

**MOLEKÜLER MARKIR KULLANARAK BAZI YEREL
SOĞAN (*Allium cepa* L.) ÇEŞİTLERİNDE ve ISLAH
EDİLEN SAF HATLARDA SİTOPLAZMALARIN
BELİRLENMESİ**

Elif ÖZOKUTANOĞLU



T.C

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MOLEKÜLER MARKIR KULLANARAK BAZI YEREL SOĞAN
(*Allium cepa* L.) ÇEŞİTLERİNDE ve ISLAH EDİLEN SAF HATLARDA
SİTOPLAZMALARIN BELİRLENMESİ**

Elif ÖZOKUTANOĞLU

Prof. Dr. Erdoğan BARUT
(Danışman)

Yrd. Doç. Dr. Ali Fuat GÖKÇE
(İkinci Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

BURSA 2013

TEZ ONAYI

Elif Özokutanoğlu tarafından hazırlanan “Moleküler Markır Kullanarak Bazı Yerel Soğan (*Allium Cepa* L.) eşitlerinde ve Islah Edilen Saf Hatlarda Sitoplazmaların Belirlenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Erdoğan Barut

İkinci Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ali Fuat Gökçe, Niğe Üniversitesi

Başkan : Prof. Dr. Erdoğan BARUT
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi,
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. H. Özkan SIVRİTEPE
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi,
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Himmet TEZCAN
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi,
Fitopatoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Nuray AKBUDAK
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi,
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ali Fuat GÖKÇE
Niğe Üniversitesi
Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi,
Genetik ve Uygulamalı Islah Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ali Osman DEMİR
Enstitü Müdürü
30/07/ 2013

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
 - atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
 - kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
 - ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.**

21 / 08 / 2013

Elif Özokutanoğlu

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

MOLEKÜLER MARKIR KULLANARAK BAZI YEREL SOĞAN (*Allium cepa* L.) ÇEŞİTLERİNDE ve ISLAH EDİLEN SAF HATLARDA SİTOPLAZMALARIN BELİRLENMESİ

Elif ÖZOKUTANOĞLU

Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Erdoğan BARUT

İkinci Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ali Fuat GÖKÇE (Niğde Üniversitesi)

Yemelik soğanlarda (*Allium cepa* L.) ticari olarak hibrit tohum dünyada sitoplazmik-genik erkek kısırlık (CMS) kullanılarak üretilmektedir. Sitoplazmik-genik erkek kısırlık sisteminde ana hat olarak erkek kısır (S-*msms*), idameci hat olarak erkek fertil (N-*msms*) ve hibrit tohum üretiminde baba hat olarak kullanılacak erkek fertil (S- / N-*MSMS*) hatlara gerek duyulmaktadır. Klasik seleksiyon ve ıslah yöntemi ile erkek kısır ana hat ile erkek kısırlığın devamını sağlayan idameci baba hattın genetik özelliği bilinmeyen bir populasyondan veya melezleme yolu ile elde edilen ıslah hatlarından seçilebilmesi için altı ila sekiz yıl gerekmektedir. Bu gün soğanların sitoplazmasında (cpDNA ve mtDNA) bulunan farklılıklar ile fertil (N) ve steril (S) sitoplazmalar kolayca belirlenebilmektedir. Moleküler markır yöntemi ile sitoplazmaları belirlemek klasik yöntemle göre daha kesin ve kısa sürede yapılabilir. Moleküler markır ile sitoplazma belirlenerek, bir ıslahçı kolayca erkek kısır bireylerin oranını hesaplayabilir ve idameci bireyleri belirlemek için gerekli ıslah maliyetini önemli ölçüde azaltabilir. Bu araştırma ile yerel soğan populasyonları ile saf ıslah hatlarının sitoplazmaları belirlenmiştir. S-sitoplazmaya sahip bireyler arasından hibrit tohum üretimi için erkek kısır ana hat ile N-sitoplazmaya sahip bireylerin arasından da idameci hatların seçimi olasılığı belirlenmiştir.

Bu çalışmada, Türkiye’de yerli hibrit soğan tohumu üretimi ve soğan tohumu ihtiyacının karşılanması için 10 adet ticari soğan popülasyonu (Bereket, Beyaz Bilek, Hazar, Kapıdağ Moru, Karbeyazı, Metan 88, MT 101, Seç, Seyhan ve Viktorya) ile 60 adet saf hat olmak üzere toplam 70 genotip, bitki materyali olarak kullanılmıştır. Toplam 70 genotipin cpDNA yönünden 54 tanesi S-, 16 tanesi N-; mtDNA yönünden 51 tanesi S-, 14 tanesi N-, 3 tanesi G- ve 2 tanesi de T-sitoplazmik yapıda oldukları tespit edilmişlerdir. Çalışmada kullanılan ticari çeşitlerden Bereket, Burgaz, Hazar, Karbeyazı, MT 101, Seç ve Viktorya çeşitlerinin sitoplazması S-tipi, Seyhan çeşidi ise T-tipi çıktığından bunlardan hibrit üretebilmek için N-sitoplazma tipinin geriye melezleme ile bu çeşitlere kazandırılması gereklidir. Beyaz Bilek ve Metan 88, N-sitoplazmik çıktıklarından erkek kısırlık için geriye melezleme ile S-sitoplazma gereklidir. G-sitoplazmik erkek kısırlık sistemi kullanılabilir. Islah hatları için ise aynı durum geçerli olmakla birlikte bunlardan 11037, 11039, 11041 ve 11043 kendileri için veya istenilen bir kaynak için erkek kısır ana, 11038 idameci ve 55 tanesi de hibrit tohum üretiminde tozlayıcı olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Hibrit Tohum, Sitoplazmik Karakterizasyon, Soğan, *Allium cepa* L.

2013, xi + 76 Sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

CYTOPLASMIC DETERMINATION OF SOME LOCAL ONION (*Allium cepa* L.) CULTIVARS and INBRED LINES USING MOLECULAR MARKER

Elif ÖZOKUTANOĞLU

Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Erdoğan BARUT

Second Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ali Fuat GÖKÇE (Nigde University)

Cytoplasmic-genic male sterility (CMS) is used to produce commercial hybrid-onion (*Allium cepa* L.) seed in the world. Male sterile (S-*msms*) as a female line, male fertile (N-*msms*) as a maintainer line, and male fertile (S-/N-*MSMS*) as a pollinator line are required in the cytoplasmic-genic male sterility system for hybrid seed production. Presently it takes six to eight years to select male sterile female line and male sterile maintainer male line from an uncharacterized population or segregating family using classical selection and breeding methods. Today polymorphisms found in the cytoplasm (cpDNA and mtDNA) of onion can be readily used to identify normal (N) and sterile (S) cytoplasm. Identification of cytoplasm using molecular marker method can be carried out more accurately and in a shorter amount of time as compared to classical breeding methods. With molecular characterization of the cytoplasm, a breeder can determine the proportion of male sterile plants in populations and significantly reduces the investment required to identify individual maintainer plants. Cytoplasm in local commercial onion cultivars and breeding lines have been identified with this research. Probabilities of selecting male sterile female lines required to produce hybrid onion seed among S-cytoplasmic individuals and male fertile maintainer lines among N-cytoplasmic individuals were determined.

Ten commercial onion cultivars (Bereket, Beyaz Bilek, Hazar, Kapıdağ Moru, Karbeyazı, Metan 88, MT 101, Seç, Seyhan, and Viktorya) and 60 inbreds totaling 70 genotypes were used as plant materials in this research for producing domestic hybrid seed and meeting hybrid onion seed demand in Turkey. Out of 70 genotypes, 54 with S-, 16 with N-cytoplasmic in terms of cpDNA; 51 with S-, 14 with N-, 3 with G-, and 2 with T-cytoplasmic in terms of mtDNA were determined. Due to the fact that cytoplasm of Bereket, Burgaz, Hazar, Karbeyazı, MT 101, Seç, and Viktorya with S-type, Seyhan cultivar with T-type, N-cytoplasm introduction to these cultivars by back crossing is necessary to produce hybrids from these cultivars. S-cytoplasm transfer by back crossing is required for Beyaz Bilek and Metan 88 found with N-cytoplasmic. G-cytoplasmic male sterility system can be used as well. The same thing is valid for breeding lines. And yet breeding lines 11037, 11039, 11041, and 11043 as male sterile, 11038 as a maintainer and the other 55 lines can be used as pollinators for them or for a desired source genotype.

Key words: Hybrid Seed, Cytoplasmic Characterization, Onion, *Allium cepa* L.

2013, xi + 76 Pages.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Hibrit tohum üretiminde gerekli erkek kısır ana ve erkek fertil baba adaylarının seçimi klasik ıslah yöntemi ile altı ila sekiz yıl alırken moleküler tekniklerden yararlanılarak sitoplazma tiplerinin belirlenebilmesi oldukça kısa zaman almakta ve kolaylık sağlamaktadır. Soğanların iki yıllık bir tür olması, hibrit soğan ıslah çalışmalarını kısıtlamakta ve bundan dolayı da ülkemizde standart çeşit üretimi yoğunluklu olarak gerçekleşmektedir. Hibrit soğan tohumu ihtiyacında dışa bağımlılığı azaltmak için yapılan çalışmalar doğrultusunda ülkemizde Balıkesir ili, Bandırma ilçesi, Çepni Köyü'nde bulunan MTN Tohumculuk Ltd. Şti.'nin AR-GE arazisinde ilk hibrit soğan tohumu üretimi gerçekleştirilmiştir. Soğan ıslahı ile ilgili pek fazla çalışma bulunmayan ülkemizde, hibrit tohum çalışmaları ile önemli bir gelişme sağlanmıştır. “Moleküler Markır Kullanarak Bazı Yerel Soğan (*Allium cepa* L.) Çeşitlerinde ve Islah Edilen Saf Hatlarda Sitoplazmaların Belirlenmesi” isimli yüksek lisans tez çalışmam Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Laboratuvarları ile MTN Tohumculuk Ltd Şti.'nin AR-GE sahası ve laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Tez danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Ali Fuat Gökçe'nin 11.03.2013 tarihinde kurum değiştirmesinden dolayı Uludağ Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği gereği Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Erdoğan Barut birinci danışman olarak atanmıştır.

Yüksek lisans tez çalışmam boyunca bu alanda çalışmamı sağlayarak bana her zaman sonsuz destek veren, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, değerli bilgileri, önerileri ve eleştirileri ile çalışmamın şekillenmesinde beni yönlendiren değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Ali Fuat Gökçe'ye teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın gelişmesinde bilgilerine başvurduğum yardımlarını esirgemeyen sayın hocalarım Prof. Dr. Erdoğan Barut ve Doç. Dr. Nuray Akbudak'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamızın finansal desteğini sağlayarak, çalışmamın sorunsuz tamamlanmasında 110 O 665 nolu proje ile katkısı bulunan TÜBİTAK ve MTN Tohumculuk Ltd. Şti.'ne teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca arazide ve laboratuvarda yapılan çalışmalarda yardımlarını esirgemeyen, sevgili arkadaşlarım Ziraat Mühendisleri Nazife Başar, İlkay Odabaş, Ahmet Candar'a ve de bölüm arkadaşlarım Tuğba Yener, Şenay Murat, İpek Akın, Araştırma Görevlileri Sevin Teoman ve Bülent Şentürk'e teşekkür ederim.

Hayatımın her anında yanımda olan, attığım her adım, aldığım her kararda beni her zaman destekleyen ablam Sibel Kara'ya, sevgilerini esirgemeyen, bana maddi ve manevi güç veren değerli Kaderlioğlu ve Özokutanoğlu ailelerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın son dokuz yılında gösterdiği desteği, sevgisi ve sabrı ile bana her an güç veren sevgili eşim Özer Özokutanoğlu'na sonsuz teşekkürler.

Elif ÖZOKUTANOĞLU

21 / 08 / 2013

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	18
2.1 Soğan Genetik Çalışmaları.....	18
2.2 Soğanlarda Hibrit Çeşit Islahı.....	26
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	30
3.1. Materyal.....	30
3.2. Yöntem.....	37
3.2.1. Baş soğandan tohum üretimi.....	37
3.2.2. Tohumluk hasadı.....	41
3.2.3. Tohumların ekimi.....	44
3.2.4. DNA için yaprak örneklerinin alınması.....	45
3.2.5. Stok solüsyonların hazırlanması.....	46
3.2.6. Yaprak örneklerinden DNA çıkartma.....	46
3.2.7. Primerlerin seçimi.....	49
3.2.8. Çıkartılan DNA'ların çoğaltılması ve elektroforezde yürütülmesi.....	50
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	51
4.1. DNA Yoğunlukları ve PCR İçin Uygun Miktarın Belirlenmesi.....	51
4.2. Çıkartılan DNA'ların GAF01 ve GAF02 Primerleri ile Kloroplast Genom Tipini Belirleme.....	52
4.3. Çıkartılan DNA'ların GAF03 ve GAF04 Primerleri ile Mitokondri Genom Tipini Belirleme.....	58
4.4. Çıkartılan DNA'ların GAF05, GAF06 ve GAF07 Primerleri ile Mitokondri Genom Tipini Belirleme.....	60

4.5. Soğan Genotiplerinin Sitoplazmik Olarak Sitotipinin Belirlenmesi.....	62
5. SONUÇ	65
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ	75

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler	Açıklamalar
°C	Derece Celsius
%	Yüzde
Fe	Demir
K	Potasyum
m ²	Metrekare
mM	Milimolar
M ⁺²	Magnezyum
M	Molar
<i>Ms</i>	Erkek kısırlık geni (Male Sterility)
<i>MS</i>	Erkek kısırlık geni baskın alleli
<i>ms</i>	Erkek kısırlık geni çekinik alleli
<i>MSMS</i>	Saf baskın erkek kısırlık genotipi
<i>MSms</i>	Melez erkek kısırlık genotipi
<i>msms</i>	Saf çekinik erkek kısırlık genotipi
N	Azot
Na	Sodyum
NaOH	Sodyum Hidroksit
NaCl	Sodyum klorit
P	Fosfor
pH	Potansiyel Hidrojen
S	Kükürt
V	Volt

Kısaltmalar	Açıklamalar
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AC43	Alisa Crake soğan çeşidi 43
ACSOs	Alkyl Sistin Sulphoxides
AFLP	Amplified fragment lenght polymorfizm
AOB272	<i>Allium</i> Okyan Bark 272. RFLP markırı
bç	Baz Çifti
BYG15-23	Bringham Yellow Globe soğan çeşidi 15-23
CAPS	Cleaved amplified polymorphisms (çoğaltılıp kesilen farklılıklar)
CMS	Sitoplazmik-genik erkek kısırlık
CMS-C	C tipi sitoplazmik-genik erkek kısırlık
CMS-S	S tipi sitoplazmik-genik erkek kısırlık
CMS-T	T tipi sitoplazmik-genik erkek kısırlık
CTAB	Hexadesiltrimetilamonyum bromid
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DNAz	Deoksiribonükleaz
dNTPs	Deoksiribonükleotid Trifosfat
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EtBr	Etidyum Bromür
FAO	Food and Agriculture Organization
g	Gram
ha	Hektar
kcal	Kilokalori
kg	Kilogram
L	litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mtDNA	Mitokondrial DNA
NCBI	DNA dizin bankası (National Center for Biothechnology Information)
ng	Nanogram
PCR	Polymerase Chain Reaction (Çoklu zincir reaksiyonu)
ppm	part per milion (Milyonda kısım)

