. Aldığımız bu sonuçlar Çağlar ve Abak (1999)’nın çalışmaları sonucu Mayıs-Eylül ayları arasında *in vitro* kültüre alınan embriyolardan yılın öteki dönemlerine göre daha fazla sayıda haploid bitki elde edildiği beyanı ile paralellik göstermektedir.

Kromozom sayımı için Tan (1994)’ın önerdiği kolay ve hızlı sonuç veren “Laktopropiyonik Orsein Ezme” yöntemi kullanılmıştır. Haploid bitkinin ve kolhisin uygulamasıyla diploid hale gelmiş bitkinin kök uçlarında kromozom sayımı yapılmıştır ve Şekil 4.11.ve 4.12’deki görüntüler tespit edilmiştir. Haploid bitkin kök uçlarındaki kromozomları saymak görüntünün çok net olmamasına bağlı olarak daha zor olmuştur. Yapmış olduğumuz çalışmada stoma sayımı ve morfolojik incelemelerde yapılmıştır fakat çalışmamızın amacı bu yöntemler arasındaki farkı ortaya koymak olmadığından bunların istatistiği yapılmamıştır ve sadece kromozom sayım sonuçları kullanılmıştır ve bizim ulaştığımız sonuçlar; Kurtar ve ark. (2002), kabakta ışınlanmış polen tekniğini kullanarak elde ettikleri haploid ve daha sonra dihaploid hale dönüştürdükleri bitkilerde ploidi seviyesini direkt (kök ucu kromozom sayımı) ve indirekt (stoma boyutu, bekçi hücrelerindeki kloroplast sayıları ve morfolojilerinin incelenmesi) metotlar ile belirlediği çalışmanın sonunda kromozom sayımı kullanışsız bulunurken, stoma ve kloroplast sayımı basit ve diğer yöntemlere göre daha pratik bulunduğu sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak; bu araştırmada yaz ve sonbahar dönemleri olmak üzere Yalova koşullarında serada yetiştirilen patlıcan bitkilerinden “K-1”, “K-2”, “K-4”, “K-5”, “DK-6” “25”, “11” çeşitleri ve “DK-5” hattından temin edilen uygun aşamadaki tomurcuklara anter kültürü uygulanmıştır. Bu uygulama sonunda yaz döneminde yetiştirilen bitkilerden temin edilen tomurcuklarla yapılan anter kültüründe başarının çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Anter kültürü uygulanan çeşitler ve hattın içerisinde en iyi cevabı “25” çeşidi vermiştir. Anter kültüründen haploid bitkiler elde edildikten sonra bitkileri dihaploid hale getirmek amacıyla uygulanan kolhisin dozları (%0.5 ve %1) ve süreleri (1 saat, 2 saat) uygulanmıştır. Uygulamalar içerisinde en iyi sonucu veren %0.5 kolhisin + 2 saat veya %1 kolhisin + 1 saat olmuştur.

## BÖLÜM 5. GENEL TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemizde yoğun şekilde yetiştiriciliği yapılan sebzelerden birisi olan patlıcan tuzludan-tatlıya değerlendirme imkanları oldukça geniş, farklı yemekleri, salataları, turşusu ve reçeli yapılabilen nadir sebzelerden birisidir. Özellikle son yıllar başlayan yerli turizmdeki gelişmeye bağlı olarak yiyecek- içecek sektöründeki çeşitliliğe katkısı olması ve tarıma dayalı sanayinin gelişmesi nedeniyle bir çok ürünün işlenerek satılma olanaklarının artması sebebiyle tüketimi artan bir sebze türüdür. Patlıcan, tüketimi artan bir sebze türü olmakla birlikte üretim miktarlarında önemli artış olmadığı gibi üretimin zaman zaman düştüğü gözlenmektedir. Hem yetiştiriciliğin, hem üretimin sınırlı düzeyde kalmasının pek çok nedeni bulunmakla birlikte, bunlardan birisi ülkemizde geliştirilen çeşitlerin hastalıklara dayanıklılık yönüyle zayıf olmasıdır. Patlıcanda en önemli iki hastalıktan birisi olan *V. dahliae* özellikle bitkinin verime yattığı dönemde bitkiyi sarımsakta, verimi azaltmakta, hatta tam üreticinin verim almayı beklediği dönemde bitkinin ölümü ile sonuçlanabilmektedir. Toprak kökenli olan bu fungus bitkinin kök sisteminden girerek bitkinin vasküler sistemine taşınmakta ve daha çok damarlar arasında sarımsı lekeler, damarlarda renk değişimiyle bitkinin büyümesine mani olmaktadır, genellikle alt yaprakların sararıp solmasına ve düşmesine neden olmakta, hastalık sonucu verimde düşme ürün kalitesinde azalma ve sonuçta bitkinin ölümü gerçekleşmektedir. Yıllardır çeşitli mücadele yöntemleri denenmesi sonucunda, bu hastalıkla mücadelede en iyi yolun dayanıklı çeşit kullanımı olduğu sonucuna varılmıştır (Perez 1996, Pessarakli ve Dris 2003).

Dayanıklılık ıslahı çalışmaları çalışmalarında öncelikle dayanıklılık kaynağının temini yoluna gitmek en önemli adımdır. Yapılan bir çok çalışmalarla belirlenmiş olan *S. aethiopicum*, *S. sisymbriifolium*, *S. torvum*, *S. integrifolium*, *S. incanu*, *S. abutiloides*, *S. torvum*, *S. caripense*, *S. persicum*, *S. scabrum* ve *S. sodemeum* çeşitler *V. dahliae* dayanıklılık kaynağı olarak belirlenmiş ve kullanılmıştır (Pessarakli ve ark. 2003, Salata ve ark.1989, Bletsos ve ark. 2003, Cirulli ve ark. 1990). Bizim çalışmamızda da *S. torvum* ("D-1") ve *S. sodemeum* ("D-2") dayanıklı çeşitler olarak kullanılmıştır, dayanıklı kültür çeşitleri "DK-1", "DK-2", "DK-3", "DK-4", "DK-5" ve "DK-6" ve kültür çeşitleri olarak "K-1", "K-2", "K-4", "K-5", "K-6", "K-7", "K-8" kullanılmıştır. Dayanıklılık çalışmalarının temelini oluşturan hastalık testleme kısmıdır, dayanıklılık