RNA	Ribonükleik Asit
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SNP	Single nucleotide polymorphism (tek nükleotid farklılığı)
SDS	Sodyum dodesil sülfid
TBE	Tris Borik Asit EDTA
TE	Tris EDTA
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UV	Ultraviyole
$\mu\text{g/mL}$	Mikrogram/Mililitre
μL	Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1.1. Soğan hatlarının 2011 yılı tohum artış kafes No. ve 2012 yılı baş soğan üretim parselinden rastgele alınan soğanların tüm ve enine kesit resimleri	34
Şekil 3.2.1.1. Baş soğanların dikimden önce seçimi.....	37
Şekil 3.2.1.2. Baş soğanların enine kesilerek seçimi	38
Şekil 3.2.1.3. Baş soğanların tohum üretimi için 10x60 cm mesafeli 9 m ² parseli	38
Şekil 3.2.1.4. Eğri çiçek saplı olan bitkilerin negatif seleksiyonu	39
Şekil 3.2.1.5. Tohum üretim parselindeki soğan çiçek saplarının bağlanması	40
Şekil 3.2.1.6. Soğan çiçeklerinin kafes içerisine alınması	40
Şekil 3.2.1.7. Kafesler içerisinde tozlanmanın karasinekler ile gerçekleşmesi	41
Şekil 3.2.2.1. Soğan çiçek toplarının hasat edilerek kese kağıtlarına alınması.....	41
Şekil 3.2.2.2. Hasat edilen soğan çiçek toplarının patoz ile parçalanması.....	42
Şekil 3.2.2.3. Suya daldırma ile tohumların sap saman kısımlarından ayrılması	43
Şekil 3.2.2.4. Suya daldırma yöntemi ile temizlenen tohumların oda sıcaklığında kurutma kağıtları üzerinde ön kurutmaya tabi tutulması.	43
Şekil 3.2.2.5. Tohumların zarflara konularak sıcaklık ve nem kontrollü tohum odasında depolanması	43
Şekil 3.2.3.1. Tohum ekimi yapılmış viyollerin seraya (A) ve plastik yüksek tünellere (B) konularak soğan fidelerinin üretimi.....	44
Şekil 3.2.4.1. DNA izolasyonu için soğan fidelerinden yaprak örneklerinin alınarak tüplere konulması.....	45
Şekil 4.1.1. Çıkarılan DNA örneklerinden 10ul hacmin içerdiği DNA miktarlarının agaroz jelde görüntüleri (1 000 bç'lik DNA ölçü bandı 142 ng DNA içermektedir).....	51
Şekil 4.2.1. GAF01 ve GAF02 primerleri ile çoğaltılan PCR ürününün agaroz jel görüntüsü. B, C ve D'de kontrol 1750A'daki 1 000 bç bant S sitoplazmayı, 1750B'deki 1 100 bç bant ise, N sitoplazmayı göstermektedir	53
Şekil 4.3.1 GAF03 ve GAF04 primerleri soğan ile 4-10 ng DNA kullanılarak elde edilen PCR ürününün agaroz jel görüntüsü. 473 bç bant mitokondrinin S ya da T tipinde, 473 bç bant olmaması da N ya da <i>galanthum</i> sitoplazma olduğunu göstermektedir	59

Şekil 4.4.1. GAF05, GAF06 ve GAF07 primerleri ile çoğaltılan PCR ürününün agaroz jel görüntüsü. A, B, C ve D’de kontrol 1750A’daki 414 bç bant S ya da *galanthum* (G) sitoplazmayı, 1750B’deki 180 bç koyu bant ise N ya da T sitoplazmayı, dördüncü (D) tarak sağdan ikini göz ise negatif kontrolü ve o gözün altındaki bant primerleri göstermektedir 60

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1.1. Soğan genotiplerinin sıra numarası, 2011 kafes numarası, baş soğan kabuk rengi, yaprak örneği alınan bitki sayısı, DNA tüp numaraları ve konsantrasyonları (ng/µl)	31
Çizelge 3.2.7.1. Soğan hatlarının sitoplazma genotipini belirlemede kullanılan primerlerin adı, DNA dizini, çoğaltılan bitki DNA'sında N-, S-, veya T- sitoplazma tipi için beklenen DNA parçası boyları.....	49
Çizelge 4.2.1. Soğan hatları No., soğan kloroplast DNA'ları primerlerden ikili olarak GAF01 ile GAF02 ve mitokondri DNA'ları GAF03 ile GAF04, üçlü olarak GAF05, GAF06 ve GAF07 ile çoğaltıldığında beklenen DNA boyları ve markırlar ile belirlenen kloroplast ve mitokondri tipleri	54
Çizelge 4.5.1 Moleküler markırlar için kullanılan PCR primer çiftleri, bu çiftler ile çoğaltılan DNA baz çifti (bç) olarak bant boyları, bakılan bant var (1), yok (0) veya zayıf bant (0/1) anahtarına göre sitoplazma tiplerini göstermektedir.....	62
Çizelge 4.5.2. Soğan ıslah hatları ve ticari çeşitlerin kloroplast ve mitokondri tipleri ile sayıları.....	63

1. GİRİŞ

Allium türlerinden soğan, pırasa ve sarımsağın yetiştiricilik tarihi insanlık tarihi kadar eskiye dayanmaktadır. *Allium* türleri geniş yayılım alanı gösterip ılıman ve kuzey bölgelerde yarı kurak alanlarda geniş yayılım alanı bulurlar (Brewster 1994, 2008). Gökçe (2001) tarafından bildirildiğine göre; soğanın anavatanı hakkında yazarlar (Vvedensky 1944, McCollum 1976, Hanelt 1990) tarafından farklı görüşler olmakla birlikte birincil merkez olarak Afganistan, Pakistan, Tacikistan ve İran'ın kuzey kesimleri; bazı yazarlar tarafından ise ikincil merkezli anavatanı diye tabir edilen yerler Yakın Doğu Asya, Akdeniz ülkeleri ve Türkmenistan'ın dağlık kesimleridir. Yine Gökçe (2001) tarafından bildirildiğine göre; özellikle büyük başlı soğan tiplerinin olmak üzere soğanların ikincil gen merkezinin Anadolu ve Akdeniz iklim kuşağının olduğu bölgeler olabileceğine dair görüş de mevcuttur (Vavilov 1951, Baytop ve Mathew 1984).

Soğanın tarihi oldukça eski yıllara kadar uzanır; öyle ki Mısır'da bulunan piramitler üzerindeki soğan figürleri Mısırlılar tarafından soğanın bol miktarda tüketildiğinin ve Mısır halkı için değerli bir besin kaynağı olduğunun; İncil ve Kuran'da soğandan bahsedilmesi soğanın ilk zamanlardan bu yana insan hayatında önemli bir yeri olduğunun en büyük göstergeleridir. Eski Mısır'da piramitlerin yapımında işçilere yemeleri için erzak olarak ucuz ve popüler bir sebze olan soğan verildiği biliniyordu. Büyük İskender, soğanları Mısırdan Yunanistan'a getirmiş ve fetih orduları yoluyla Avrupa'ya yayılmasını sağlamıştır (Platt 2003). Yaklaşık beş bin yıllık geçmişi olan soğan ilk zamanlardan bu yana tıbbi kaynaklı bitkisel ürün olarak kullanılmış olup günümüzde de hala medikal anlamda yaygın olarak kullanılmaktadır (Havey ve ark. 2004a).

Alliaceae familyasında bulunan yenilebilir soğanlar *Allium* cinsi içerisinde yer alır. *Allium* cinsi, soğan gibi aynı cins içerisinde bulunan ve de soğanın bir nevi akrabaları olarak tabir edilen şalot, sarımsak, pırasa gibi diğer türleri de içine almıştır (Stearn 1944, Jones ve Mann 1963, Traub 1968a ve 1968b).

Büyük bir grup olan *Alliaceae* familyası yaklaşık olarak 700 tür içermekte olup *Allium cepa* L. yenilebilir türlerde ilk sırada yer alırken, soğanı takiben ikinci sırada sarımsak ve sonrasında şalot ve pırasa takip etmektedir (Stearn 1944, Jones ve Mann 1963, Ved Brat 1965, Cronquist 1968, Traub 1968a ve 1968b, Cronquist ve ark. 1977, Kolmann ve ark. 1983, Hanelt 1990, Meer ve Hanelt 1990, Brewster 1994, Havey 1995a).

Yenilebilir soğangiller hakkında şimdiye kadar çalışmaları olan bazı yazarlara (Stearn 1944, Jones ve Mann 1963, Ved Brat 1965, Cronquist 1968, Traub 1968a ve 1968b, Cronquist ve ark. 1977, Kolmann ve ark. 1983, Hanelt 1990, Meer ve Hanelt 1990, Brewster 1994, Havey 1995a) göre genel bir sınıflandırma yapıldığında; Bitkiler Alemi, Çiçekli Bitkiler Şubesi, Tek Çenekliler Sınıfı, Asparagales Takımı, *Alliaceae* Familyası, *Allium* cinsi içerisinde yer alan türlerdir. Bu türlerden en önemlileri:

1. *Allium cepa* L. (Soğan)
 - a) *Allium cepa* L. var. *cepa* (Mutfak soğanı, adi soğan)
 - b) *Allium cepa* L. var. *aggregatum* Don. (Şalot ve patates soğanı)
 - c) *Allium cepa* L. var. *viviparum* Metz (Tepe soğanı)
2. *Allium fistulosum* L. (Gal soğanı)
3. *Allium schoenoprasum* L. (Frenk soğanı)
4. *Allium sativum* L. (Sarımsak)
5. *Allium ampeloprasum* L. (Pırasa grubu)
 - a) *Allium ampeloprasum* var. *porrum* (L.) J.Gay (Pırasa)
 - b) *Allium ampeloprasum* var. *kurrat* Schweinf. ex Krause (Kurrat)
 - c) *Allium ampeloprasum* var. *ampeloprasum* L. (Büyük başlı sarımsak veya fil sarımsağı)
6. *Allium chinense* L. (Rakiyo)
7. *Allium tuberosum* L. (Çin soğanı)
8. *Allium roylei* L.

1) *Allium cepa* L. (soğan) türü ayrıntılı olarak ele alınmadan önce *Allium* cinsi içerisindeki diğer bazı türler özetlenecek olursa; öncelikle *Allium cepa* L. türü içerisindeki botanik varyetelerden bahsedilmektedir (Stearn 1944, Jones ve Mann 1963,

Ved Brat 1965, Cronquist 1968, Traub 1968a ve 1968b, Cronquist ve ark. 1977, Kolmann ve ark. 1983). Bunlar:

a) *Allium cepa* L. var. *cepa* (Adi soğan): Soğanlar çeşit özelliğine bağlı olmakla birlikte genellikle iri ve tektirler. Gövde ile yaprak ayası arasında kalan kısmı soğanın yalancı gövdesi olarak bilinmekte ve genç bitkilerin hepsinde bulunmaktadır. Taze esas tüketilen kısımları ise bu kısımlardır. İçerisinde binlerce ufak çiçeklerden oluşan çiçek topluluğu (ambel) vardır ve çiçeklerde oluşan tohumları sayesinde tohumdan üretimleri gerçekleşmektedir. Dünya üzerinde yetiştirilen birçok çeşit bu grupta yer almaktadır.

b) *Allium cepa* L. var. *aggregatum* Don. (Birden fazla soğan oluşturanlar grubu): *Allium cepa* L.'nin bir formunu oluşturmaktadırlar. *Aggregatum* grubu, soğanlar (*Allium cepa* L.) gibi toprak altında baş oluşturmakta fakat soğanlardaki gibi tek baş oluşturmak yerine birçok baş topluluğu veya sürgün yapmaktadırlar. Çiçek sapları soğaninkine (*Allium cepa* L.) benzer yapı göstermektedir. Çiçekleri tohum meydana getirmektedir veya kısırdırlar. Çoğaltılmaları genellikle vegetatif yolla mümkün olmaktadır. *Aggregatum* grubu iki ayrı forma ayrılmaktadır. Bunlar:

i) Şalotlar: Tek baş oluşturmak yerine birden fazla lateral soğan meydana getirmekte böylece tek bir soğandan çok sayıda soğan oluşturmaktadırlar. Çiçek ve çiçeklenmeleri *Allium cepa* L. da olduğu gibidir. Şalotlar çok ince bir soğan aromasında olup pişirildiği zaman oluşan tadı, soğanın pişmiş halinde oluşan tadından daha tatlı bir lezzettedir. Sarımsağa benzer şekilde büyüme gösterirler ve dış kabuklarından soyulduklarında aynı sarımsaktaki gibi içerisinde üç ya da dört diş bulundurlar.

ii) Patates soğanı: Soğanları yuvarlak, basık ve kahverengi dış yapraklara sahip olup baş kısımları birbirlerine bitişik halde bulunurlar. Başları oldukça iri ve basıktır. Tek bir baştan yaklaşık dört ila yirmi arasında baş meydana getirebilirler. Çiçeklenme meydana getirmezler böylelikle tohumdan üretimi gerçekleşmemekte soğandan vegetatif olarak üretimleri gerçekleşmektedir.

c) *Allium cepa* L. var. *viviparum* Metz. (Tepe soğanı, mısır soğanı): Nadiren baş meydana getiren bir gruptur. Çiçek topluluğu üzerinde tepe arpacığı görülür ve bu tepe arpacıkları ile üretilir.

2) *Allium fistulosum* L. (Gal soğanı): Gal soğanı olarak bilinen *Allium fistulosum* L. doğu ve güneydoğu Asya ülkeleri ile özellikle Japonya, Kore ve Çin'de önemli bir tüketim kaynağıdır (Inden ve Asahira 1990). Genel olarak yeşil yaprakları için yetiştirilen tiplerinin yanında yalancı gövdesi için yetiştirilen formları da bulunmaktadır (Yamashita ve ark. 2005). Yapılan bir çalışmada *Allium fistulosum* L. popülasyonlarında erkek kısır bitkiler bulunmuş (Nishimura ve Shibano 1972) ve bu erkek kısır bitkilerin sitoplazmik erkek kısırlık kaynağına sahip olduğu bildirilmiştir (Moue ve Uehara 1985).

3) *Allium schoenoprasum* L. (Frenk soğanı): Frenk soğanı, soğan aromalı yeşil yaprakları için yetiştirilmektedir (Gökçe 2001). Soğana kıyasla daha küçük, kuru madde içeriği yüksek, daha keskin ve kışa dayanıklı, çiçekleri erkenci, kısa çiçeklenme periyodu ve tozlayıcılar için soğanlardan daha çekicidir. Tohumdan kolayca yetiştirilebilmektedir. Salatalarda, çorbalarda, soslarda ve birçok gıdada hafif bir soğan lezzeti vermek için kullanılır. Pembe, mor arası renge sahip çiçekleri ile dekoratif amaçlı süs bitkisi olarak kullanım alanları vardır.

4) *Allium sativum* L. (Sarımsak): Bütün dünyada yetiştirilen ve yaygın olarak Uzakdoğu ve Ortadoğu'da tüketilen sarımsağın anavatanının Orta Asya, İran, Pakistan, Anadolu ve Akdeniz ülkeleri olduğu kabul edilmektedir (Hanelt 1990). Ülkemizin hemen hemen her bölgesinde yetiştirilen sarımsağın çevre şartlarına iyi adaptasyon göstermesi bakımından yayılım alanı fazladır (Baytop ve Mathew 1984). Özellikle Trakya bölgesinde bol miktarda yetiştirilen Babaeski sarımsağı, Kastamonu ve çevresinde yetiştirilen Taşköprü sarımsağı, Balıkesir bölgesinde yetiştirilen Balıkesir sarımsağı, koyu yeşil renginden dolayı adını buradan alan Kara sarımsak, diğer sarımsak çeşitlerinden İspanyol sarımsağı, Konya sarımsağı, Muğla sarımsağı ve de Dünyada sadece Tunceli ilinde yetiştirilen endemik bir bitki olan Tunceli sarımsağı yaygın olarak yetiştirilen ve tüketilen sarımsak çeşitlerimizdir (Şalk ve ark. 2008). Sarımsak çok eski

yıllardan beri birçok hastalığın tedavisinde doğal sağlık kaynağı olarak kullanılmaktadır. Sağlık açısından kalp damar hastalıklarına olan etkisi, kan basıncını düzenleyici, immun sistemi güçlendirici, kan şekerini ve kolesterolü düşürücü görevi, bakteriyel, viral, mantar enfeksiyonlarına karşı savunma mekanizmasına sahip bir sebze olması keskin bir kokusu olmasına rağmen insanlar tarafından sarımsağın tüketilmesinde büyük rol oynamaktadır. İçerdiği alisin adlı kükürtlü bileşik sayesinde bakterisit bir etki göstermekte, dişlerde oluşan bakteri plaklarını engellemekte ve ağız dezenfektanı görevi görmektedir. Sarımsak genellikle vegetatif yolla dişleri ile çoğaltılmaktadır fakat son yıllarda yapılan araştırmalarda tohum ile üretiminin de mümkün olduğu rapor edilmiştir (Etoh 1986, Pooler ve Simon 1994).