ile ilgili çalışmalarda hastalık testlemesi mutlaka izlenen yol olmuştur (Acciarri ve ark. 2001, Debode ve ark. 2005, Uslu 2004). Çalışmamızda patojenisite testlemesi ile az önce adı geçen materyaller 2004 ve 2005 yıllarında testlenmiştir. Testleme sonucunda yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak sayım yapılmıştır ve elde edilen ham veriler hastalıklı yaprak yüzdesi ve Townsend –Heuberger formülü uygulanarak % hastalık şiddeti şeklinde değerlendirilmiştir. Her iki yılın sonuçları birbiri ile paralellik göstermiştir. Dayanıklı çeşitlerin patojenisite test sonucu (“D-1”, “D-2”) 2004 yılında “D-1”:%3, “D-2”:%10, 2005 yılında “D-1”:%3, “D-2”:%9 olarak belirlenmiştir. Dayanıklı kültür çeşitlerinde 2004 yılında hastalık yüzdesi “DK-1”:%96, “DK-2”:%70, “DK-3”:%78, “DK-4”:%74, “DK-5”:%38, “DK-6”:%86 iken, 2005 yılında “DK-1”:%88, “DK-2”:%78, “DK-3”:%78, “DK-4”:%80, “DK-5”:%36, “DK-6”:%80 olarak tespit edilmiştir. Kültür çeşitlerinin hastalık yüzdesi 2004 yılında “K-1” : %88, “K-2” : %70, “K-3” : %88, “K-4” : %74, “K-5” : %76, “K-6” : %84, “K-7” : %84, “K-8”:%96 olarak belirlenmiştir. Daha önceki çalışmalarla dayanıklılığı kesin tespit edilmiş olan “D-1”, “D-2” çeşitleri bizim yapmış olduğumuz test sonucunda da yine dayanıklı sınıfa girerken, dayanıklı kültür ve kültür çeşitlerinden sadece “DK-5” hattı orta dayanıklı sınıfa girmiş ve diğer tüm çeşitler hassas ve çok hassas sınıfta yer almıştır. Sonuçlar yıl ve dayanıklılık faktör olarak alınarak tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuştur. Sonuç olarak yılın önemsiz olduğu tespit edilirken, kültür ile dayanıklı kültür arasındaki fark önemli bulunmuştur. Tüm kültür çeşitlerinin dayanıklı kültür çeşitleri ile arasında farka tek varyans analizi ile baktığımızda “K-1”, “K-2”, “K-3”, “K-4”, “K-5”, “K-6”, “K-7”, “K-8” kültür çeşitlerinin hepsinde yalnızca “D-1”, “D-2” ve “DK-5” hatları ile aralarındaki fark önemli çıkmıştır. “DK-5” ile “D-1” arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunurken “DK-5” ile “D-2” arasındaki farkın önemsiz olduğu tespit edilmiştir.

Hastalık şiddetinin tespitinde kök boğazından itibaren 5-10-15 cm mesafelerden kesit alınarak yapılan gövde değerlendirmesinde 0-3 skalasına göre 2004 yılında uygulanan gövde değerlendirmesinde yabancı dayanıklı çeşitlerde (“D-1”, “D-2”) gövdede, damarlarda hastalıkla ilgili herhangi bir belirtiyeye rastlanmamış iken 2005 yılında yabancı dayanıklı çeşitlerin her ikisinde de gövdenin farklı seviyelerinde sadece birer kesitlerinde çok hafif renk değişimi tespit edilmiştir. 2004 yılında Dayanıklı kültür çeşitlerinin içersinde damarlarda renk değişim seviyesi en yüksek çeşit “DK-5” hattıdır.

Yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda en düşük sararma ve solgunluk yüzdesini % 38 değeri ile göstermiştir. Bu durumda bu çeşit için; *V. dahliae* hastalığına karşı belli seviyede bir dayanım gösterdiği düşünülebilir, çünkü bitkinin damarlarında bu hastalığın belirtilerine yüksek (2-2-3) seviyede rastlanır iken, aynı çeşidin yapraklarında yapılan sayım sonucu solgunluk yüzdesi % 38 olarak tespit edilir iken, 2005 yılında dayanıklı kültür çeşitlerinin içersinde damarlarda renk değişim seviyesi en yüksek çeşitler “DK-3”, “DK-4” ve “DK-6” çeşitleridir. Bu çeşitlerin yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda sararma ve solgunluk yüzdeleri “DK-3”:%78, “DK-4” ve “DK-6” çeşitlerinin her ikisinin de %80 olarak tespit edilmiş, bu üç çeşitte hassas sınıfa girmiştir. 2004 yılında kültür çeşitlerinde renk değişim seviyesinin biraz daha şiddetli seviyede olduğu tespit edilmiştir. Özellikle “K-1”, “K-2”, “K-8” çeşitlerinde bu şiddet kültür çeşitleri içersinde de diğerlerine göre biraz daha yüksek bulunmuştur. Bu çeşitlerin yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda sararma ve solgunluk yüzdesi sırasıyla “K-1”: %88, “K-2”: %70, “K-8”:%96 olarak tespit edilirken, 2005 yılında kültür çeşitlerini kendi içersinde değerlendirdiğimizde “K-3” ve “K-8” çeşitlerinde damarlardaki renk değişimleri diğerlerine göre biraz daha yüksek bulunmuştur. Bu çeşitlerin yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda sararma ve solgunluk yüzdesi sırasıyla “K-3”: %87 ve “K-8”:%82 olarak tespit edilirken, Çizelge 2.9’da patlıcan genitörlerinin *V. dahliae* hastalık şiddet oranlarına göre “K-3” ve “K-8” çeşitleri çok hassas sınıfta yer almıştır. Bu sonuçlara göre sararma ve solgunluk yüzdeleri ile gövde izolasyon sonuçları birbiri ile paralellik göstermektedir.

Patojenisite testi sonucunda hastalıklı bitkilerin gövdesinde topraktan itibaren 5-10-15 cm olmak üzere 3 farklı bölgesinden kesitler alınarak PDA besiyerine her petride 5 disk olacak şekilde yerleştirilerek 20-25 gün sonra hatlardan tekrar hastalık etmeni izole etme oranları 2004 yılında dayanıklı hatların her ikisinde de 1/15 yani; 15 kesitten sadece 1 tanesinden hastalık geri alınmış iken, 2005 yılında reizolasyon oranı yüksek olmuştur, dayanıklı çeşitlerin her ikisinde (“D-1”, “D-2”) toplam oran 9/15 olarak belirlenmiştir. 2004 yılında dayanıklı kültür çeşitlerinden hastalığın geri alınma oranı “DK-1”: 10/15, “DK-2”: 9/15, “DK-3”: 13/15, “DK-4”: 10/15, “DK-5”: 1/15 ve “DK-6”: 15/15, 2005 yılında “DK-1”: 11/15, “DK-2”: 8/15, “DK-3”: 10/15,

“DK-4”: 8/15, “DK-5”: 10/15 ve “DK-6”: 10/15 olarak tespit edilmiştir. 2004 yılında kültür çeşitlerinde hastalığın geri alınma oranı “K-1”: 12/15, “K-2”: 9/15, “K-3”: 9/15, “K-4”: 10/15, “K-5”: 11/15, “K-6”: 4/15, “K-7”: 6/15 ve “K-6”: 8/15, 2005 yılında “K-1”: 8/15, “K-2”: 3/15, “K-3”: 8/15, “K-4”: 10/15, “K-5”: 9/15, “K-6”: 7/15, “K-7”: 11/15 ve “K-8”: 12/15 olarak belirlenmiştir. Reizolasyon yüzdesi sonuçları da diğer yapraklardaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak sayım yapılarak belirlenen hastalıklı yaprak yüzdesi ve değerlendirmesi sonuçları ile paralellik göstermiştir. Yalnız 2005 yılı reizolasyon sonuçları 2004 yılından biraz daha yüksek çıkmıştır bu konu Bitki Koruma Bölümünden konu uzmanı hocalarımız ile yapılan görüşmelerde; 2005 yılında kullanılan izolatin virülensinin yüksek olmasından ileri gelebileceği sonucuna varılmıştır. Yalnız burada iki önemli konu vardır ki; bunlardan birisi 2005 yılı reizolasyon sonucu biraz daha yüksek çıkmakla birlikte yinede sonuçlar 2004 yılı ile paralellik göstermektedir, diğeri ise yapılan reizolasyon sonucunda önemli olan hastalığı geri izole etmiş olmamızdır, buradan çıkarılan sonuç gerçekten hastalık bitkilere bulaştırılmıştır. Çünkü bu tip çalışmalar yapılırken en büyük kuşku “gerçekten hastalık bitkilere bulaştırıldı mı?” konusunda olmaktadır. Bitkide hastalık belirtileri görüle bile reizolasyon ile hastalığı geri alıncaya kadar bu kuşkunun devam etmesidir.

2006 yılında patojenisite testine “K-1” çeşidi ile “DK-5” hattı ve bunların melezi olan “F<sub>1</sub>” ve F<sub>1</sub>’in kendilenmesi ile oluşan F<sub>2</sub> alınmıştır. Bunların kontrolleri ile birlikte 390 adet bitki testlenmiştir. Kontrollerin yapraklarındaki sararmadan yola çıkarak 0-5 skalası kullanılarak yapılan sayımda hastalık yüzdeleri sırasıyla; “K-1” % 10, “DK-5” %0, “F<sub>1</sub>” %4, “F<sub>2</sub>” % 0 olarak belirlenir iken, *Verticillium* fungusu bulaşık toprağa dikim yapılan bitkilerde hastalık yüzdesi sırasıyla; “K-1” % 28, “DK-5” %22, “F<sub>1</sub>” % 38 olarak tespit edilmiştir. “F<sub>2</sub>” de 200 adet bitkinin yapraklarındaki sararmadan elde edilen % hastalık şiddeti sonuçlarına oran olarak bakıldığında 200 bitkinin % 55’inde hastalık şiddeti %2 ila % 6 arasında değişir iken, % 45’inde ise %36 ila % 44 arasında değişmiştir.

2006 yılı sonuçları F<sub>1</sub> ve F<sub>2</sub> generasyonları faktör olarak alınarak tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuştur. Sonuç olarak F<sub>1</sub>’in değeri 25.43 ± 11.87 (ortalama + standart hata) olarak belirlenirken, F<sub>2</sub>’nin değeri 15.78 ± 15.76 (ortalama + standart hata) belirlenmiştir. Fakat p değeri 0.073 olarak belirlendiği için, yani p>0.05 olduğu için bu

iki gurup (generasyon) arasında anlamlı fark bulunmamıştır. 2006 yılında “K-1” çeşidi ile “DK-5” hattı, F<sub>1</sub> ve “F<sub>2</sub>” gövde değerlendirmesi sonucu kontrol olan bitkilerin hastalık şiddeti 0-3 skalasına göre genelde 0-0-0 olmakla birlikte sadece “K-1” çeşidinde 1-1-0 olarak tespit edilirken, aynı çeşidin hastalık bulaştırılmış bitkilerinde hastalık şiddeti 3-2-3 olarak belirlenmiştir. “DK-5” hattı kontrol bitkilerinde gövde değerlendirmesinde hastalığa rastlanmaz iken, yine aynı hattın hastalık bulaştırılmış bitkilerinde gövde değerlendirmesinde hastalık şiddeti 0-1-1 olarak tespit edilmiştir. “F<sub>1</sub>” bitkilerinde gövde değerlendirmesinde hastalık şiddetine tüm guruptan rastlanmakla birlikte ağırlıkta çoğu bitkide hastalık şiddeti 0-3 skalasına göre ortalama 2 civarında hastalık şiddetine rastlanmıştır. “F<sub>2</sub>” bitkilerinde hastalık şiddeti dağılımı ortalama 0-1 olanlar aynı gruba, hastalık şiddeti ortalama 2-3 olanlar bir grup olarak alınarak bir sınıflandırma yapılmıştır. Bu sınıflandırmada; hastalık şiddetine göre tüm bitkilerde bir oranlama yapıldığında 0-1 gurubundaki bitkilerin yüzdesi genel olarak dayanıklı/ tolerant olarak kabul edilir iken, 2-3 grubundaki bitkiler ise hassas olarak kabul edilmiştir. Buna göre “F<sub>2</sub>” bitkilerinin %55’i dayanıklı/tolerant olarak belirlenir iken, % 45’i ise hassas olarak tespit edilmiştir. *V. dahliae* resesif ve çok genle kontrol edildiği için “F<sub>1</sub>” bitkilerinin hepsinin hastalığa hassas çıkması ve “F<sub>2</sub>” bitkilerinin patojenisite testi sonucunda bitkilerin % 50 sinin dayanıklı/tolerant, %50 sinin ise hassas olması beklenmektedir, bu sonuç Demir (1975), Klug ve Cummings (2003) ve Sürmeli (2004) gibi ıslah kitaplarında ve ıslah ile ilgili tüm kaynaklarında geçmektedir. Fakat uygulamada bir çok faktör devreye girdiği için (çevre, hava koşulları vb.) sonuçlar teorideki kadar keskin veya net olmamaktır. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar Demir (1975), Klug ve Cummings (2003) ve Sürmeli (2004) gibi ıslah kaynaklarında verilen % değerlerden %5 sapma göstermiştir.