5) *Allium ampeloprasum* L. (Pırasa grubu): Pırasanın anavatanı Akdeniz ülkeleri olarak bilinmektedir. *Allium ampeloprasum* L. farklı özelliklere sahip bir tür olup üç ayrı grupta incelenmektedir. Bunlar:

a) *Allium ampeloprasum* var. *porrum* (L.) J. Gay (Pırasa): Çiçeklerinin fertil olmasından dolayı tohumla üretilen pırasalar baş oluşturmayıp vegetatif gelişmelerinin ileriki evrelerinde baş olumuna benzer hafif şişme göstermektedirler. Soğana kıyasla daha geniş yayılma alanına sahiptirler ve nedeni ise pırasaların baş oluşturmamasıdır. Pırasalarda tüketilen kısım yaprak kınlarının iç içe geçmesi ile oluşan pırasanın yalancı gövdesi olarak bilinen kısımdır ve yalancı gövde üzerindeki yaprak kınlarının güneş alamayarak beyazlaması ile tüketim olmaktadır. Türk standartlarına göre ise birinci sınıf olarak adlandırılan pırasalarda beyaz kısım tüm uzunluğun en az üçte biri veya yenilebilir kısmın en az yarısı kadar uzunlukta olmalıdır (Engindeniz 2007). Pırasa iki yıllık bir büyüme periyoduna ihtiyaç duymaktadır. İlk yıl tüketilen ve yalancı gövde olarak bilinen kısmı meydana getirmekte, ikinci yıl generatif devreye geçip çiçek sapını meydana getirerek çiçek sapının ucunda soğandaki gibi çiçek topunu oluşturmaktadır. Çiçekleri erseliktir ve yabancı tozlanma görülür. Gövde rozet gövde şeklinde olup gelişmesi ve genişlemesi ile beraber saçak kökleri meydana getirir. Pırasa serin iklim sebzesidir ve 15-20°C'lik sıcaklıklarda ideal gelişme göstermektedir. Pırasalar tınlı, killi tınlı topraklarda iyi bir gelişme göstermektedir. Ülkemizde bitki gelişiminin önemli bir kısmı sonbahar ve kış aylarına denk gelmektedir. Çeşit özelliğine ve ekim dönemine

göre hasat geniş bir zamanı kapsar ki bu zaman aralığı erken sonbahardan erken ilkbahara kadar olan dönemi kapsayabilmektedir. Hasat genellikle bitkilerin topraktan el ile sökülmesi ile yapılmaktadır.

b) *Allium ampeloprasum* var. *kurrat* Schweinf. ex Krause (Kurrat): Mısır'da yaygın olarak üretilen kurrat, yeşil yaprak aksamaları için yetiştirilmektedir. Toprak üstü kısımları için yetiştirilen, tohumlarından üretimi yapılan bir tür olan kurrat, pırasadan küçük yapılı bitkileri ve ensiz yaprakları ile kolayca ayırt edilebilmektedir.

c) *Allium ampeloprasum* var. *ampeloprasum* L. (Büyük başlı sarımsak veya fil sarımsağı): Ülkemizde olmamasına rağmen Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri, Meksika, Arjantin gibi diğer ülkelerde yaygın olarak bulunan ticari açıdan önemli ve değerli bir türdür (Khazanehdari ve Jones 1997). Toprak altında genellikle sarımsağa göre az ancak büyük dişli iri başlar oluşturmaktadırlar. Çiçekleri çoğunlukla kısır olup nadiren çok az tohum meydana getirebilirler; fakat oluşan bu bitkilerin heksaploid yapıda olduklarından dolayı vegetatif olarak üretilmeleri söz konusudur (Şalk ve ark. 2008). Görünüş olarak sarımsağa benzemekle birlikte çok fazla çiçek sapı oluşturmamaları ve de çiçeklerinin pırasaya benzer yapı göstermesinden dolayı sarımsaktan ayrılmaktadırlar.

6) *Allium chinense* L. (Rakiyo): Soğan ailesine giren rakiyo, frenk soğanına benzerlik göstermektedir. İçi boş parlak yeşil yapraklara sahiptir. Orijini olan Asya'da çok yaygın yetiştirilen bir sebze olmasına rağmen ABD'de nadiren yetiştirilen bir türdür.

7) *Allium tuberosum* L. (Çin soğanı): Çin soğanı olarak da bilinen Çin kökenli ve Çin'de geniş bir yetiştirme alanına sahip *Allium tuberosum* L. türü, insan beslenmesinde kullanılmasının yanında yaprakları karın ağrısı, ishal gibi rahatsızlıklarda, yılan ısırıklarında tedavi amaçlı, tohumlarından da afrodisyak olarak tıbbi açıdan yararlanılmaktadır. Çiçeklenme ve bitkinin farklılaşması için uzun fotoperiyot dönemine ihtiyaç duymakta kısa gün koşullarında ise gelişme gösterememektedir (Kamenetsky ve Rabinowitch 2010). Çiçekleri parlak, beyaz renklidir ve uzun büyüme sapları vardır (Block 2010). İnce uzun yaprakları yaklaşık 40 cm kadar büyüme gösterir. Taze yaprak vermesi açısından büyüme sezonu boyunca birden fazla zamanda

kesilebilir. Asya'nın kuzey bölgelerinde doğal olarak yetiştirilip, Çin, Japonya, Kore, Nepal, Tayland ve Filipinlerde kültüre alınmış bir türdür (Yabuki ve ark. 2010).

8) *Allium roylei* L.: Bu türün çeşitleri batı Himalayalar'da, Hindistan'ın doğu Hindikush dağlarında, Pakistan ve Afganistan'da yetişme alanları bulunmaktadır. Yıllık yabani bir tür olan *Allium roylei* L. toprak altında soğanını oluşturmakta ve çoğaltılması çoğunlukla vegetatif yollarla sağlanmaktadır. Çiçeklenme dönemi Nisan ayının ilk haftalarında başlamakta ve Ağustosun sonuna kadar devam edebilmektedir. Bitkiler genellikle içi boş boru şeklinde tek çiçek sapı oluşturmakta ve bir çiçek sapı üzerinde oluşan çiçek topu üzerindeki bireysel çiçekler seyrek (gevşek) yapılı olmaktadır. Tozlaşma döneminde çiçekler sabah açılmasının yanı sıra akşam saatlerinde de sıralı bir şekilde meydana gelir. Çiçeklerin açılımı çiçek tomurcuğunun hafif açılması ve tek tepal yaprağın açılımı ile başlamakta ve bu olaydan yaklaşık bir buçuk saat sonra erkek organ dışarı doğru çıkış göstermektedir (Kohli ve Kaul 2011).

Dünyada ve ülkemizde soğan üretimi oldukça önemli bir yere sahiptir. Dünyada 2011 yılı itibari ile toplam sebze üretim alanı 56 690 617 ha olup bunun 4 290 645 ha alanında soğan üretimi yapılmaktadır. Bu alan içerisinde Türkiye'nin soğan üretim alanı ise 65 418 ha'dır. 2011 yılı FAO bilgilerine göre Dünya ortalama soğan verimi 1,99 ton/da'dır. Ülkemizde ise soğan verimi ortalama 3,27 ton/da'dır. 2011 yılında Dünyadaki toplam sebze üretim miktarı 1 087 591 892 ton olarak bildirilmiş bununda 85 375 125 tonu kuru soğan üretimi olarak gerçekleşmiştir. Türkiye'de soğan üretimi diğer birçok ülkeye kıyasla oldukça fazla olup bu miktar 2 141 370 ton dur (Anonim 2011a ve 2011b).

Kuru soğan üretimi yıldan yıla farklılık gösterdiğinden beş yıllık ortalama değerler daha gerçekçi bilgiler sunmaktadır. Nitekim TÜİK verilerine göre 2012 yılında 2011 yılına göre üretim miktarlarına bakıldığında sebzelerde %0,7 artış olmasına rağmen kuru soğanda %22,1 oranında azalış göstermiştir (Anonim 2013a). Son beş yılın ortalaması olarak FAO kaynaklarında kuru soğan üretim alanları bakımından Çin 975 485 ha ekim alanı ile birinci, Hindistan 917 058 ha alan ile ikinci, Nijerya 137 410 ha ile üçüncü, Pakistan 137 280 ha alan ile dördüncü, Bangladeş 121 428 ha alan ile beşinci sırada yer almıştır. Türkiye ise 66 597 ha ile onuncu sırada yer almıştır. Aynı dönem için Dünya

üretim alanı ortalaması 3 943 338 ha'dır. Aynı yıllar ortalama verim açısından değerlere bakıldığında ise Kore Cumhuriyeti 6,79 ton/da ile birinci, İrlanda 6,29 ton/da ile ikinci, A.B.D 5,56 ton/da ile üçüncü, Avustralya 5,02 ton/da ile dördüncü, Avusturya 4,97 ton/da ile beşinci ve Türkiye 2,94 ton/da ile yirmi dokuzuncu sırada yer almaktadır. Bu 5 yılı kapsayan değerlerin incelenmesi sonucunda kuru soğan üretim miktarlarındaki sıralama ise 21 789 698 ton ile Çin ilk sırada yer alırken bunu 14 134 280 ton ile Hindistan, 3 428 054 ton ile A.B.D, 2 015 148 ton ile Mısır, 1 960 932 ton ile İran ve 1 951 502 ton ile Türkiye altıncı sırada yer almıştır. Beş yıllık Dünya ortalamasına bakıldığında ise 77 040 934 ton kuru soğan üretimi olduğu görülmektedir (Anonim 2007a, 2008a, 2009a, 2010a ve 2011a).

Türkiye kuru soğan üretimi iç pazar ihtiyacını karşılayabildiği gibi ihracatta da önemli bir yer tutmaktadır. Ülkemizden kuru soğanın 2008, 2009 ve 2010 yılları ortalamasına bakıldığında en fazla ihracat yapılan ülkeler sırasıyla; Irak (55 983 ton), Rusya (30 050 ton), Gürcistan (11 645 ton), Bulgaristan (13 408 ton) ve Suudi Arabistan (4 239 ton) ilk sıralarda yer alan ülkelerdir. Belirtilen üç yılın ortalamasında Türkiye'nin Dünyaya ihraç ettiği kuru soğan miktarı 147 180 tondur. İhraç edilen kuru soğanların 2008, 2009 ve 2010 yılları ortalamasında ülkemizin ABD doları olarak gelir elde ettiği ülkelerin sıralaması; Rusya (7 282 330), Irak (3 790 670), Gürcistan (1 461 000), Ukrayna (1 286 670) ve Bulgaristan (1 111 000)'dir (Anonim 2008a, 2009a, 2010a).

TÜİK verileri doğrultusunda ülkemizde kuru soğan üretimi 2007-2011 yılları arasında Ardahan, Düzce, Giresun, Iğdır, Kars, Ordu, Rize, Trabzon, Yalova ve Zonguldak illerinde yapılmamış olup en fazla üretimin yapıldığı ilk beş il ise, Ankara, Amasya, Eskişehir, Adana ve Tokat'tır. Kuru soğan üretimi bakımından önemli bir yere sahip olan Bursa ili ise ortalama 83 432 ton ile iller genelinde sekizinci sırada yer almaktadır (Anonim 2007b, 2008b, 2009b, 2010b).

Soğan Türk mutfağında yemeklerin vazgeçilmez bir parçasıdır. Mutfaklarda hemen hemen her yemekte sıklıkla kullanılan soğan, gerek yemeklerde pişmiş olarak, gerek salatalarda çiğ şekilde ya da soğan tozu olarak sofralarımıza gelmektedir (Gökçe 2010 ve 2011). Soğanın yemeklere lezzet verici etkisinin yanında içerdiği besin maddeleri,

vitaminler ve mineraller bakımından da sağlığa yararlı katkıları bulunmaktadır (McCollum 1966, 1968, Galmarini ve ark. 2001, Havey ve ark. 2004a, 2004b). Sağlık yönünden en önemli besin değeri olan kuru maddeyi oluşturan karbonhidratlar sukroz, fruktoz ve glikozdur (Havey ve ark. 2004a, 2004b).

Besin değerleri incelendiğinde kuru soğanın 100 gr'ın ihtiva ettiği enerji 40 kcal; besin değerleri ise su 89,11 gr, karbonhidrat 9,34 gr, şeker 4,24 gr, protein 1,10 gr, yağ içeriği 0,10 gr; vitaminlerden C 7,4 mg, B3 0,116 mg, B1 0,046 mg, B2 0,027 mg; ve mineral maddelerden K 146 mg, S 70 mg, P 29 mg, Ca 23 mg, Mg 10 mg, Na 4 mg, Fe 0,21 mg olarak bildirilmiştir (Anonim 2013b).

İnsan uygarlığının başlamasından bu yana bitkisel ilaçlar hastalıkların tedavi edilmesinde en etken yol olmuştur. Soğan ve Alliaceae familyasından soğanın haricinde sarımsak kardiyovasküler ve diğer hastalıkları tedavi etmek için birçok kültürde binlerce yıldır geleneksel tıbbi uygulama yöntemi olarak kullanılmıştır (Havey ve ark. 2001, 2004a, 2004b). Her iki *Allium* türü, onların özleri ve bu bitkilerin kimyasal maddelerinin kardiyovasküler hastalıkta risk faktörleri üzerine kesin (hiperlipidemi, hipertansiyon ve hiperglisemi) ve şüpheli (trombosit agregasyonunu ve kan fibrinolitik aktivitesi) olası etkileri araştırılmıştır (Kendler 1987, Galmarini ve ark. 2001, Havey ve ark. 2001, 2004a).

Soğan iki kimyasalca zengin olup bunlar alkyl sistin sulphoxides (ACSOs) ve flavonoidlerdir. Flavonoidler bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerdir (Galmarini ve ark. 2001, Havey ve ark. 2001, 2004a, Şalk ve ark. 2008). Bitkilerde fazla miktarda bulunan fenolik bileşikler, bitkiyi böcek ve hayvan zararlarına karşı korur, gıdalarda acılık ve burukluğun kaynağını oluştururlar. Flavonoidlerin geniş bir grubu ise gıdaların rengini sağlarlar ve bu grup içerisinde yer alan antosiyaninler doğal renk maddeleri olup sebzeler, meyveler, meyve suları ve şarapların kırmızı, pembe ve mor renklerinden sorumludurlar. Doğal antioksidan madde özelliği de gösteren bu bileşikler kanser, akciğer hastalıkları gibi pek çok hastalığın da meydana gelmesine engel teşkil ederler (Nizamlioğlu ve Nas 2010). Soğanda bulunan flavonoid grubu, antioksaninler ise soğanda kuru kabuğun sarı renkte olmasını sağlamaktadırlar (Griffiths ve ark. 2002).

Augusti'ye (2000) göre Alliaceae familyasında bulunan soğan ve sarımsak hastalıkları tedavi edici ve koruyucu etkilerinden dolayı geniş ölçüde çalışılan *Allium* türleridir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda antibiyotik ve antidiyabetik rahatsızlıkların geleneksel kullanımları dışında, hipokolestolemik ve fibrinolitik maddeler içeriği ve antioksidan bakımından da sarımsak ve soğanın zengin olduğu bulunmuştur (Augusti 2000, Havey ve ark. 2001, 2004a, 2004b, Gökçe ve ark 2010). Soğanın beden yorgunluğunu giderdiği, vücuttaki su ve üreyi idrarla atmaya yardımcı olduğu, içerdiği inulin, frukto oligosakkaritler yardımıyla mide bağırsak sağlığını ve kalsiyum emilimini iyileştirdiği savunulmuştur (Augusti 2000). Tyramin adlı proteinin ise soğanda bulunması ile insanlarda damarları genişletici etkisinin bulunduğu, kükürtlü maddeler bulundurması ile de antiseptik etki yarattığı, astım, bronşit, grip gibi rahatsızlıklara karşı direnç sağladığı bildirilmiştir (Havey ve ark. 2001, 2004a, 2004b, Şalk ve ark. 2008).

Soğan ve yakın akrabalarının kendine has kokusu allyl-sulphide denilen kükürtlü bileşiklerden kaynaklanmaktadır. *Allium* türlerinin karakteristik kokusunu meydana getiren bu uçucu bileşikler, kesilen ya da yaralanan dokularda aslında kokusuz olan S-alkyl-L-cysteine sulphoxide adlı maddenin soğangillerde parçalanarak dokudaki allinaz enzimi ile değişikliğe uğramasıyla meydana gelmektedir. Enzim reaksiyonu sonunda pyruvate, amonyak ve göz yaşartıcı etkiye sahip thiopropanal-S-oxide oluşmaktadır. Dokuda parçalanarak azalma gözlenirken uçucu yapıdaki koku ve lezzeti meydana getiren disulphide'ler ve thiosulphonate'ler oluşur (Şalk ve ark. 2008).