Çalışmamızın sonunda 2006 yılında toplam 16 adet patlıcan (D-1, D-2, K-1, K-2, K-3, K-4, K-5, K-6, K-7, K-8, DK-1, DK-2, DK-3, DK-4, DK-5, DK-6) hastalığa dayanıklı (2 adet), dayanıklı kültür (6 adet) ve hassas (8 adet) örneklerin her biri için en az beş değişik bireyden taze yaprak örnekleri alınarak sıvı azot içerisinde dondurulmuştur. Dondurulan bu örneklerden 0.1 g yaş doku örneği kullanılarak bitki DNA izolasyonu QIAGEN DNeasy Mini kit kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen DNA’ların görsel olarak agaroz jeldeki görüntüleri Şekil 2.10’da verilmiştir. Şekil 2.10 incelendiğinde DNA’ların agaroz jel üzerinde RNA ve diğer hücre ürünlerinden arı olarak



parçalanmamış tek bant oluşturduğu görülmektedir. Bu sonuç elde edilmiş olan genomik DNA'ların spectrophotometre ile yapılan konsantrasyon ölçümlerinde oransal olarak karşılaştırma sağlamıştır. Gereksiz masraflardan kaçınmak için dayanıklılar (D-1 ve D-2) ile bulk 1, orta dayanıklılar ile (DK-5) bulk 2, dayanıklı kültür çeşitleri ile (DK-1, DK-2, DK-3, DK-4, DK-6) ile ise bulk3 ve kültür çeşitleri ile (K-1, K-2, K-3, K-4, K-5, K-6, K-7, K-8) bulk 4 hazırlanmıştır. Dayanıklı ve hassaslar arasındaki bu polimorfizmi görmekle çalışmanın bundan sonra yapılması gereken elde mevcut olan "F<sub>2</sub>" bitkilerinde açılım olup olmadığı açısından incelenmesidir. PCR uygulamaları ve RAPD analizlerinde kullanılan 30 adet primerden sadece 10 adedi band üretmiştir, bu primerlerin adı, baz dizileri ve ürettikleri bandın büyüklüğü Çizelge 2.12'de verilmiştir. en iyi polimorfizm veren primerlerin amplifikasyon jel görüntüleri ise Şekil 2.11' de gösterilmiştir. Şekil 2.11' de görülen primerlerin amplifikasyon jel görüntülerindeki polimorfizm bize dayanıklı ve hassas olan çeşitler arasında farklılığı göstermektedir. Fakat bu farklılığı sadece hastalıklara dayanıklılık yönüyle değerlendirmemiz doğru olmaz, polimorfizm morfolojik olarak birbirinden oldukça farklı olan çeşitlerin, morfolojik farklılığından da kaynaklanabilir. F<sub>2</sub> açılım analizinden sonra kesinlik kazanacağından polimorfik olan bandların F<sub>2</sub> de bakılması gerekmektedir. Patlıcanlarda genetik çeşitliliğin fazla olduğu daha önce yapılmış olan çalışmalarla da belirlenmiştir. Örneğin Acciarri ve ark. (2001) ve Singh ve ark. (2006) yapmış olduğu çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Bu sonuçlar çalışmamızın 4. bölümünde yapılan anter kültürü çalışması sonucu, çeşitlerden bazılarında hiç embriyo gelişiminin izlenmemesi, embriyo oluşturan çeşitler arasında da embriyo oluşum oranlarındaki farklılıkların bir çok yerde vurgulanan genotip etkisine bağlanması sonucunu yani elimizdeki genotip farklılığını moleküler bazda farklılığını kanıtlamaktadır.

Yaz ve sonbahar dönemleri olmak üzere Yalova koşullarında serada yetiştirilen patlıcan bitkilerinden "K-1", "K-2", "K-4", "K-5", "DK-6" "25" ve "11" çeşitlerinden ve "DK-5" hattından normal yaz peryodunda yetiştirilen bitkilerinden izole edilerek kültüre alınan anterlerde yapılan gözlemlerde gelişme olarak kabul edilen olgu, anterlerin kültür ortamına alındıktan sonra şişerek farklılaşmaları veya bozulma, kuruma olmaksızın canlılıklarını sürdürmeleri olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.8). Kuruyan, büzüşen ve kararan anterler ise gelişmeyen anterler olarak nitelendirilmiştir. Yaz döneminde yapılan anter kültüründen en yüksek embriyo oluşum oranı %14,2 değeri ile

“25” çeşidinden elde edilir iken, bunu % 6.25 ile “K-2”, %4.16 ile “11” ve %2.63 ile “K-5” çeşitleri izlemiştir. “K-1”, “K-4”, “DK-6” çeşitlerinde ve “DK-5” hattında kallus oluşumu izlendiği halde, embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir. Çeşitlerden bazılarında hiç embriyo gelişiminin izlenmemesi, embriyo oluşturan çeşitler arasında da embriyo oluşum oranlarındaki farklılıkların bir çok sebebi olabildiği bilinmektedir. Bu sebeplerden en önemlisi ve bir çok yerde vurgulanan genotip etkisinin, anter kültüründeki başarı üzerinde ilk sırada gelen etken olduğu yapılan bir çok çalışma sonucunda vurgulanan bir konudur (Ellialtıoğlu ve Öztürk 1998, Ellialtıoğlu 2005).

Sonbahar döneminde Yalova koşullarında serada yetiştirilen patlıcan bitkilerinden “K-1”, “K-2”, “K-4”, “K-5”, “DK-6” “25” ve “11” çeşitleri ve “DK-5” hattının sonbahar peryodunda yetiştirilen bitkilerinden izole edilerek kültüre alınan anterlerde yapılan gözlemlerde; kallus oluşumu sadece “K-2” çeşidinde ve “K-4” çeşitlerinin her ikisinde % 0.8 oranında belirlenir iken, “DK-6” çeşidinde % 0.5 oranı tespit edilmiştir. Embriyo oluşumu sadece “25” çeşidinde %1.06 oranında tespit edilmiştir. Yaz ve sonbahar döneminde serada yetiştirilen bitkilerden izole edilerek kültüre alınan anterlerden alınan sonuçları karşılaştırdığımızda; her iki dönem anterlerinde de embriyo gelişimi izlenmiştir. Fakat yaz dönemi bitkilerinden alınan anterlerde embriyo oluşum oranı, sonbahar dönemi bitkilerinden alınan antere göre oldukça yüksektir. Aldığımız bu sonuçlar Çağlar ve Abak (1999)’nın çalışmaları sonucu mayıs-eylül ayları arasında *in vitro* kültüre alınan embriyolardan yılın öteki dönemlerine göre daha fazla sayıda haploid bitki elde edildiği beyanı ile paralellik göstermektedir. Embriyo oluşum oranının, bitki oluşum oranından yüksek olmasının sebebi; bitkilerin alıştırma serasına alındığı aşamada, bitkilerin optimum istekleri karşılanamamasından dolayı bitki kayıpları olmuştur.