Allium cepa L., normal olarak tohumdan diğer tohum dönemine iki büyüme sezonuna ihtiyaç duyan bir bitkidir. İlk sene tohumun ekiminden baş soğanın oluşması ve ertesi yıl baş soğanın toprağa dikiminden sonra soğanların çiçeğe kalkarak tohum oluşumu meydana gelir ve bu iki yıllık bir süreci gerektirmektedir. Zaman zaman, kullanılan soğan çeşidinin gerekli iklim şartlarının sağlanmadığı veya hassas ekim aletlerinin kullanılmadığı durumlarda tohumdan arpacık üretimine de gidilmektedir (Gökçe 2011). Baş soğan üretiminin arpacıktan yapılması durumunda; birinci yıl tohum ekiminin ardından oluşan arpacıklar ekilerek ikinci yılda baş soğan elde edilir. Böylece arpacıktan üretimde soğan, tohumdan tohuma üç büyüme sezonuna ihtiyaç duyar ki ilk

sene tohumun ekiminden arpacık soğanın oluşması ve ertesi yıl arpacıktan baş soğanların oluşması, üçüncü yılda çiçeğe kalkarak tohum oluşturması şeklinde üç yıllık bir süreci gerektirmektedir (Gökçe 2010 ve 2011).

Brewster (2008), *Allium* sebze köklerinin diğer birçok bitki türüne kıyasla daha ince ve seyrek dallanma şeklinde olduğunu belirtmiştir. Kök yapısı toprak altında toplu halde bulunan saçak kök şeklindedir. Köklerin yaklaşık olarak %75'i toprağın 20-25 cm altında gelişmekte, nadiren 50 cm ya da daha derinlere ulaşmaktadır (Gökçe 2010 ve 2011) ve etli kök yapısına sahip kökler ince, uzun ve beyaz renklidirler.

Soğanlarda depo yapraklarının alt kısmında yassı halde rozet gövde görülmekte ve rozet gövdenin orta kısmında ileride çiçek sapını oluşturacak büyüme ucu bulunmaktadır. Yaprak ayası ayırım bölgesi ile gerçek gövde arasında kalan kısım soğanın yalancı gövdesini oluşturmaktadır ki taze soğanlarda asıl tüketilen kısım bu bölgedir (Şalk ve ark. 2008).

Gövdeden gelişme gösteren yapraklar, ilk oluştukları zaman iç içe geçmiş kın şeklinde gelişmekte ve buna bağlı olan yaprak ayasından oluşmaktadır. Yapraklarda önce dış yaprak oluşmakta ve bunu takiben diğer yapraklar iç tarafta meydana gelmektedir. En dışta bulunan yaprak, bitkinin en yaşlı yaprağı olarak bilinmektedir. En son oluşan genç yapraklar ise etli bir yapı oluşturmakta fakat yapraklar yaşlandıkça doku gelişmesini durdurup bu şekilde içi boş yaprak ayası oluşturmaktadırlar. Soğan yapraklarında çeşide bağlı olarak yaprak üzerinde mum tabakası gözlenmektedir. Yaprığın rengi mum tabakasına da bağlı olarak mum tabakasının ince olduğu bireylerde yaprak rengi daha koyu yeşil bir renk alırken, mum tabakası kalınlaştıkça koyu olan renk daha açık parlak mavimsi bir görünüme ulaşmaktadır (Gökçe 2010 ve 2011).

Soğan yapraklarının büyüüp rozet gövdenin üzerinde depo yaprakları olarak besin depo etmesiyle soğan başı oluşmaktadır. Baş kısmının büyümesi ile beraber başın en dış kısmında bulunan depo yaprakları su kaybedip incelerek kurumakta ve dış kabuk meydana gelmektedir. Dış kabuktan itibaren iç kısımdaki depo yapraklarına doğru et kalınlığında artma gözlenmekte ve bu şekilde her depo yaprağının arasında ince bir zar

oluşmaktadır. Başın dış kabuk rengi çeşide göre farklılık göstermekle beraber; kahverengi, sarı, beyaz, mor veya kırmızı renkli olabilmekte ayrıca bununla beraber etli yapraklar; beyaz, sarı, mor veya kırmızımsı olmaktadır. Başı oluşturan etli yapraklar soğanlarda kışlık yazlık çeşit özelliğinde olma durumunu da etkilemektedir. Kışlık soğanlar depo ömrü uzun olan soğanlardır ve dış kabuk sayıları fazladır. Keskin kokulu ve genellikle acı bir tada sahiptirler. Depo yaprakları ince kalınlıktadır. Kuru madde miktarları yazlık çeşitlere oranla daha fazladır. Baş kısmı sıkı, içerdiği su miktarı azdır. Yazlık çeşitlerde ise; depolama ömürleri fazla değildir. Dış kabuk sayıları kışlık çeşitlere oranla daha azdır. Keskin bir kokuları olmayıp tatlı veya çok az acıdırlar. Depo yaprakları kalın, etli ve de suludur. İçerdiği kuru madde miktarı azdır. Başları daha yumuşak ve suludur (Pike 1986, Şalk ve ark. 2008, Gökçe 2010 ve 2011).

Soğan çiçeği rozet gövdenin büyüme noktasının uzayarak çiçek sürgünü meydana getirmesi ile başlamaktadır. Çiçek sürgününün uç kısmında soğan çiçek topluluğunu barındıran çiçek tablası bulunmaktadır. Aynı zamanda çiçek tablası çiçek topluluğunu saran ince bir zar ile çevrilidir ve çiçekler gelişip açmaya başladığında ince zar yırtılmakta, çiçekler açmaya başlamaktadır. Çiçekler erselik yapıdadır. En iç kısımda bulunan dişi organın ovaryumu üç karpellidir ve her karpelde iki tohum taslağı (ovül) bulunmaktadır. Böylece bir çiçekten normal durumlarda altı adet tohum alınabilir. Erkek organlar altı adet olup dişi organın çevresinde iç içe sıralanmıştır. Erkek organların dışında ise altı adet taç yaprak, altı adet çanak yaprak yer almaktadır. Soğan çiçeklerinde protandri hakimdir ve erkek organlar dişi organlardan önce olgunlaşıp döllenme olgunluğuna gelirler. Bu şekilde anterler polenlerini saçtıktan sonra dişi organ olgunluğa erişmiş olmakta, bundan dolayı soğanlarda kendine döllenme genellikle meydana gelmemektedir (Pike, 1986, Şalk ve ark. 2008, Gökçe 2010 ve 2011).

Soğanın toprak istekleri soğan yetiştirmede önemli bir kriterdir. Kumlu killi, killi kumlu, tınlı topraklar soğanın en ideal yetişme şartını sağlamakta ve toprağın aynı zamanda humus ve organik maddece zengin olmasını istemektedir. Taban suyunun fazla olduğu topraklarda yetiştiricilik yapmaktan kaçınılmalıdır; çünkü toprağa yakın taban suyu başların çürümesine zemin hazırlamaktadır. Soğanlarda erken dönemde pazara ürün sunma istediği olduğu zaman alüviyal topraklar en uygun olanıdır. Bu topraklarda

yapılan yetiştiricilikle elde edilen soğanlar erken hasat edilir fakat hasat sonrası depolama ömürleri oldukça düşük olabilmektedir (Pike, 1986, Günay 1992, Şalk ve ark. 2008).

Serin iklim sebzesi ve soğuğa dayanıklı olan soğan, iklim istekleri açısından seçicidir. Bitki gelişimi için optimum sıcaklıklar 13-24°C iken, fide döneminde bu oran 20-25°C'dir. Soğan yetiştiriciliğindeki önemli faktörler: gün uzunluğu ve sıcaklığıdır. Erken gelişme döneminde serin iklime ihtiyaç duyan soğan, baş bağlama döneminde yüksek sıcaklıklara ihtiyaç duymaktadır. Baş oluşumunu gün uzunluklarına bağlı olarak kısa, orta ve uzun gün çeşitleri belirlemektedir. Soğanın baş bağlaması için gerekli gün uzunluğu kısa gün çeşitlerinde 12 saat ve altında iken, orta gün çeşitlerinde 12-14 saat gün uzunluklarında, uzun gün çeşitlerinde ise 14-16 saat olmaktadır (Pike, 1986, Gökçe 2010, 2011 ve 2012). Bu dönemde sıcaklığın 25-30°C'lerde olması en idealidir (Şalk ve ark. 2008).

Organik madde bakımından zengin topraklardan hoşlanan fakat organik gübre bakımından hassas olan soğana yetiştirme sırasında iyi yanmamış çiftlik gübresi verilmemeli, mümkünse bir sezon önceki yetiştirilen bitkiye çiftlik gübresinden bolca verilmelidir. Çünkü iyi yanmamış çiftlik gübresinin soğana faydasından fazla zararı olmaktadır ve ayrıca toprakta birçok zararlının üremesini sağlayıp soğana zarar vermektedir.

Şalk ve ark. (2008) tarafından bildirildiğine göre soğan, yeşil gelişme döneminde suya ihtiyaç duymakta, suyun bol olmasından ve havasında nemli olmasından hoşlanmaktadır. Bu dönemde eğer yeterli yağış yoksa 450-500 mm. su bitkiye verilmelidir. Bunun aksine başların normal iriliğini almasından sonra fazla sudan hoşlanmayan soğanın başları gelişip hasat zamanına yakın döneminde sulanması kesilmelidir.

Normal iklim şartlarında her soğan çeşidi tohumdan baş oluşturmasına rağmen, gerekli iklim şartlarının sağlanamadığı yetiştiricilik alanlarında arpacıktan, tohumdan ya da fide ile soğan üretim çeşitleri bulunmaktadır (Gökçe 2011). Arpacık ile yetiştirmede ekilen

tohumların birinci yıl ufak soğanlar oluşturmasıyla arpacık (kısa) meydana gelmektedir. Tohumun ekilip arpacık oluşumuna kadar geçen aşamalarda sulama, yabancı otlar, hastalıklarla mücadele gibi işlemler yapılmaktadır. Gelişen arpacıkların hasat edilmesi ile boş bir alanda arpacıklar kurumaya bırakılır. Kuruma gerçekleşince arpacıklar kuru yalancı gövdelerinden ve köklerinden ayrılarak depolanırlar. Ertesi sene arpacıklar, baş soğan elde etmek amacıyla tarlaya dikilirler. Sulama, çapalama, yabancı ot kontrolü gibi işlemler aynı şekilde yapılır. Arpacıkların dikildiği sene içerisinde gelişmesi ile beraber soğan başı meydana gelmektedir (Gökçe 2010 ve 2011).

Bazı soğan çeşitlerinin ekildiği yıl baş soğan meydana getirmesi onların tohumdan baş soğan oluşumunu mümkün kılmaktadır; fakat gerekli gün uzunluk isteği karşılanmayan iklimde yetiştirilen çeşitler ilk yılda yemeklik soğan iriliğinde baş soğan meydana getiremezler. Bu gibi çeşitler ilk yıl arpacık şeklinde üretilip, ikinci yıl arpacıkların ekimi ile baş soğan üretilmektedir (Gökçe 2010 ve 2011). Bu yüzden yetiştiricilik yapılacak iklime uygun çeşit seçilip üretim yapılmalıdır. Tohum ekimi yapılmadan toprak işleme ve ekim yapıldıktan sonraki ara çapa, yabancı ot kontrolü, sulama gibi işlemlerden sonra tohumdan baş soğan elde edilmektedir.

Zaman zaman soğan üretimi fide ile de yapılmaktadır. Fide ile üretim daha çok çeşit iklim isteği karşılanamayan çeşitler ile ıslah hatlarının kıymetli tohumlarını kaybetmemek için uygulanmaktadır. Yastıklara ya da viyollere ekilen tohumlardan elde edilen fideler ekim için hazırlanan toprağa dikilmektedirler. Şaşırtılan fideler uygulanan sulama, çapalama, gübreleme işlemlerinden sonra soğan başı oluşturmaktadırlar (Gökçe 2010 ve 2011).

Soğanlarda hasat zamanı olarak başların büyüyüp normal iriliğini aldığı ve yapraklarının iyice kurduğu dönemde başlamaktadır. Soğan olgunlaştığında yaprak gelişmesini durdurur, boyun kısmı yumuşar ve de yapraklarda sararma meydana gelip yan yatarlar (Gökçe 2011). Yalancı gövdelerin %50-75'inin solmaya ve yan yatmaya başlaması, soğanın hasat zamanının geldiğini gösteren bir ölçüttür (Gökçe 2011). Solan yapraklar çok fazla kurumadan hasat edilerek direk güneş ışığına maruz kalmayacak durumda tarlada sıralar halinde başlar alta gelecek şekilde bekletilirler. Soğan

başlarındaki yara izlerini kapamak, organizmaları yok etmek ya da azaltmak amacıyla, hasat edilen soğanların yeteri derecede (hava koşullarına bağlı olarak iki ila dört hafta kadar) arazide, gölgelik alanda ya da depolanmadan önce yapay yollarla bu şekilde kurutulup, bekletilmesi işleme kütleme denilmektedir (Nabi ve ark. 2013). Kütleme sonunda yapraklar, saçak kökler, baş kısımdan ayrılarak depolanmak üzere muhafaza yerlerine götürülmekte ya da doğrudan satışa sunulmaktadırlar.

Hasat edilen soğanlar satış zamanına kadar ya da diğer sene tohumluk üretimine kadar depolanmaktadır. Uzun süre depolama koşullarına uyabilen soğan bu şartlarda 8-9 ay kadar depolanabilmektedir. Depolanma süresini çeşit özellikleri, depo şekilleri belirlemektedir. Kuru madde miktarı yüksek olan çeşitlerde depolanma süresi uzar. Bundan dolayı kışlık olarak tabir edilen uzun gün soğanları daha uzun süre depolanabilmektedir (Gökçe 2011). Ayrıca kuru kabuk rengindeki koyuluk, kabuk sayısı faktörleride depolanma süresini etkilemektedir (Vural ve ark. 2000). Hasattan önce soğanlara uygulanan 600 ppm, %40'lık maleik hidrazit soğanların muhafazası sırasında filizlenmeleri engellemekte fakat gelecek yıl tohum üretimi için dikim yapılacak soğanların dikimden sonra arazideki filiz oluşumunu engellediğinden tohumluk soğanlarda uygulanması tavsiye edilmemektedir. Soğanlarda muhafaza dört farklı şekilde yapılabilmektedir: Basit depolarda muhafaza; sıcaklık, nem kontrolü yapılmazken soğanlar sekiz aya kadar depolanabilmekte, lodalar halinde muhafaza; basit ve ekonomik olup soğanlar altı ila sekiz ay kadar depolanabilmektedir (Mutlu 2006, Gökçe 2011). Hevenk halinde asarak kurutma şeklinde yapılan muhafazada; yazlık çeşitlerin muhafazası olup iki ila dört ay kadar depolanmaktadırlar. Atmosfer kontrollü depolarda muhafaza; soğanlar için en uygun depolama şeklidir. Soğan başları artı 1-2°C'de, yüzde 70-75 oransal nemde yaklaşık sekiz ila dokuz ay depolanabilmektedir. Bu depolama şeklinde depolama sırasında başlarda meydana gelen filizlenme, çürüme gibi depo kayıpları en aza inmektedir (Mutlu 2006).

Son yıllarda sebze türlerinde hibrit çeşitlerin kullanımı eski yıllara göre artış göstermektedir. Hibrit çeşitlerde, verim, kalite, dayanıklılık, adaptasyon, hastalık ve zararlılara dayanıklılık açısından istenen çeşitlerin geliştirilmesinde ve tohum üretiminde önemli başarılar sağlanmıştır. Erkek kısırılık, bitki ıslahçıları ve hibrit tohum

üreticileri açısından istenen bir durumdur. Çünkü yüksek oranda yabancı tozlanma gösteren bazı sebze türlerinde hibrit tohum üretimi ancak doğal erkek kısırlık sistemi kullanılarak ekonomik olmaktadır. Aksi halde kendine döllenmeyi engellemek için dişi hatlarda erkek organların emaskülasyonu ile çiçekler kısırlaştırılmakta ve melezlenmektedir ki, bu türlerin çiçek yapılarının küçük olması ve ayrıca melez başına elde edilen tohum sayılarının fazla olmaması büyük alanlarda hibrit tohum üretimini sınırlandırmaktadır (Karaağaç ve Balkaya 2009).

Yemelik soğanlarda tohumdan diğer tohum oluşumuna kadar iki yıllık bir büyüme sezonuna ihtiyaç duyulduğu için ıslah alanında çalışma süresi uzun olmaktadır. Bundan dolayı tek yıllık sebzelere oranla soğanlarda yapılan ıslah çalışmaları oldukça yavaş ilerlemektedir. Ekonomik olarak F1 hibrit tohumu için soğanlarda sitoplazmik-genik erkek kısırlığa (CMS) neden olan üç farklı tip sitoplazma kaynağı bulunmaktadır. Bunlar ise; S, C ve T sitoplazma kaynaklarıdır. Bu erkek kısırlık sistemleri ve kalıtları açıklanmış ve bunların buldukları soğan çeşitleri İtalyan Red çeşidinde CMS-S (Jones ve Clarke 1943), Rijnsburger soğan çeşidinde CMS-C (Banga ve Petiet 1958), ve Jaune paille des vertus soğan çeşidinde CMS-T (Berninger 1965) rastlanmıştır.