Yaz döneminde uygulanan anter kültürü uygulamasından elde edilen bitkiciklere, çalışmamızın amaçları arasında olmamakla birlikte bize fikir vermesi açısından farklı kolhisin dozları (%0.5 ve %1) ve süreleri (1 saat, 2 saat) uygulanmıştır. Uygulamalar içersinde en iyi sonucu veren %0.5 kolhisin + 2 saat veya %1 kolhisin + 1 saat olmuştur. Kromozom sayımı için Tan (1994)’ın önerdiği kolay ve hızlı sonuç veren “Laktopropiyonik Orsein Ezme” yöntemi kullanılmıştır. Haploid bitkinin ve kolhisin uygulamasıyla diploid hale gelmiş bitkinin kök uçlarında kromozom sayımı yapılmıştır

ve Şekil 4.11.ve 4.12'deki görüntüler tespit edilmiştir. Haploid bitkin kök uçlarındaki kromozomları saymak görüntünün çok net olmamasına bağlı olarak daha zor olmuştur. Yapmış olduğumuz çalışmada stoma sayımı ve morfolojik incelemelerde yapılmıştır fakat çalışmamızın amacı bu yöntemler arasındaki farkı ortaya koymak olmadığından bunların istatistiği yapılmamıştır ve sadece kromozom sayım sonuçları kullanılmıştır ve bizim ulaştığımız sonuçlar; Kurtar ve ark. (2002), kabakta ışınlanmış polen tekniğini kullanarak elde ettikleri haploid ve daha sonra dihaploid hale dönüştürdükleri bitkilerde ploidi seviyesini direkt (kök ucu kromozom sayımı) ve indirekt (stoma boyutu, bekçi hücrelerindeki kloroplast sayıları ve morfolojilerinin incelenmesi) metotlar ile belirlediği çalışmanın sonunda kromozom sayımı kullanışsız bulunurken, stoma ve kloroplast sayımı basit ve diğer yöntemlere göre daha pratik bulunduğu sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak; ülkemizin kendi tohum ihtiyacının en azında %20-30 kadarını karşılayabilmesi için ve yurt dışından temin edilen çeşitlerle kendi çeşitlerimizin yarışabilmesi için hastalıklara dayanıklılık çalışmalarına yoğunluk vermesi kaçınılmazdır. Özellikle dayanıklılık çalışmalarında son ıslah tekniklerinin kullanılması zorunludur. Çünkü klasik ıslah teknikleri, zaten geç kaldığımız dayanıklılık çalışmalarında bize daha da fazla zaman kaybettirecektir. Son ıslah tekniklerinden biri olan ve çalışmamızda kullandığımız anter kültürü bize şunu göstermiştir ki; 2004 yılında başlanan anter kültürü çalışması sonucu elde ettiğimiz haploid bitkiler, diploid hale getirilerek 2006 yılında tohum temin edilmiştir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçtan da gördüğümüz gibi son ıslah teknikleri gerçekten bize zaman kazandırmaktadır, bu teknikler kullanılarak kendi dayanıklı çeşitlerimizi bulmak amacımız olmalıdır.

## KAYNAKLAR

**Abak, K. 1982.** Biberlerde Kökboğazı Yanıklığına Dayanıklılığın Kalıtımı Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi (Doçentlik Tezi), Ankara. 62 s.

**Abak, K. 1984.** Biberde (*Capsicum annum L.*) Anter Kültürü Yoluyla Haploid Bitki Elde Etme Üzerinde Araştırma. Ankara Üniv. Zir. Fak. Yıllığı, 1983, 33 (1,2,3,4): 154-162, Ankara Üniv. Basımevi- Ankara.

**Abak, K. 1985.** “Serrano Criollo de Morelos” ve “Pm 217” Biber Çeşitlerindeki *Pytophthora capsici*'ye Dayanıklılık Özelliklerinin Düşük ve Yüksek Sıcaklıklarda Değişimi. Fitopatoloji Kongresi, 8-11 Ekim 1985, İzmir.

**Abak, K. 1986.** Biber Islahında anter Kültüründen Yararlanma, Bitki Islahı Simpozyumu, Bildiri Özetleri. 15-17 Ekim 1986, İzmir, s:64.

**Abak, K., Y.E. Öktem, Ş. Sakin. 1990.** Domateste Bakteriyel Kara Leke Hastalığına (*Pseudomonas syringae pv. tomato*) Dayanıklılık Islahı. Doğa-Tr. J. Agriculture and Forestry 14 (1990). 239-249.Tübitak.

**Abak, K., N.Sarı, M. Paksoy, H. Yılmaz, H. Aktaş, C. Tunalı, 1996.** Kavunda Işınlanmış Polen Tozlamaları ile Haploid Embriyo Uyarımında Genotip Etkisi, Diploid Hatların Oluşturulması, Haploid ve Diploid Bitkilerin Değişik yöntemlerle Ayrımı. Tr. J. Agriculture and Forestry 20 (1996) 425-430.

**Acciarri, N., G. L. Rotino, D. Valentino, G. Vitelli, F. Sunseri, G. Martelli And G. Tamietti. 2001.** Genetic Improvement of Eggplant For Resistance to *Verticillium* Through Interspecific Hybridization With *Solanum sodomaeum*. XI.EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant. Antalya-Turkey.

**Akbudak, N. 2005.** Domateslerde Işınlanmış Polen Uyarımıyla Haploid Bitki Elde Edilmesi Üzerine Etkili Faktörler. Doktora Tezi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı.178 s.

**Anonim 1997.** Plant Diseases. RPD No.1010 July 1997. Department of Crop Sciences University of Illinois at Urbana- CHAMPAIGN, 8 s.

**Anonim 2003.** Türkiye F<sub>1</sub> Hibrit Sebze Çeşitlerinin Geliştirilmesi ve Tohumluk Üretiminde Kamu- Özel Sektör İşbirliği Projesi Proje Timi Yönlendirme Toplantısı Tutanağı. 18-20 Kasım. Narenciye ve Seracılık Araştırma Enstitüsü, Antalya., 5 s.