Jones ve Davis (1944) soğanları ıslah aşamasında kendileme yoluna gitmişler ve soğanların büyük oranda kendileme depresyonu gösterdiğini, ancak saf hatların aralarında melezlendiğinde tekrar güçlü bireyler oluşturduğunu belirlemişlerdir. Hibrit soğanların ebeveynlerden daha yüksek verimli ve baş olgunluk zamanı, boyu, şekli, rengi yönünden daha yeknesak olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Dünyada özellikle Amerika, Avrupa ülkeleri ve Japonya'da hibrit soğan tohumu üretiminde önemli adımlar atılmış ve hibrit tohum kullanımı yaygın hale gelmiştir. Türkiye'de ise hibrit tohumlarda çok büyük oranda dışa bağımlılık söz konusu iken tohumların büyük bir kısmı açıkta tozlanan populasyonlar olup homojenlikten uzak üretim gerçekleşmektedir.

Hibrit soğan (*Allium cepa* L.) tohumu üretmek için gerekli olan erkek kısır ana ve baba

hatların geliştirilebilmesi, hat seçim sürelerinin kısaltılması için moleküler markırlar yardımıyla soğanların sitoplazma tipinin belirlenmesi yapılan tezin amacıdır. Bu amaçla üretimi yapılmakta olan 10 adet ticari soğan popülasyonu (Bereket, Beyaz Bilek, Hazar, Kapıdağ Moru, Karbeyazı, Metan 88, MT 101, Seç, Seyhan ve Viktorya) ve Yrd. Doç. Dr. Ali Fuat Gökçe tarafından 1998-2002 yılları arasında Wisconsin Üniversitesi-Madison yerleşkesinde yürütülen çalışmada geliştirilen, 2002-2006 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi parsellerinde, 2007 yılından günümüze MTN Tohumculuk Ltd. Şirketi'nin Balıkesir iline bağlı Bandırma ilçesinde bulunan Çepni Köyü Araştırma Geliştirme alanında üretilen ve devamlılıkları sağlanan 60 adet ıslah hatları olup toplamda 70 adet genotipten oluşan soğan koleksiyonunun sitoplazma tipinin markırlarla belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Soğan Genetik Çalışmaları

Soğan ıslahında önemli bir başarı Kaliforniya Üniversitesi'nde Dr. Henry Jones tarafından ıslah bahçesinde yetiştirilen İtalyan Red soğan çeşidinde 1925 yılında erkek kısır bir bitki olduğunun keşfedilmesiyle başlamıştır. Oluşan bitki tohum üretememiş fakat birçok soğancık (tepe soğanı) oluşumunu sağlamıştır. Oluşan soğancıklar yeni bir bitki üretmek için tekrar dikilmişlerdir. Bu bitkiler diğer soğanlarla melezlendiğinde oluşan döllerin erkek kısır karakterlerin kalıtımını belirlemek için üzerinde çalışılmış ve rapor edilmiştir (Jones ve Emsweller 1936).

Dr. Henry Jones, 1925 yılında bulduğu erkek kısır bitki ile çalışmalarını devam ettirmiş; yaklaşık yirmi yıl melezleme ve gözlemler yaptıktan sonra, erkek kısırlığın çekinik çekirdek geni ve sitoplazmik faktör arasındaki etkileşime bağlı olduğunu bulmuştur (Jones ve Clarke 1943). Bu sistemde erkek kısırlığa neden olan sitoplazma tipine steril (S), erkek kısırlığa neden olmayan sitoplazma tipini de normal (N) sitoplazma olarak tanılandırmıştır. Sitoplazma yanında hücre çekirdeğinde bulunan *Ms* bölgesindeki bir genin allelleri saf çekinik (*msms*), melez (*MSms*), ya da saf baskın (*MSMS*) olabildiğini; sadece S sitoplazma ve saf çekinik (*S-msms*) genotipi olan bireylerin erkek kısır olduğunu belirlemişlerdir. Bu sistemde soğanlarda erkek kısırlık kaynağı olarak S-sitoplazmaya sahip (*S-msms*) soğanların gösterdiği erkek kısırlıklar oluşturmaktadır. Normal (N) sitoplazmaya sahip bireyler kısırlık göstermeyip erkek fertildirler. Bu kısır hattın bulunmasının ve devamlığının sağlanması normal sitoplazma ve saf çekinik (*N-msms*) genotipli idameci bireylerin kullanılması ile mümkün olmaktadır (Jones ve Clarke 1943).

Erkek kısırlık sisteminin öğrenilmesi ile hızla hibrit tohum üretimi için erkek kısır ana ve idameci baba hatları geliştirme çalışmaları Amerika Birleşik Devletleri'nde başlamıştır. Soğan çeşitlerinden erkek kısır ana hattı ve idameci baba hattı geliştirebilmek için soğan çeşitleri test melezlemelerine tabi tutulmuş ve erkek kısırlık bölgesindeki (*Ms*) genlerin oransal durumuna bakılmıştır. Çekinik allelleri taşıyan

çeşitlerden ıslah hatları geliştirme çalışmaları başlamıştır (Little ve ark.1944). Bu çalışmalarda soğan çeşitlerinde kendileme yapıldığı zaman güç kaybı olduğu (kendileme depresyonu); ancak bir önceki yıl kendilenen bireylerden elde edilen soğanlar grup ya da melezlendiğinde eski gücüne yeniden kavuştuğu ve hatta ebeveynlerinden daha güçlü olduğu rapor edilmiştir (Jones ve Davis 1944). Dünyada ilk kez hibrit soğan üretimi ve özellikleri hakkında bilgiler 1944 yılında rapor edilmiştir (Jones ve Davis 1944).

Soğanın iki yıllık bir bitki olmasından dolayı ilk kez ıslah çalışmalarında vejetatif çoğaltma çalışmaları denenmiş, ancak geniş ölçekli üretimin ekonomik olmadığı; sadece ıslah amaçlı az sayıda üretimin mümkün olabileceği rapor edilmiştir (Jones ve ark. 1949). Soğanda doku kültürünün gelişmesi ile vejetatif yolla soğanları çoğaltma çalışması Pike ve Yoo (1990) tarafından olgunlaşmamış çiçek tomurcukları kullanılarak tekrarlanmış; ancak bununda geniş ölçekli üretimler için ekonomik olmadığı rapor edilmiştir (Pike ve Yoo 1990).

Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan soğan çeşitlerinde erkek kısırılık geninin varlığı ve durumunu belirleme çalışmaları devam etmiş, Texas 1015Y (ABD), Sapporo-Ki (Japonya), Pukekohe Longkeeper (Yeni Zelanda) adlı soğan çeşitlerinden yüksek oranda baskın (*MS*) allel oranından dolayı hibrit çeşit geliştirilemediği rapor edilmiştir (Davis 1957).

Davis (1958), Dünyanın her yerinden soğan genetik kaynakları toplanmış ve ülkemizden de soğan genetik kaynakları alarak Amerika Birleşik Devletlerine götürmüştür. Türkiye kaynaklı sekiz farklı soğan koleksiyonunda, Davis (1958) tarafından yürütülen bu çalışma ile bitki kayıt numarası P.I. 204789 olan bitki ile erkek kısır idameci olan B 5545B numaralı soğan arasında melezlemeler ve kendilemeler yapılmıştır. Erkek fertilliliğin hepsinde açılım gösterdiğini ve de koleksiyonda erkek kısır (*S-msms*) ve idameci (*N-msms*) genotipleri rapor etmiştir (Davis 1958).

Soğanlarda erkek kısırılık sistemi öğrenildikten sonra Dünyada soğan ıslah çalışmaları hız kazanmış ve değişik ülkelerde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu ıslah çalışmalarından

birinde Jones ve Clarke (1943) tarafından tarif edilen erkek kısırılık sisteminden farklı bir kısırılık kaynağı bulunmuş ve rapor edilmiştir (Berninger 1965). Bu sistemin ilk tanımlaması T-sitoplazma olarak tanımlanmış (Berninger 1965) ve bunun üzerine yapılan çalışmalarda T-sitoplazma ve çekirdekte üç farklı genin rol aldığı sistem ilk kez açıklanmıştır (Schweisguth 1973). Bu sistemde S sitoplazma sisteminde olduğu gibi (Jones ve Clarke 1943) normal (N) sitoplazmaya sahip bireyler kısırılık göstermeyip erkek fertildirler. T sitoplazmaya sahip olan bireylerin erkek kısır olabilmeleri için T sitoplazmaya sahip olmaları ve bunun yanında çekirdeğindeki A bölgesinde bulunan bağımsız gen saf çekinik (*aa*) ile B ve C bölgesinde bulunan iki tamamlayıcı genden en az birisinin saf çekinik (T- *aabb*_ veya T-*aa_cc*) olması gerekmektedir. B ve C bölgesindeki genler ne olursa olsun, A bölgesinde bulunan en az bir tane allelin baskın (T-*A*_ _ _) veya A bölgesindeki gen ne olursa olsun B ve C bölgelerindeki allellerden en az birer tanesinin baskın (T-_ *B*_ *C*_) olması bireyleri erkek fertil yapmaktadır (Berninger 1965, Schweisguth 1973).

Hibrit soğan çeşitleri geliştirme için yapılan çalışmalarda tohum üretimi ve tozlanma durumları üzerine araştırmalarda yapılmıştır. Meer ve Bennekom (1968) tarafından tozlanma ile ilgili yapılan çalışmalarda soğan çiçeklerinin büyük çoğunluğunun ilk birkaç metre mesafedeki diğer bitkilerden gelen çiçek tozlarıyla tozlandığı rapor edilmiştir. Yine aynı araştırmacılar tarafından genetik olarak erkek kısır genotipinde (*S-msms*) olan bitkilerin hiçbir iklim şartlarında polen üretmediği; ancak genetik olarak erkek fertil genotiplerine (*S-MSMS*, *S-MSms*, *N-MSMS*, *N-MSms*, ve *N-msms*) sahip bitkilerde düşük ve yüksek sıcaklıklarda ve değişik iklim şartlarında zaman zaman erkek kısır fenotiplerin görüldüğünden bahsederek ilk kez genetik faktör yanında çevre faktöründe erkek kısırılık fenotipi üzerinde etkili olduğu rapor edilmiştir (Meer ve Bennekom 1969). Doğal olarak açık tozlanan soğan bitkilerinde erkek organların dışı organlardan önce olgunlaşması soğanlarda yabancı tozlanmayı teşvik etmektedir. Yine Meer ve Bennekom (1968, 1969) çalışmaları sırasında baktıkları bir başka konu ise doğal olarak yabancı tozlanan soğanların tozlanma oranının belirlemek olmuş ve %75 oranında yabancı tozlanma görüldüğü tespit edilmiştir (Meer ve Bennekom 1972).

Tatlıoğlu (1985)'nun yapmış olduğu bir çalışmada Frenk soğanında erkek kısırlığı etkileyen sıcaklık geni (*T/t*) ve tetrasiklin geni (*A/a*) tespit edilmiştir. Bu sistemde sıcaklık geninin baskın olması durumunda erkek kısır bireyler olmakta; eğer çiçeklerin açma dönemlerinde sürekli 24°C zeri sıcaklıklarda tutulurlarsa fertil polenlerin retilerildiği; ayrıca tetrasiklin bölgesinde çekinik bulunan erkek kısır bitkilerin çiçeklenme dönemlerinde tetrasiklin verilmeleri ile beraber geçici bir süreliğine fertil polen üretebildiklerini rapor edilmiştir (Tatlıoğlu 1986). Ayrıca CMS kısırlık tipinin Frenk soğanı (*Allium schoenoprasum* L.) ve Gal soğanında da (*A. fistulosum* L.) bulunduğunu, frenk soğanındaki CMS'in tetrasiklin adı verilen bir antibiyotik türüne karşı duyarlı olduğunu ve bu duyarlılığa saf çekinik allerin neden olup erkek kısırlığın idamesinde kullanabileceğini belirlemiştir (Tatlıoğlu 1986).

Courcel ve ark. (1989) tarafından *Allium cepa* L. eşitlerinin sitoplazmalarında polimorfizm üzerine bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada hibrit soğan üretiminde kullanılan steril ve fertil sitoplazmaya sahip 18 adet farklı soğan eşitlerinin RFLP markır analizi ile ayrımı incelenmiştir. Sonuç olarak incelenen soğan çeşitlerinin yüksek derecede DNA parmak izi yönünden farklılık gösterdiği belirlenmiş ve S, T ve N tipi sitoplazmalar arasında farklılıklar açıkça gözlenmiştir.

Eř zamanlı olarak başlatılan moleküler markır geliştirme çalışmalarında soğan çeşitlerinde kloroplast (Havey 1993) ve mitokondri (Satoh ve ark. 1993) DNA'larında gözlenen RFLP markır farklılıkları bulunmuştur. Sitoplazma genotipinin ayırt edilebilmesinin araştırıldığı bu çalışmalarda erkek fertil ve erkek steril fenotipe sahip soğan eşitleri karşılaştırılmış, sitoplazma yönünden iki farklı tipin (S ve N) ortaya çıktığı grlmştir. İlk kez RFLP markırları ile klasik testlemeye gerek kalmadan önemli lde sitoplazmik genotiplerin ayrılabilirliği sonucuna varılmıştır (Havey 1993, Satoh ve ark. 1993).

RFLP markırları ile bireysel soğan sitoplazmalarını belirlemek, fazla miktarda DNA gerektirmesi ve radyoaktif içerdiği için kullanım alanının sınırlı kalmasından dolayı, uygulaması daha basit olan çoklu zincir reaksiyonu (PCR, polimerase chain reaction) markır geliştirme çalışmaları başlamış ve Havey (1993) tarafından bulunan RFLP

markırı daha basit olan PCR markırına dönüştürölerek soğanlarda ilk kez S ve N sitoplazmanın PCR ile belirlenebileceği rapor edilmiştir (Havey 1995b).

Moleküler markırlar ile soğanlarda sitoplazma belirleme ilk kez geniş kapsamlı olarak Havey (1997) tarafından gerçekleştirilmiştir. Türkiye, Afganistan, Etiyopya, Hindistan, Irak, İnan, Mısır, Pakistan, Eski Rusya, Suriye, Türkmenistan ve Eski Yugoslavya'dan 1948-1963 yılları arasında toplanan soğanların Amerika Birleşik Devletlerine götürölmesiyle oluşturulan koleksiyondan 70 farklı bitki koleksiyonu RFLP markırı ile analizi sonucunda yalnızca 1 koleksiyonunun S-sitoplazmaya, 19 koleksiyonunun S- ve N- sitoplazmaya, 50 tanesinin ise sadece N-sitoplazmaya sahip olduğu, Türkiye'den toplanan 8 koleksiyonda da 1 tanesinin S- sitoplazmaya, 1 tanesinin S- ve N- sitoplazmaya, 6 tanesinin de yalnızca N- sitoplazmaya sahip olduğu rapor edilmiştir (Havey 1997).

Soğan mitokondri DNA üzerinden çalışmalar devam ettirilmiş ve daha önce soğan mitokondrisinde bulunan RFLP markırlarını (Satoh ve ark. 1993) daha basit olan PCR markırına çevirme başarılımış ve bireysel soğanlarda sitoplazma belirlemede kullanılan kloroplast DNA üzerinden geliştirilen PCR markırlarının (Havey 1995b) ardından mitokondri DNA üzerinden ilk kez PCR markır primer dizinlerini rapor edilmiştir (Sato 1998).

Soğanlarda ilk düşük çözünölrlüklü genetik haritalama çalışmaları 1997 yılında rapor edilmiş ancak kitabın basımı üç yıl sonra gerçekleşmiştir (Havey ark. 2000). Daha sonra King ve ark. (1998) kısa ve uzun gün soğanlarının melezinden oluşan haritalama popölasyonu kullanarak oluşturdukları soğan genetik haritasını rapor etmişlerdir. Genetik harita kullanılmadan klasik yolla bilinmeyen bir popölasyondan ya da açılım gösteren soğan hatlarının test melezlemesi yapılarak sitoplazma ve çekirdek genotipinin belirlenmesi araştırılmış ve bu işlemin altı ila sekiz alacağı rapor edilmiştir (Gökçe ve Havey 1998).