**Anonim 2005.** FAO, FAOSTAT Database Results, <http://www.fao.org>

**Bejanaro-Alcazar, J., A.J. Termorshuizen, and R.M. Jimenez-Diaz. 1999.** Single-Site Root Inoculation on Eggplant with Microsclerotia of *Verticillium dahliae*. Phytoparasitica 27(4):xxx-xxx 1999.

**Bletsos, F. A., D. G. Roupakias, C. C. Thanassoulopoulos, 1998.** Morphological Trait of The Interspecific Eggplant Hybrid Solanum Melongena x Solanum Torvum. ISHS Acta Horticulture 467: III International Symposium Diversification of Vegetable Crops.

**Bletsos, F., C. Thanassoulopoulos, D. Roupakias. 1999.** Water Stress and Verticillium Wilt Severity on Eggplant (*Solanum melongene L.*). Journal of Phytopathology Volume 147 Issue 4 page 243- April 1999.

**Bletsos, F. A., D. G. Roupakias, C. C. Thanassoulopoulos, 2000.** Gene Transfer from Wild Solanum Species to Eggplant Cultivars: Prospects and Limitations. ISHS Acta Horticulture 522: XXV International Horticultural Congress, part 12: Application of Biotechnology and Molecular Biology and Breeding –General Breeding, Breeding and Evaluation of Temperature Zone Fruits for the Tropics and the Subtropics.

**Bletsos, F., C. Thanassoulopoulos, D. Roupakias. 2003.** Effect of Grafting on Growth, Yield and Verticillium Wilt of Eggplant. Hortscience V. 38(2):183-186, 2003.

**Bora, T. ve İ. Karaca 1970.** Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararlıların Ölçülmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı. Yayın No: 167. İzmir. 43 s.

**Çağlar, G., K. Abak, 1999.** Hıyarda (*Cucumis sativus* L.) *in situ* Uyarım Sonucu Elde edilen Haploid Embriyolardan *in vitro* Haploid Bitki Oluşturma. Tr. J. of Agriculture and Forestry 23 (1999) 283-290.

**Chen, N.C. 2005.** Eggplant Seed Production. Asian Vegetable Research Center; P.O. Box 42, Shanhua;Taiwan741; ROC. www:// <http://www.avrdc.org.tw>

**Cirulli, M., F. Ciccamesse, and M. Amenduni 1990.** Progress in the Search of Verticillium Wilt Resistant Eggplant. Phytopathologia-Mediterranea. 29(3): 184-190.

**Collonnier, C., I. Fock, I. Mariska, A. Servaes, F. Vedel, S. Siljak-Yakovlev, V. Souvannavong, and D. Sihachakr, 2003.** GISH Confirmation of Somatic Hybrids between *Solanum melongena* and *S. torvum*: Assesment of Resistance to both of Fungal and Bacterial Wilts. Plant Physiology and Biochemistry- Paris, 2003; 41(5).

**Çınar, Ö. 1989.** Bitki Fungal Hastalıkları. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 84:170. Adana.

**Daunay, M. C., M.M. Poveda- Aguilar, R.N. Lester, and E. Jullian, 1998a.** The Use of Wild Genetic Resources for Eggplant (*Solanum melongena*) Breeding. I: Seed Dormancy in Four *Solanum* Species. X<sup>th</sup> EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant, 1998-Avignon.France. s:13-18

**Daunay, M.C., R.N. Lester, A. Dalmon, M. Ferri, W. Kapılıma, M.M. Poveda Aguilar, and E Julhan, 1998b.** The Use of Wilt Genetic Resources for Eggplant (*Solanum melongena*) Breeding II: Crossability and Fertility of Interspecific Hybrids. X<sup>th</sup> EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of *Capsicum* & Eggplant, 1998- Avignon, France. s:19-24

**Daunay, M.C., Gebhardt, C. Hennart J. W. Jahn, M. and Lester R. N. 2000a.** Genetic Resources of Eggplant (*Solanum Melongena*) and allied Species: a New Challenge for Molecular Geneticists and Eggplant Breeders. Plant & Animal Genome VIII Conference. Town&Country Hotel, San Diego, CA, January 9-12.

**Daunay, M.C., R.N. Lester, C. Gebhardt, J.W. Hennart, M. Jahn, A. Frary. 2000b.** Genetic Sources of Eggplant (*Solanum melongena*) and Allied. <http://bgard-scikund.nl/eggnet/egginfo>

**Debode, J., B. Declerco and M. Höfte 2005.** Identification of Cauliflower Cultivars that Differ in Susceptibility to *Verticillium longisporum* using Different Inoculation Methods. J. Phytopathology 153, 257-263.

**Demir, İ. 1975.** Genel Bitki Islahı. Ege Üniv. Zir. Fak. Yayınları No:212.

**Devran, Z. 2003.** Moleküler İşaretleyicilerin Dayanıklılık Islahında Kullanılması. Derim Narenciye ve Seracılık Araştırma Enstitüsü Dergisi. Cilt: 20 Sayı: 1. 1-5 s.

**Dumas de Vaulx R., D.Chambonnet, 1982.** Culture in vitro d'anth&res dl aubergine (*Solanum melongena* L.) Stimulation de la Production de Plantes au Moyen de Traitments A +350C (associ6s A de faibles teneurs en substance de croissance. Agronomie 2 (10), p. 983.

**Ellialtıoğlu, Ş. 1994.** Patlıcanda (*Solanum melongena* L.) in vitro Vegetatif oğaltım Üzerinde Bir Araştırma. XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 6-9 Temmuz 1994, Edirne, s: 232-238.

**Ellialtıoğlu, Ş. 2000.** Androgenesis Yoluyla Haploid Bitki Rejenerasyonunda Başarıyı Etkileyen Faktörler. Biyoteknoloji (Kükem) Dergisi Cilt:24, Sayı:1, s: 11-22

**Ellialtıoğlu, Ş. 2005.** Domates ve Patlıcanda Anter Kültürü Yoluyla Haploid Bitki Oluşumunu Etkileyen Bazı Faktörler Üzerinde Araştırmalar. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu destekli Proje No: TOGTAG-2607 (Yayınlanmamış Proje ).

**Ellialtıoğlu, Ş., S. Öztürk, 1998.** Patlıcanda Embriyo Kültürü Üzerinde Çalışmalar. III. Ulusal Biyoteknoloji Simpozyumu, Biyoteknolojide Üniversite-Sanayi İşbirliği, 23-24 Ekim 1998, Eskişehir, s: 33-38.