Havey (1999) soğanlarda yeni bir erkek kısırlık kaynağı rapor etmiştir. Soğanın akrabalarından *Allium galanthum* L. ile yemeklik soğanın geriye melez çalışmaları

yapılarak, sitoplazması *galanthum*, çekirdeği ise *cepa* olan bir soğan genotipi erkek kısırlık göstermiştir. Bu sistemde erkek kısırlık sadece sitoplazmik olduğundan herhangi bir soğanla erkek kısırlığın idamesi mümkün olmuş ve erkek kısır bitkiden alınan tohumlar sürekli erkek kısır fenotipi göstermişlerdir (Havey 1999).

Heusden ve ark. (2000a), *Allium cepa* L. ile *Allium roylei* L. melezinden elde ettikleri haritalama popülasyonun kullanarak AFLP markırlarından oluşan bir genetik harita yayınlamışlardır. Yine Heusden ve ark. (2000b) oluşturdukları AFLP genetik harita da bulunan markırları sekiz kromozomun her biri için farklı tek kromozom eklenmiş hatları kullanarak soğanda bulunan sekiz farklı kromozomun hangisinde yer aldığını tek tek belirlemeyi başarmışlardır.

Lilly ve Havey (2001), PCR markırları kullanarak farklı sitoplazmaya sahip bireylerden elde ettikleri DNA örneklerini farklı oranlarda karıştırarak belirlemeye çalışmışlar ve karışımın %10'dan daha az olması durumunda, az olan tipin zaman zaman fark edilemeyeceğini rapor etmişlerdir.

Moleküler markırların bulunması ile soğanlarda markır kullanımı ile ıslah çalışmalarına hız verilmiş, moleküler markır kullanımı ile soğanlarda sitoplazma ve çekirdek genotipleri belirleme çalışmaları rapor edilmiştir (Gökçe ve Havey 2000, Gökçe 2001). Türkiyeden toplanan ve ıslah çalışmasında kullanılan soğanlarda ilk sitoplazma belirleme ve idameci hat geliştirme çalışmaları rapor edilmiştir (Gökçe 2002, Gökçe ve Aras 2002).

Daha önce düşük çözünürlüklü olarak geliştirilen soğan genetik haritası Gökçe ve ark. (2002) tarafından geliştirilmiş; soğan ıslahında önemli bir yeri olan çekirdek geninin bulunduğu *Ms* bölgesine çok sıkı bağlı RFLP markırları bulunmuştur (Gökçe ve ark. 2002). Bulunan RFLP markırı AOB272'nin DNA dizi analizi belirlenerek uygulamada daha pratik olan PCR tabanlı markır sistemlerinden olan tek nükleotid farklılık (SNP) markırına dönüştürülmüştür. Ancak aynı çalışmada SNP markırının kullanımı çok yüksek teknoloji gerektirdiği de rapor edilmiştir (Gökçe ve ark. 2002).

Her mayoz bölünmede seçilmek istenen gen ile ona bağlı markırın arasında parça değişimi ihtimali olduğundan, *Ms* bölgesine 0,9 cM yakınlıkta geliştirilen markırlar (Gökçe ve ark. 2002) ile *Ms* bölgesinin bağlantı eşitlik durumu bilinmeyen soğan popülasyonlarında ıslah amaçlı markır kullanarak seleksiyon yapılabilirliği araştırılmıştır. Yapılan çalışmada kullanılan soğan çeşitlerinden Brigham Yellow Globe, Mountain Danvers ve Sapporo-Ki'den elde edilen kendilenmiş hatların erkek kısırılık bölgesindeki genotiplerin hangisine (*MSMS*, *MSms*, *msms*) sahip olduğunu belirlemek için ayrı ayrı test melezlemesi ve polen gözlemleri yapılmış, moleküler olarak da DNA markırları ile genotipleme yapılmış ve klasik genotipleme ile moleküler markır genotiplemesi karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak bu popülasyonlarda DNA markır AOB272'nin allelleri (12kb, 10kb) ile *Ms* bölgesi allellerinin (*MS*, *ms*) bağlantı eşitliğinde olduğu bulunmuştur. Moleküler markırların seleksiyon amaçlı kullanılabilmesi için öncelikle üzerinde çalışılan hatlarda markır ile *Ms* bölgesinin bağlantı durumunun belirlenmesi gerektiği rapor edilmiştir (Gökçe ve Havey 2002).

Engelke ve ark. (2003), daha önce mitokondri DNA için geliştirilen PCR markırları (Sato 1998) ile birlikte kendilerinin geliştirdikleri bir PCR markırını ile soğanlardaki üç sitoplazma tipinin bireysel bitkilerde belirlenebileceğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmada Türkiye'den temin edilen bazı soğan çeşitlerinde bireysel olarak sitoplazma tipi belirleme yoluna gitmişler, bazı popülasyonlarda birkaç bireye bakılırken bazılarında ise daha fazla bireyin sitoplazmasını belirlemeyi başarmışlardır (Engelke ve ark. 2003).

Doğadaki farklı soğan popülasyonlarında bulunan S ve N sitoplazma oranlarının farklılık göstermesi (Havey 1997) ve sadece N sitoplazmaya sahip popülasyonların büyük çoğunlukta olması, her iki sitoplazmaya sahip popülasyonlar içerisinde de yine N sitoplazmaya sahip bireylerin fazla olması, S sitoplazmaya sahip bireyler üzerinde doğal seleksiyon baskısı olabileceği şüphesini uyandırmıştır (Gökçe ve Havey 2006). Geliştirilen model sistem ile soğanlarda kendileme depresyonu ve yabancı tozlanma oranları da dikkate alınarak simülasyonlar oluşturulmuş ve S sitoplazmaya sahip bireylerde erkek kısır olanların erkek gamet oluşturamadığı için çekinik (*ms*) allelin sadece ana bitkiden bir sonraki nesile aktarılmasından dolayı, S sitoplazmaya sahip bireylerin doğal seleksiyon baskısı altında olduğu ispat edilmiştir (Gökçe ve Havey

2006). Dolayısı ile sadece N sitoplazmaya sahip günümüz soğan çeşitlerinin ya başlangıçta N sitoplazmaya sahip olduğu, ya da bir zamanlar S sitoplazmik bireyler içermesine rağmen, bunların doğal seleksiyon baskısı altında kaybolduğunu; her iki sitoplazmaya sahip popülasyonlardaki S sitoplazma oranının az olmasını da seleksiyonun hala devam ettiğini, bunların yok oluncaya kadar da devam edeceğini belirtmişlerdir (Gökçe ve Havey 2006).

Soğan ıslahında geliştirilmek istenen erkek kısır ve idameci hat seçimi için erkek kısırlığın sitoplazma ile çekirdek interaksyonu sonucu oluşmasından iki farklı DNA markırı gerekmiştir. Birincisi soğanlarda sitoplazma belirleme için geliştirilen PCR markırları (Havey 1995b, Sato 1998, Engelke ve ark. 2003) ile soğan sitoplazma tipleri (N, S, T) kolayca belirlenmeye başlanmıştır. İkincisi ise çekirdek DNA'da bulunan *Ms* bölgesi için geliştirilen erkek kısırlık genine bağlı bulunan RFLP markırıdır (Gökçe ve ark. 2002). RFLP markırını radyoaktif gerektirmesinden dolayı pratik kullanımı olmadığından PCR tabanlı tek nükleotid (SNP) markırına dönüştürülmüş (Gökçe ve ark. 2002), ancak bu da çok ileri teknoloji gerektirdiğinden pratik kullanıma uygun PCR geliştirme ihtiyacı doğmuştur. Bang ve ark. (2011) daha önce geliştirilen AOB272 (Gökçe ve ark. 2002) RFLP markırının genomik DNA dizininden (Havey ve Gökçe tarafından 2001 yılında The National Center for Biotechnology Information (NCBI) gen bankasına AF366454 kayıt numarası ile AC43'den ve AF366455 kayıt numarası ile BYG15-23 soğanlarından her biri için 1 232 nükleotidlik idameci alleli DNA dizini) sağa ve sola DNA dizin belirlemesi yaparak buldukları farklılıktan PCR markırları geliştirmişler ve bu markırları kullanarak baktıkları soğan bireylerinde çekirdekteki *Ms* bölgesi allelleri ile PCR markır allellerinin bağlantı eşitsizliğinde olduğunu, birkaç istisna haricinde tamamen bağlantı halinde olduklarını rapor etmişlerdir (Bang ve ark. 2011). Bu istisnaları da bertaraf etmek için Bang ve ark. (2013) çalışmaya devam etmişler, aynı DNA dizinini daha ileri götürerek CAPS markırını (PCR ile çoğaltılan DNA'ların enzimle kesilmesi ile ortaya çıkan farklı dizin) belirlemişler ve baktıkları tüm bitkilerde hata vermeden çekirdekte bulunan erkek kısırlık bölgesindeki çekinik (*ms*) ve baskın (*Ms*) allelleri taşıyan bitkileri ayırt edebildiklerini rapor etmişlerdir.

2.2 Soğanlarda Hibrit Çeşit Islahı

Soğanların iki büyüme sezonuna ihtiyaç duyması ve çiçeklerinin erselik yapıda toplu olarak bulunması soğanlarda hibrit soğan tohumu üretiminde gerekli olan erkek kısırlığı emaskülasyon yoluyla imkansız hale getirmektedir. Soğanlarda erkek kısırlık kaynağı olarak Berninger (1965) ile Schweisguth (1973) tarafından tarif edilen ve T-sitoplazma olarak bilinen T-sitoplazmaya sahip bireylerin gösterdiği erkek kısırlık veya Jones ve Clarke (1943) tarafından tarif edilen S-sitoplazmaya sahip soğanların gösterdiği erkek kısırlıklar oluşturmaktadır. Her iki erkek kısırlık faktöründe de normal (N) sitoplazmaya sahip bireyler kısırlık göstermeyip fertildirler. T sitoplazmaya sahip olan bireylerin erkek kısır olabilmeleri için T sitoplazmaya sahip olmaları ve bunun yanında çekirdeğindeki A bölgesinde bulunan bağımsız gen (aa) ile B ve C bölgelerinde bulunan iki tamamlayıcı genden en az birisinin saf çekinik olması gerekmektedir. A bölgesinde bulunan en az bir tane allelin baskın veya B ve C bölgelerindeki allellerden en az birer tanesinin baskın olması bireylerin erkek fertil olmasına neden olmaktadır. Bu kısır hattın bulunmasının ve devamlığının zorluğundan hibrit tohum üretiminde geniş ölçüde bir kullanım elde edememiştir (Pike, 1986).

Jones ve Clarke (1943) tarafından tarif edilen S sitoplazmaya sahip bireylerin göstermiş olduğu erkek kısırlıklar, Dünyada hibrit soğan üretiminde en çok kullanılan erkek kısırlık kaynağını oluşturmaktadır. S sitoplazmaya sahip olan bireylerin erkek kısır olabilmeleri için çekirdekdeki DNA'nın *Ms* bölgesinde bulunan genin saf çekinik (*S-msms*) olması gerekmektedir. S sitoplazmanın yanında normal (N) sitoplazmaya sahip olan bireyler çekirdeksel genlerinin saf baskın, melez ya da saf çekinik (N-*MSMS*, N-*MSms*, N-*msms*) olmasına bakılmaksızın hepsi erkek fertil bireyler olmaktadır. S sitoplazmaya sahip bireylerde ise *Ms* bölgesinde en az bir allelin saf baskın olması (*S-MSMS* veya *S-MSms*) durumunda steril sitoplazmaya sahip olsa da birey erkek fertil olmaktadır. Sitoplazmik-genik erkek kısırlık (CMS) adı verilen bu sistemde S-sitoplazmaya sahip bitkilerde *Ms* bölgesindeki bir tek baskın (*S-MSms*) allel ile erkek fertillik yeniden sağlanmaktadır. Bu durumda bir bireyin erkek kısır olabilmesi için steril bir sitoplazmaya ve de saf çekinik çekirdeksel gene (*S-msms*) sahip olması gerekmektedir. Erkek kısır olan hatları erkek kısır olarak devam etmesini sağlamak ve

hibrit tohum üretiminde tekrar tekrar kullanabilmek için ya vegetatif olarak çoğaltılması gerekmektedir ki (Jones ve ark. 1949, Pike ve Yoo 1990); bu da ekonomik değildir ve büyük ölçekli uygulama alanı yoktur ya da erkek kısırlığı koruyan ve de erkek fertil olan idameci hatlar (N-*msms*) ile tozlanmasını sağlayıp tohum devamlılığını sağlamaktadır. Dolayısıyla hibrit tohum üretimi ekonomik olarak, erkek kısır ana hat (S-*msms*) ile erkek kısır hatların tohum ile üretimine olanak sağlayan ve erkek kısırlığı devam ettiren fakat erkek fertil olan idameci (N-*msms*) hatların mevcudiyetine bağlıdır.

Gökçe ve Havey (2006), soğan popülasyonlarında sadece normal, sadece steril ya da steril ve normal sitoplazmaların değişik oranlardaki karışımına sahip olduğunu belirtmişlerdir. Ancak bunun yanında bir birey sadece S-sitoplazmaya ya da N-sitoplazmaya sahip olabilmektedir. Hibrit tohum üretiminde erkek kısır ana hat ile erkek fertil idameci hattın bulunabilmesi için bir popülasyondan bazı bireylerin N-sitoplazmaya bazılarının ise S-sitoplazmaya sahip olması istenmektedir. Farklı sitoplazmaya sahip olan popülasyonlarda ise doğal seleksiyon N-sitoplazmaya sahip bireylerin avantajında olmakta ve popülasyonda çekinik allellerin (*ms*) ya da S-sitoplazmaya sahip bireylerin tamamen yok olmasına kadar devam etmektedir (Gökçe ve Havey 2006).

Bir soğan popülasyonunun sadece steril sitoplazmaya sahip olması durumunda popülasyondaki bireylerin sahip olabileceği genotip ihtimalleri S-*MSMS*, S-*MSms* veya S-*msms* şeklindedir. Eğer sadece normal sitoplazmaya sahip bir popülasyon varsa çekirdeksel genotipler aynı (*MSMS*, *MSms*, veya *msms*) olmakla beraber sitoplazma N-olacaktır. Her iki sitoplazma türüne sahip olan popülasyonlardaki bireylerde altı farklı genotip olması söz konusu olmaktadır (S-*msms*, S-*MSms*, S-*MSMS*, N-*msms*, N-*MSms*, veya N-*MSMS*). Bu durumda popülasyondaki bireylerin genotiplerini belirlemek oldukça zorlaşmaktadır ve bu genotiplerden sadece bir tanesi erkek kısır, diğerleri fertildir.

Klasik yolla idamecinin soğan popülasyonundan rastgele seçilmesi altı ila sekiz yıl almaktadır (Gökçe ve Havey 1998). Bunun için ıslahçı erkek fertil bitki genotipinin N-*msms*, N-*MSms*, veya S-*MSms* olup olmadığını erkek kısır olan (S-*msms*) bir bitki ile

test melezlemesi ve kendileme yaparak, melezleme ve kendilemeden elde ettiği bireylerin fertillliğini ayrı ayrı kontrol ederek belirleyebilmektedir. Erkek fertil bitki *N-MSMS* veya *S-MSMS* genotipine sahipse de aynı belirleme yöntemi uygulanabilir fakat idameci bitki (*N-msms*) ile melezlenerek çekinik allelin geçişi sağlanmakta ve daha sonra kendilemeyi gerektirmektedir. Bitkilerin çiçek açmasıyla beraber çiçeklere bakılarak gözlenen fertillik çevre şartlarından etkilendiği için tam olarak kesin bir genotip bilgisi vermemektedir. Ancak polen görülemediğinde soğan bitkilerinde tüm çiçeklenme boyunca çiçekler tekrar tekrar kontrol edilip bunun genetik mi çevresel faktörden dolayı mı saptamak gerekmekte ve bunun için birkaç yıl tekrarlama yapılabilmektedir (Gökçe ve Havey 1998, 2000 ve 2002, Havey ve ark. 2000, Gökçe 2001, Gökçe ve ark. 2002).

Soğanların sahip olduğu kloroplast ve mitokondrilerindeki DNA'da gözlenen farklılıklar sitoplazma tipini ayırt edebilmektedir (Courcel ve ark. 1989, Holford ve ark. 1991, Havey 1993, Satoh ve ark. 1993, Havey 1995b). Bu farklılıklardan ortaya çıkan moleküler markırları kullanan ıslahçı bireysel anlamda soğanların sitoplazmalarını belirleyebilmektedir. PCR tekniği kullanılarak sitoplazma belirleme klasik yöntemle göre çok daha kısa sürede ve daha kolay olmaktadır (Havey 1995b, Sato 1998, Engelke ve ark. 2003).