**Ellialtıoğlu, Ş., R. Tıpırdamaz, 2000.** Patlıcan Anter Kültüründe İçsel Absizik Asit Miktarını Azaltıcı Uygulamaların Androjenetik Embriyo Oluşumuna Etkisi. Biyoteknoloji (Kükem) Dergisi 24 (1). 23-32.

**Ellialtıoğlu, Ő., N. Sarı, ve K. Abak 2001.** Haploid Bitki Üretimi. Bitki Biyoteknolojisi. Doku Kültürü ve Uygulamaları S.Ü. Vakfı Yayınları. 137-189 s.

**Eriş, A., H. Tezcan, B. Akbudak ve Ö.A. Karabulut, 2000.** Normal (NA) ve Modifiye Atmosferde (MA) Muhafaza Edilen Kirazlarda Görülen Değişik Fungal Hastalıklara Karşı Aminoquelant – Kalsiyum ve Bazı Uygulamalarının Etkisi. Araştırma Projesi Sonuç Raporu (TÜBİTAK – TOGTAG / TARP-1901), 91 s.

**Foroughi-Wehr, B., and G. Wenzel, 1993.** Andro- and parthenogenesis. In: Hayvard MD, Bosemark NO, Ramagosa I (eds), Plant Breeding: Principles and Prospects. Chapman& Hall, London, pp. 261-277.

**Hatipoğlu, R. 1997.** Bitki Biyoteknolojisi. Çukurova Zir. Fak. Tarla Bitkileri bölümü. Çukurova Zir. Fak. Genel Yayın No: A-58. 96 s.

**Jarl, C. I., E. M. Rietveld, J. M. Hass, 1999.** Single –site Root İnoculations on Eggplant with Microsclerotia of *Verticillium dahliae*. Phytoparasitica 27 (4): 279-289.

**Karakullukçu, Ő. 1991.** Değişik Patlıcan Genotiplerinde *İN Vitro* Androgenesis ve Haploid Bitki Oluşumunu Uyarıcı Bazı Etmenler Üzerine Araştırmalar, (Doktora Tezi), Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enst., Bahçe Bitkileri Anabilimdalı 136s.

**Karakullukçu, Ő. K. Abak, 1991.** Bazı Patlıcan Çeşitlerinin Anter Kültürüne Tepkileri. Ankara Üniv. Zir. Fak. Yıllığı, 1991-1992, 42 (1,2,3,4): 8-11, Ankara Üniv. Basımevi- Ankara.

**Karakullukçu, Ő., ve K. Abak, 1993a.** Patlıcanda Anter Kültürü Üzerinde Araştırmalar: 1. Elverişli Tomurcuk gelişme Döneminin Belirlenmesi. Doğa Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi. 17 (3): 801-810.

**Karakullukçu, Ő., ve K. Abak, 1993b.** Patlıcanda Anter Kültürü Üzerinde Araştırmalar: 2. Şeker ve Büyümeyi Düzenleyicilerin Etkileri. Doğa ve Türk Tarım Orman Dergisi. 17 (3): 811-820.

**Karman, M. 1971.** Bitki Koruma Araştırmalarında genel Bilgiler. Denemelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları. Türkiye Cumhuriyeti Tarım Bakanlığı Zirai



Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları. Merkezi Kitaplar Serisi. 279 s.

**Kashyap, V., D. Sihachakr, And M.N. Rajam. 2000.** Development of RAPD markers for Resistance to *Verticillium dahliae* in Eggplant. [http:// bgard-sci.kund.nl/eggnet/egginfo](http://bgard-sci.kund.nl/eggnet/egginfo).

**Keskin, G. 2004.** Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü T.E.A.E.-Bakış. Sayı 6 (10), Eylül 2004.

**Klug, W. S., and M. R. Cummings, 2003.** Genetik / Kavramlar s. 216.

**Kurtar, E., N. Sarı, K. Abak, 2002.** Obtention of Haploid Embryos and Plants through Irradiated Polen Technique in Squash (*Cucurbita pepo* L.). Euphytica 127: 335-344, Netherland.

**Laumonnier, 1952.** Cultures Maraicheres Librairie. 3. B. Bailliere et. Fils. Paris. 625 pp.

**Nascimento W.M., A.C. Torres, L.B. Lima 2003.** Pollen Viability In Hybrid Seed Production Of Eggplant Under Tropical Conditions. ISHS Acta Horticulturae 607: [IX International Symposium on Timing of Field Production in Vegetable Crops](#)

**Neshev G., Irena Ivanova, L. Krusteva, 1997.** Response of different eggplant cultivars to Verticillium Wilt, Proceedings of the First Balkan Simposium “Vegetables & Potatoes”- Beograd, in: Acta Horticulture, N 462, vol. 2, ISHS, pp. 763-765 .

**Orestein, J., A. Nacmias, and H. Lips, 1989.** İnhibition of Tomato Root Growth in Culture by a *Verticillium dahliae* phytoalexin. Pytoparasitica 17(4): 427-438

**Prabbhavathi, K., K. Kumar, S. Singh, M. Mathews, 2003.** *In vitro* Induction of Haploid in Eggplant (*Solanum melongena* L.). Capsicum & Eggplant Newsletter, no. 22:147-150.

**Perez, A. 1996.** An Economic Assesment of the Feasibility of Providing. Multiple –Peril Crop. Economic Research Service, USDA p.24.

**Pessaraki, M. M., R. Dris. 2003.** Effect of regulators on Eggplants: genetic Engineering Issues. Department of Biochemistry and Molecular Biophysics. The University of Arizona, Tucson, USA.

**Pessaraki, M. M., D. Ramdane, 2004.** Pollination and Breeding of Eggplant. Food, Agriculture & Environment Vol. 2 (1): 218-219.

**Reinert, J., Y.P.S. Bajaj, 1977.** Anther Culture: Haploid Production and its Significance. In: Plant Cell, Tissue and Organ Culture (eds: J. Reinert and Y.P.S. Bajaj) Springer Verlag, New York, pp:251-264.

**Robinson, R.W., J.W Shail, Y. Gao and S. Doğanlar. 2000.** Interspecific Hybridization of Eggplant for Verticillium Wilt Resistance and other Useful Traits. <http://bgard-sci.kund.nl/eggnet/egginfo>.

**Rotino, G.L., A. Falavigna, F. Restaino, 1987.** Production of Anther-Derived Plantlets of Eggplant. Capsicum Newsletter, 6 (1987), 89-90.

**Salata, Y., T. Nishio, S. Mon, N. Marinkovic, Z. Miladinovic, D. Stevanovic, D. Gvozdenovic, and D. Jankulovski, 1989.** Resistance of Solanum Species to *Verticillium* Wilt and Bacterial Wilt. EUCARPIA VII th Meeting on Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplant, Kragujevac, Yugoslavia, 27-30 June 1989, 177-181.