Üzerinde çalışılan soğan popülasyonunun sadece S-sitoplazmaya sahip olması durumunda klasik ıslah yöntemi yapılan çalışma sonucunda erkek kısırılığı devam ettirecek olan idame hattın bu popülasyondan seçilebilme ihtimali yoktur. Popülasyonun yalnızca N-sitoplazmaya sahip bireylerden oluşması durumunda ise erkek kısır hattın seçilemeyeceği sekiz yılın sonunda anlaşılabilir (Gökçe ve Havey 2006).

Moleküler teknikler, üzerinde çalışılacak soğan çeşitlerinin ve bu çeşitlerden çalışmalarda kullanılmayacak bireyleri çalışmanın başında eleme imkanı vermesi nedeni ile gereksiz bir masrafı ve zaman kaybını önlemektedir. Islah süreci, yalnızca S-sitoplazmaya sahip popülasyonlarda çalışmanın başlangıcında N-sitoplazmaya sahip bir bireyin geri melezlenmesi ile sitoplazması hariç hibrit tohum üretimi yapılmak istenen çeşide idameci olarak kullanılması ile başlatılabilmektedir. Benzer şekilde sadece N-

sitoplazma bulunduran çeşitlerde çalışmanın başında bir başka çeşitte S-sitoplazmaya sahip olan birey geriye melezlemeye tabi tutulurken sitoplazması hariç erkek kısır ana hat lazım olan çeşide ana hat olarak geliştirilebilmektedir.

Moleküler teknikler ve klasik ıslah teknikleri kullanılarak Türkiye'deki yerli soğan çeşitleri bitki genetik kaynaklarından 1998 yılında başlanan soğan ıslahı programı sonucu erkek kısır ana ve idameci baba hatlar geliştirilmiş ve Kantartopu soğan çeşidinden ilk kez 2009 yılında hibrit çeşit üretimi (Gökçe ve ark. 2011a, 2011b, 2011c), sonraki yıllarda ise çalışmalar devam ettirilerek farklı kombinasyonlarda 16 farklı F1 soğan çeşit adayı geliştirildiği rapor edilmiştir (Gökçe ve ark. 2012a, 2012b, 2012c, 2012d, Gökçe 2012).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışma Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Laboratuvarı ile MTN Tohumculuk Ltd. Şirketi'nin Balıkesir iline bağlı Bandırma ilçesinde bulunan Çepni Köyü Araştırma-Geliştirme (AR-GE) alanında yürütülmüştür.

Çalışmada 1998 yılından başlayarak günümüzde de devam etmekte olan yerli soğan popülasyonlarından seleksiyon sonucu elde edilen soğan saf hatlarından 60 genotip ile MTN Tohumculuk tarafından tescilli 10 adet ticari soğan çeşidi (Bereket, Beyaz Bilek, Hazar, Kapıdağ Moru, Karbeyazı, Metan 88, MT 101, Seç, Seyhan ve Viktorya) olmak üzere toplam 70 soğan genotipi ve daha önceden sitoplazma tipi bilinen (Gökçe 2001) iki adet kontrol (S sitoplazma için B1750A ve N sitoplazma için B1750B) bitki DNA'ları kullanılmıştır (Çizelge 3.1.1). Bu tez çalışmasının başladığı yılda yukarıdaki genotiplerin tohumlarından önceki sezon elde edilmiş olan baş soğanlar ve yedek tohumları bitki materyali olarak kullanılmıştır (Şekil 3.1.1).

Çizelge 3.1.1. Soğan genotiplerinin sıra numarası, 2011 kafes numarası, baş soğan kabuk rengi, yaprak örneği alınan bitki sayısı, DNA tüp numaraları ve konsantrasyonları (ng/µl)

Sıra No.	2011 Kafes No.	Soğan Kabuk Rengi	Yaprak Alınan Bitki Sayısı	DNA Tüp No.	DNA Konsantrasyonu
Kontrol	B1750A	Sarı	Hazır DNA	K01	16,03
Kontrol	B1750B	Sarı	Hazır DNA	K02	9,44
1	11001	Kırmızı	69	1	10,46
2	11003	Sarı	91	2	12,41
3	11005	Sarı	50	3	15,62
4	11009	Sarı	96	4	10,55
5	11011	Sarı	66	5	12,64
6	11013	Sarı	27	6	14,96
7	11015	Sarı	78	7	14,00
8	11017s	Sarı /Beyaz	82	8	8,15
9	11019b	Sarı /Beyaz	71	9	12,41
10	11021b	Sarı /Beyaz	68	10	14,84
11	11021s	Sarı /Beyaz	78	11	9,94
12	11023	Sarı /Beyaz	49	12	12,30
13	11025	Sarı	74	13	12,12
14	11027	Sarı	90	14	15,27
15	11029	Sarı	69	15	14,38
16	11031	Sarı	56	16	13,73
17	11033	Sarı	54	17	12,36
18	11035	Sarı	55	18	13,66
19	11037A	Sarı	15	19	15,42
20	11038B	Sarı	28	20	16,49
21	11039A	Sarı	56	21	14,50
22	11040B	Sarı	40	22	15,73

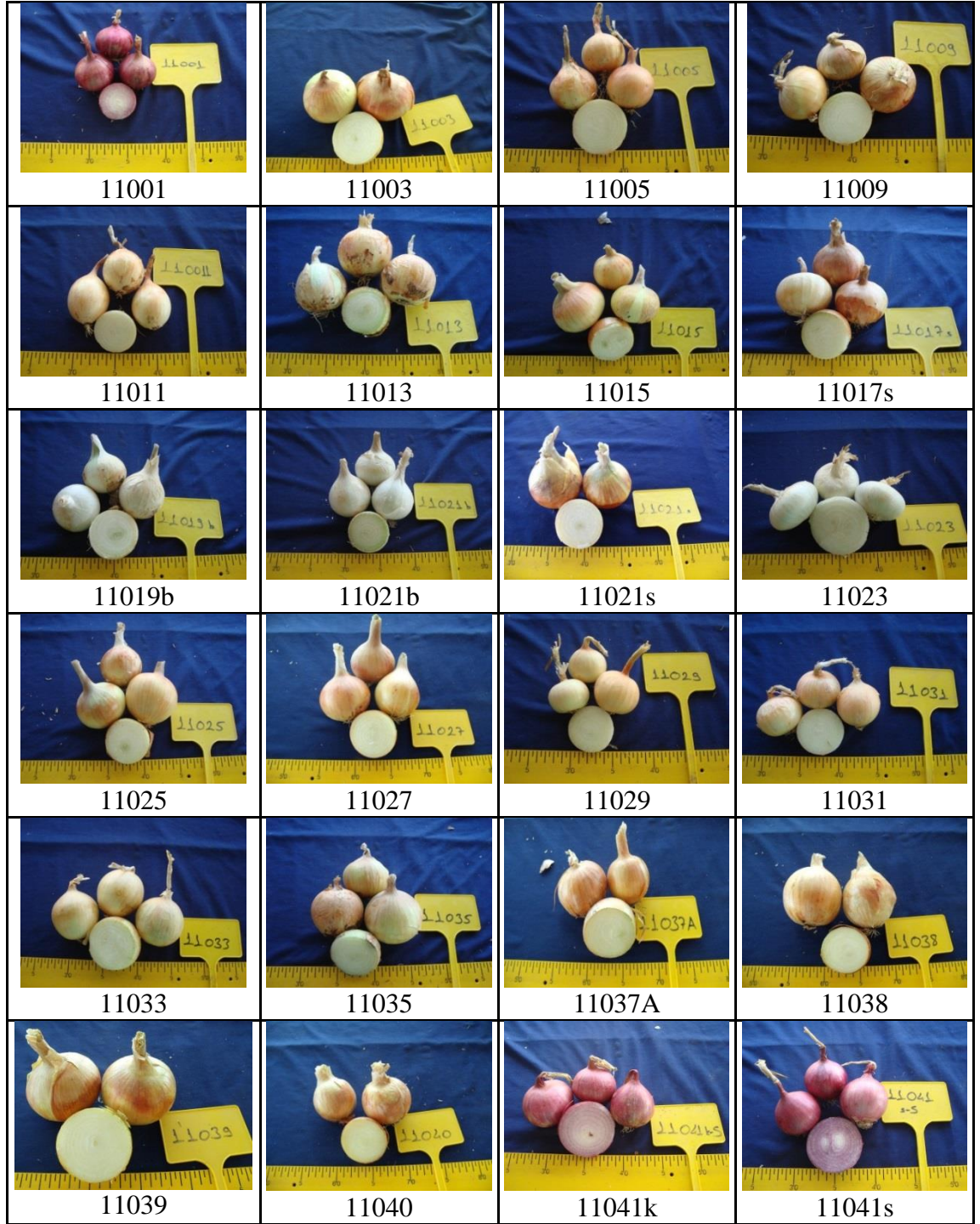
Çizelge 3.1.1. Soğan genotiplerinin sıra numarası, 2011 kafes numarası, baş soğan kabuk rengi, yaprak örneği alınan bitki sayısı, DNA tüp numaraları ve konsantrasyonları (ng/µl) (Devamı)

Sıra No.	2011 Kafes No.	Soğan Kabuk Rengi	Yaprak Alınan Bitki Sayısı	DNA Tüp No.	DNA Konsantrasyonu
23	11041	Kırmızı	22	23	17,68
24	11042B	Kırmızı	44	25	19,11
25	11043A	Sarı	28	26	16,36
26	11044B	Sarı	31	27	13,51
27	11045C	Sarı	25	28	17,06
28	11047s	Sarı /Beyaz	53	29	15,83
29	11049b	Beyaz	46	30	17,03
30	11051	Beyaz	69	31	14,91
31	11053	Sar./Kır./Bey.	73	32	21,92
32	11055	Beyaz	52	33	18,13
33	11057s	Sar./Kır./Bey.	76	34	13,86
34	11059b	Sar./Kır./Bey.	84	35	14,10
35	11061	Sarı	46	36	15,32
36	11063	Beyaz	43	37	19,56
37	11065	Beyaz	63	38	18,93
38	11067	Beyaz	53	39	13,09
39	11069	Beyaz	38	40	18,42
40	11071	Sarı	46	41	10,45
41	11073	Sarı	53	42	12,13
42	11075	Kırmızı	65	43	12,50
43	11077	Sarı	70	44	14,29
44	11079s	Sarı	44	45	15,53
45	11081b	Beyaz	75	46	13,55
46	11083	Sarı	79	47	19,38

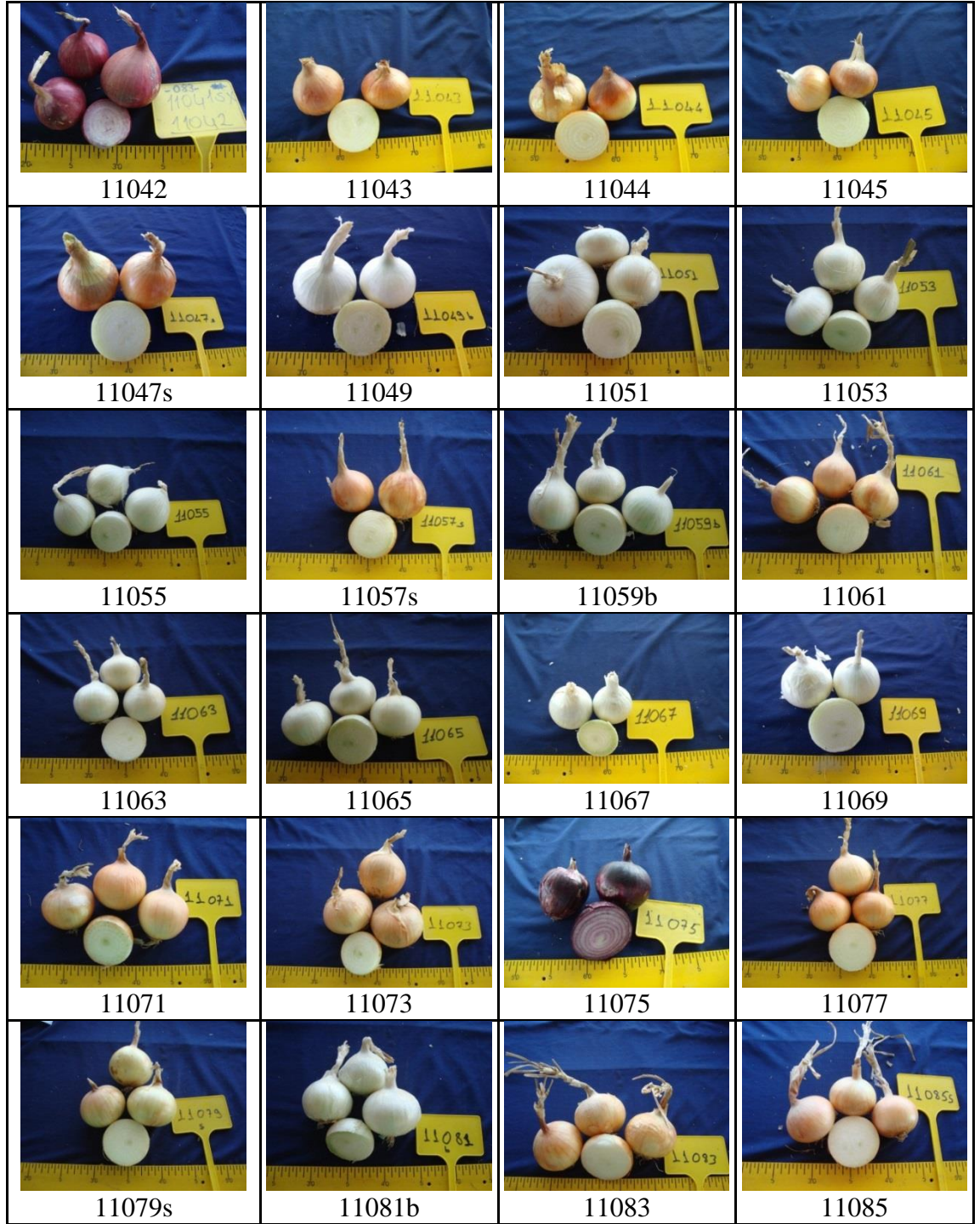
Çizelge 3.1.1. Soğan genotiplerinin sıra numarası, 2011 kafes numarası, baş soğan kabuk rengi, yaprak örneği alınan bitki sayısı, DNA tüp numaraları ve konsantrasyonları (ng/µl) (Devamı)

Sıra No.	2011 Kafes No.	Soğan Kabuk Rengi	Yaprak Alınan Bitki Sayısı	DNA Tüp No.	DNA Konsantrasyonu
47	11085s	Sarı	65	48	17,22
48	11087b	Beyaz	45	49	10,68
49	11085-87k	Sarı+Kırmızı	50	50	22,39
50	11089	Sarı	63	51	16,27
51	11091	Kırmızı	60	52	16,81
52	11135	Sarı	85	53	16,01
53	11137steril	Sarı	51	54	17,02
54	11137fertil	Sarı	53	55	15,08
55	11139steril	Sarı	72	56	13,04
56	11139fertil	Sarı	72	57	11,48
57	11141steril	Sarı	85	58	11,03
58	11141fertil	Sarı	90	59	9,09
59	11143steril	Sarı	86	60	12,01
60	11143fertil	Sarı	59	61	8,91
61	Bereket	Sarı	100	OP01	16,4
62	Burgaz	Kırmızı	100	OP02	16,2
63	Hazar	Sarı	100	OP03	12,5
64	Karbeyazı	Beyaz	100	OP04	22,3
65	Metan 88	Sarı	100	OP05	22,1
66	MT 101	Sarı	100	OP06	16,4
67	Seç	Sarı	100	OP07	14,3
68	Seyhan	Sarı	100	OP08	20,3
69	Viktorya	Sarı	100	OP09	15,1
70	Beyaz Bilek	Baş yok	100	OP10	20,2

Şekil 3.1.1. Soğan hatlarının 2011 yılı tohum artış kafes No. ve 2012 yılı baş soğan üretim parseline rastgele alınan soğanların tüm ve enine kesit resimleri



Şekil 3.1.1. Soğan hatlarının 2011 yılı tohum artış kafes No. ve 2012 yılı baş soğan üretim parseline rastgele alınan soğanların tüm ve enine kesit resimleri (Devamı)



Şekil 3.1.1. Soğan hatlarının 2011 yılı tohum artış kafes No. ve 2012 yılı baş soğan üretim parcelinden rastgele alınan soğanların tüm ve enine kesit resimleri (Devamı)



3.2. Yöntem

3.2.1. Baş soğandan tohum üretimi

Çalışmada kullanılan soğan tohumlarının üretimi için MTN Tohumculuk Ltd. Şirketi'nin AR-GE sahasında toprak 2010 yılı ağustos ayında sürülmüş, eylül ayında ekim için kültüvatörle sürüm yapılmış ve toprak ekime hazır hale getirilmiştir. İlk iş olarak bir dönem önce yetiştirilen baş soğanlardan tohum üretimi gerçekleştirmek için 2010 yılı kasım ayı içerisinde her bir hattan sağlam, yeterli irilikte, filizlenmemiş olanlar seçilmiştir (Şekil 3.2.1.1). Görsel olarak sağlam baş soğanlar seçildikten sonra enine kesim yapılarak düzgün ve tek merkezli olanlar dikilmek için belirlenmiştir (Şekil 3.2.1.2).