**Sarı, N., K. Abak, 1996.** Haploid Karpuzda *in vitro* Kromozom Katlaması Amacıyla Değişik Doz ve Sürelerde Uygulanan Kolhisin Etkisi. Tr. J. of Agriculture and Forestry 20 (1996) 555-559 TÜBİTAK.

**Singh, A.K., M. Singh, R. Singh, S. Kumar and G. Kalloo. 2006.** Genetic Diversity within the Genus *Solanum* (Solanaceae) as Revealed by RAPD Markers. Current Science, Vol. 90, No. 5, 10 March 2006.

**Sunseri, F., A. Sciancalepore, G. Martelli, N. Acciarri, G. L. Rotino, D. Valentino And G. Tamietti. 2003.** Development of RAPD-AFLP Map of Eggplant and Improvement of Tolerance to *Verticillium* Wilt. Acta Hort. 625, ISHS. 2003.

**Sürmeli, N. 2004.** Geriye Melezleme. Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Islah Kursu (Yayımlanmamış).

**Şeniz, V. 1990.** Bahçe Bitkilerinin Islahı. Genişletilmiş II. Baskı. Uludağ Üniv. Zir. Fak. Ders Notları No: 13, 275 s.

**Tamietti, G., D. Valentino, 2001.** Soil solarization: A Useful Tool for Control of *Verticillium* Wilt and Weeds in Eggplant Crops under Plastic in The Po Valley. JPP Volume 83(3) November 2001. [http://agr.unipi.it/sipax/jpp/Journals/abst\\_1101.htm](http://agr.unipi.it/sipax/jpp/Journals/abst_1101.htm)

**Tan, A. 1994.** Yabani Pancar Türlerinde Modifiye Edilmiş Lactopropionic Orcein Ezme Yöntemi İle Kromozom Çalışmaları. Anadolu Journal of AARI, 4 (1): 1-7.

**Turhan, G. and K. Turhan, 1989.** Suppression of Damping off on pepper caused by *Pythium ultimum* Trow and *Rhizoctonia solani* Kühn. by some new antagonists in comparison with *Trichoderma harzianum* Rifai. *J. Phytopathology*, 126: 175-182.

**Uçkun, Z. 2001.** İzmir, Aydın ve Denizli İlleri Buğday Alanlarındaki Kök Boğazı Hastalıklarının Yoğunluğunun Etmenlerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. s.63 (Yayımlanmamış).

**Uslu, S. 2004.** Bazı Solanum Türlerinde Süspansiyon Kültürü Kullanılarak *Verticillium dahliae*'ye Dayanıklılık ile Fitoaleksinin Oluşumu Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. s. 111. Ankara.

**Vural, H., D. Eşiyok, ve İ. Duman, 2000.** Kültür Sebzeleri (*Sebze Yetiştirme*). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü. Bornova İzmir. 306 s.

**Wiggins, E. 2003.** *Verticillium* Wilt of Tomatoes and Patatoes. University of Minnoseto Extension service p.261.

**Zhukowsky, P. M. 1958.** Cultivated Flora of the USSR. XX. Vegetable Plants Fam. *Solanaceae*. P.B.A. 642.

## TEŞEKKÜR

Bitki ıslahı ve özellikle hastalıklara dayanıklılık ıslahı açısından büyük önem taşıyan bu araştırma konusunu bana veren, çalışmam süresince engin deneyim ve yardımlarını esirgemeyen değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Vedat ŞENİZ'e içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin her aşamasında görüş ve önerileri ile beni yönlendiren Tez İzleme Komitesinin değerli üyelerinden Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkiler Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Atilla ERİŞ'e, Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç Dr. Himmet TEZCAN'a ve Tarla Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç Dr. Nazan DAĞÜSTÜ'ne teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmamın haploidizasyon kısmında bilgi ve tecrüberi ile her zaman bana yardımcı olan Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Şebnem ELLİALTIOĞLU'na teşekkür ederim.

Tezimin patojenisite testinde kullandığım izolatın *V. dahliae* olduğunu PCR tespit ederek bana gönderen ve çalışmamıza bu vesile ile çok büyük destekte bulunan Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Seher BENLİOĞLU'na bu desteğinden dolayı teşekkür ederim.

Dayanıklı ve dayanıksız hatlar arasındaki polimorfizmi tespit etmek amacıyla yapmış olduğumuz RAPD analizinde bilgi tecrübelerini esirgemeyen Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkiler Bölümü Öğretim Görevlisi Dr. Ali Fuat GÖKÇE'ye teşekkür ederim.

Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü ve Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü İdaresine ve personeline, gerekli finansman ve desteği sağladıkları için teşekkür ederim.

Çalışmamın başlangıcında bilgi ve tecrübelerini bana aktaran Sayın Uz. Nurten SÜRMEİLİ'ye teşekkür ederim.

Araştırmamın Bitki Koruma bölümü ile ilgili kısmında benden hiçbir zaman yardımını esirgemeyen Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Bitki Koruma Bölüm elemanı Uz. Zafer UÇKUN'a teşekkür ederim.

Kromozom sayımı aşamasında yardımlarını esirgemeyen Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkiler Bölümü Araştırma Görevlisi arkadaşım Dr. Nuray AKBUDAK'a teşekkür ederim.

Doktoraya başladığımda henüz bir aylık olan ve benim tüm yoğun çalışma tempomda uysal ve anlayışlı bir çocuk olan oğlum Çağrı BAŞAY'a teşekkür ederim.

Doktoramın her aşamasında maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen, büyük özveri ve sabırla her yönden bana destek olan eşim Fuat BAŞAY'a ve beni tüm eğitim öğretim hayatım boyunca destekleyen, daima arkamda hissettiğim aileme sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

## **ÖZGEÇMİŞ**

İlk ve Orta Öğrenimini Bursa'da tamamladı. 1995 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri bölümünden mezun oldu. Bir yıl Ege Üniversitesinde Yabancı Diller Bölümünde İngilizce Hazırlık Programına devam etti. 1996 yılında Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde Yüksek Lisansa başladı. 1998 yılında aynı bölüme Araştırma Görevlisi olarak atandı. "Farklı Kırmızı Turp Çeşitlerinin Normal ve Modifiye Atmosferde Muhafazası" konulu yüksek lisans tezini tamamladıktan sonra 2000 yılında aynı bölümde Doktora Programına başladı. Aynı yıl Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Sebzeçilik bölümünde göreve başladı . Halen aynı Enstitüde görevine devam etmektedir.