Şekil 3.2.1.1. Baş soğanların dikimden önce seçimi



Şekil 3.2.1.2. Baş soğanların enine kesilerek seçimi

Dikim için seçilen soğanlar 10x60 cm (sıra üzeri x sıra arası) mesafede araziye dikilmişlerdir (Şekil 3.2.1.3). Arazi planı olarak 1 m² likler 1x1 m² parsele iki sıra, 9 m² likler 3x3 m² parsele 5 sıra olarak dikilmişlerdir.



Şekil 3.2.1.3. Baş soğanların tohum üretimi için 10x60 cm mesafeli 9 m² parseli

Tohum ekim parsellerinde bitkilere K (15 kg) ve P (25 kg) gübrelere tamamı ve N (20 kg) gübresinin üçte biri taban gübrelemesinde; geri kalanı ise gelişme devresinde iki evre olarak verilmiştir. Soğanların büyüme gelişme süresince gerekli bakım işleri yapılmış; arazide ot kontrolleri sağlanmış, etrafta çıkan yabancı otlar kökleriyle çıkartılarak temizlenmiştir. Damla sulama sistemi ile gerekli görüldüğünde ek sulama yapılmıştır. Mayıs ayının başlarında baş soğanlar sapa kalkarak çiçek toplarını oluşturmaya başlamışlardır. Her bir parcel için genel görünüme uymayan tip dışı bitkiler görsel olarak incelenip, düzgün çiçek sapı oluşturmayan bitkiler düzgün çiçek sapı oluşturma yönündeki ıslah için seçilip atılmışlardır (Şekil 3.2.1.4).



Şekil 3.2.1.4. Eğri çiçek saplı olan bitkilerin negatif seleksiyonu

Kafesleri kapatmadan önce son yabancı ot temizliği yapılarak soğanların çiçeklenme dönemi öncesi çiçek saplarının ileride karışmasını engellemek için çiçek sapları ip yardımıyla ayrı ayrı bağlanmışlardır (Şekil 3.2.1.5).



Şekil 3.2.1.5. Tohum üretim parselindeki soğan çiçek saplarının bağlanması

Açık tozlanmayı engelleyebilmek için ıslah hatlarından kendilenecek veya melezlenecek olanlar bireysel, grup içi tozlanacak olanlar 1 m²'lik ve tohum artışı için dikilenler 9 m²'lik kafeslere alınmıştır. Çiçek toplarının açılıp bireysel çiçeklerin ortaya çıkması ile Mayıs 2011 aylarında kafesler beyaz veya yeşil renkli kafes örtü tülü ile kapatılmış (Şekil 3.2.1.6) ve soğanların kendilenmesi, melezlenmesi ve grup içi tozlanması karasineklerin pupa halindeyken kafes içerisine konularak ergin sineklerin çıkması ile sağlanmıştır (Şekil 3.2.1.7).



Şekil 3.2.1.6. Soğan çiçeklerinin kafes içerisine alınması



Şekil 3.2.1.7. Kafesler içerisinde tozlanmanın karasinekler ile gerçekleşmesi

3.2.2. Tohumluk hasadı

Çiçeklerin tozlanması ile tohum tutan ve hasat zamanı gelen çiçek başları temmuz-ağustos 2011 aylarında çiçeklere ve tohumlara zarar gelmeyecek şekilde saplarından bıçak yardımıyla baş kısımlarına yakın kesilerek bireysel olarak (her bir ıslah hattındaki aynı kafes içerisinde bulunan soğanların çiçek başları ayrı ayrı olmak üzere) hasat edilmiştir (Şekil 3.2.2.1).



Şekil 3.2.2.1. Soğan çiçek toplarının hasat edilerek kese kağıtlarına alınması

Hasat edilen çiçek başlarının açık alanda kurutulması sağlanmıştır. Başların kurutulması ile birlikte 1 ve 9 m²'lik kafeslerden elde edilen çiçek başlarından tohumların çıkartılması için AR-GE alanında bulunan patoz makinesi yardımıyla tohumların kapsüllerden ayrılması sağlanarak temizlenmiştir (Şekil 3.2.2.2).

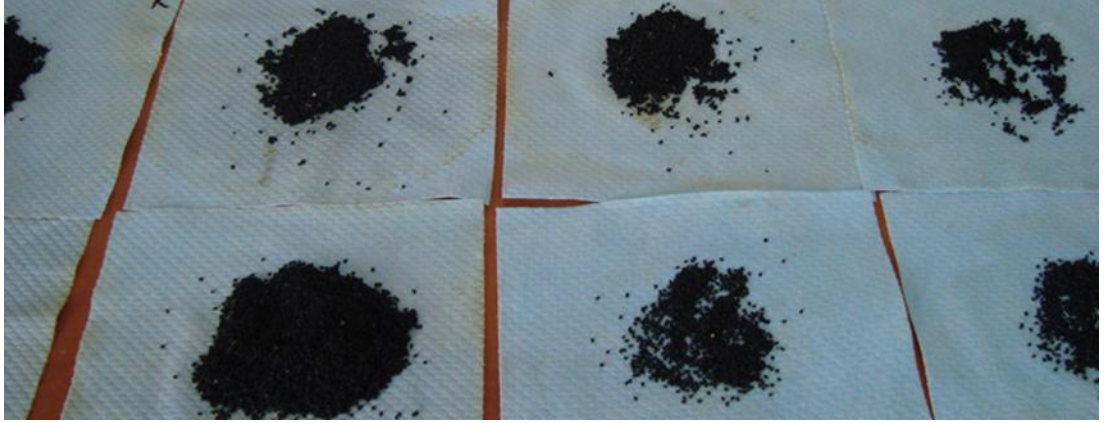


Şekil 3.2.2.2. Hasat edilen soğan çiçek toplarının patoz ile parçalanması

Bireysel kafeslerden hasat edilen çiçek başları ise içerisinde plastik bıçak bulunan bir tencereye konularak 1-2 dakika boyunca tohum kapsüllerinin parçalanması sağlanmıştır. Çıkartılan tohum ve sap kısımları, içerisinde su bulunan bir sürahiye konularak yoğunluk farkından tohum ve sap kısımları birbirinden ayrılmıştır (Şekil 3.2.2.3). Sürahinin dip kısmında biriken canlı ve sağlam olan tohumlar kurutma kağıdına alınarak 12-24 saat oda sıcaklığında ön kurutmaya tabi tutulmuştur (Şekil 3.2.2.4). Ön kurutmadan sonra tohumlar düşük nem kontrollü 30°C hava üfleli kurutma odasında tohum nemi %10 oluncaya kadar kurutulmuştur. Kurutulan tohumlar üzerlerinde hat numaralarının yazılı olduğu küçük tohum zarflarına konulup nem ve sıcaklık kontrollü tohum odasında (10-12°C, %45-50 nem, karanlık ortam) sonra kullanılmak üzere depolanmıştır (Şekil 3.2.2.5).



Şekil 3.2.2.3. Suya daldırma ile tohumların sap saman kısımlarından ayrılması



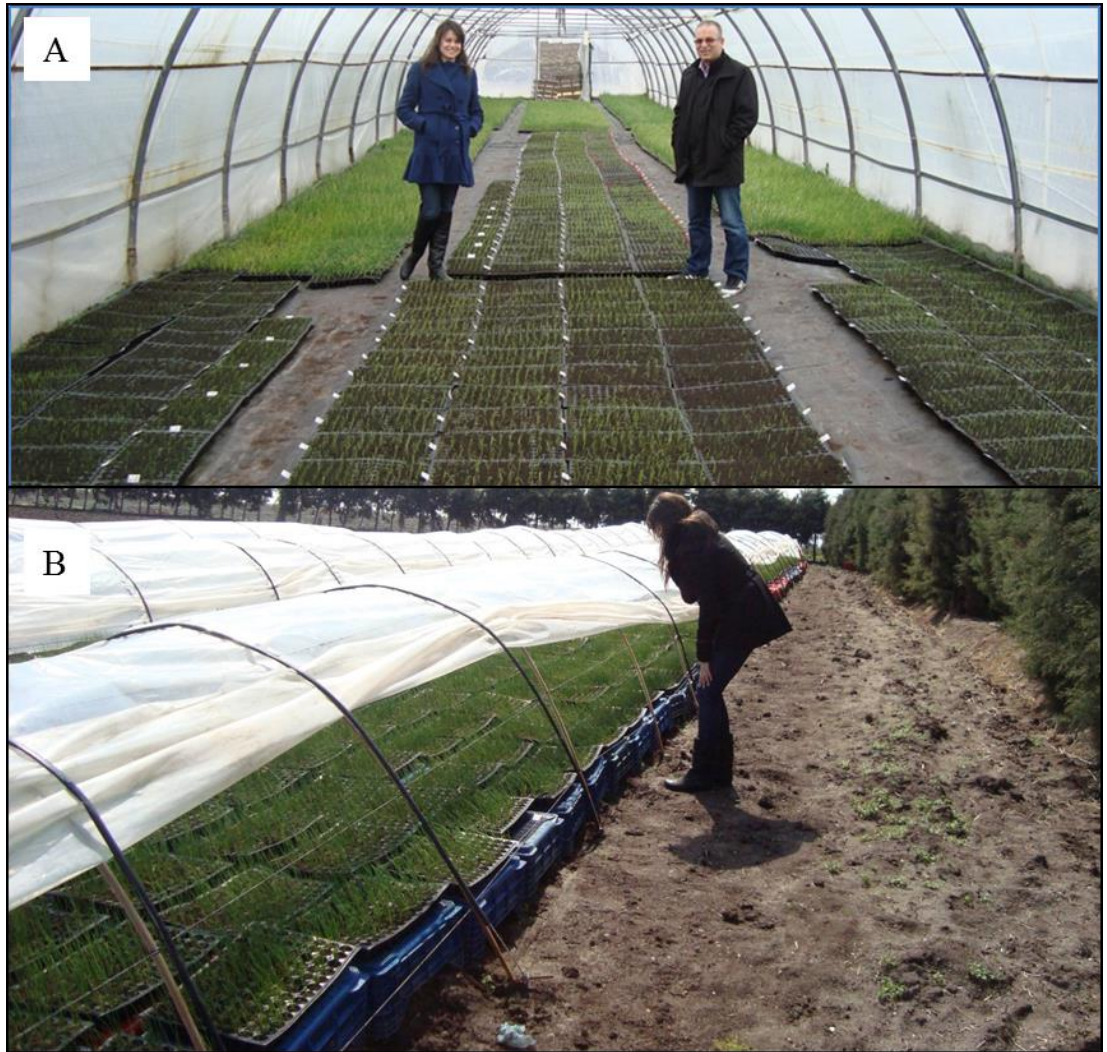
Şekil 3.2.2.4. Suya daldırma yöntemi ile temizlenen tohumların oda sıcaklığında kurutma kağıtları üzerinde ön kurutmaya tabi tutulması



Şekil 3.2.2.5. Tohumların zarflara konularak sıcaklık ve nem kontrollü tohum odasında depolanması

3.2.3. Tohumların ekimi

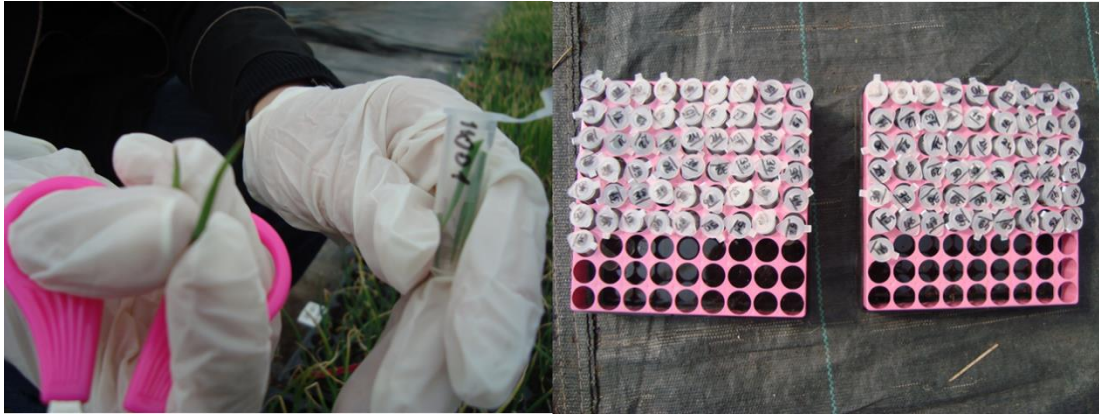
Temmuz, ağustos 2011 ayları içerisinde hasat edilen, nem ve sıcaklık kontrollü tohum odalarında depolanan tohumlar baş soğan üretimi ve DNA çıkartmada gerekli yaprak örnekleri için, kasım, aralık 2011 aylarında 8x13 sıralı 104'lük viyollere torf konularak her bir göze bir ila iki adet tohum ekilmiş ve üzerlerine hangi hatta ait oldukları not alınmıştır. Viyoller MTN Tohumculuk Ltd. Şirketi'nin 250 m²lik plastik serası ve yüksek tünellerine konulmuştur (Şekil 3.2.3.1). Tohumların ekimi bittikten sonra viyollere su verilerek torfun nemlenmesi sağlanmıştır. Periyodik olarak sulama yapılarak torfun nemli kalması sağlanmıştır.



Şekil 3.2.3.1. Tohum ekimi yapılmış viyollerin seraya (A) ve plastik yüksek tünellerine (B) konularak soğan fidelerinin üretimi

3.2.4. DNA için yaprak örneklerinin alınması

2012'nin kış aylarında ekimleri gerçekleştirilen tohumlar mart, nisan 2012 ayları içerisinde çimlenip üç ila dört yapraklı soğan fidelerini oluşturmuşlardır. Nisan 2012 ayı içerisinde çalışmada kullanılacak her bir hattan yaprak örnekleri alınmıştır. Bunun için her bir çeşitten yaprak örnekleri aynı hat içerisinde her bir tüp için on farklı bireyden en genç yaprakların uç kısımlarından 1,5-2 cm olacak şekilde makas yardımıyla kesilerek alınmış, daha önceden üzerlerinde hangi hattan örnek alınacağına dair numaralar yazılmış olan mikro tüplere konulmuştur (Şekil 3.2.4.1). Alınan örnekler Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Hasat Sonu Fizyolojisi Laboratuvarı'nda bulunan dondurucuda (-20°C) DNA izolasyonu yapıncaya kadar saklanmıştır. Her bir hattan yaprak örneği alınan toplam bitki sayısı Çizelge 3.1.1'de verilmiştir.



Şekil 3.2.4.1. DNA izolasyonu için soğan fidelerinden yaprak örneklerinin alınarak tüplere konulması

Serada bulunan soğan fidelerinden alınan örneklerin haricinde çimlendirilen soğan tohumlarından da yaprak örnekleri almak için MTN Tohumculuk Ltd. Şirketi'nin laboratuvarında bulunan çimlendirme kabininde tohumların çimlendirilmesi sağlanmıştır. Her bir çeşidin tohumlarından rastgele 100 adet tohum çimlendirme kağıdında çimlendirilmiş ve çimlenen tohumların yaprağından alınan doku örnekleri üzerlerine hatların numaralarının yazılı olduğu mikro tüplere konulmuştur. Çimlenen tohumlardan alınıp tüplere konulan örneklerin sayısı Çizelge 3.1.1'de verilmiştir.

3.2.5. Stok solüsyonların hazırlanması

Laboratuvar çalışmaları sırasında kullanılan bütün solüsyonlar Sambrook ve ark. (1989) tarafından tarif edilen şekilde hazırlanmıştır. 5 M NaOH çözeltisi 250 ml, 0,5 M EDTA (pH 8,0) çözeltisi 350 ml, 1 M Tris-Cl (pH 8,0) çözeltisi 500 ml, 10x TBE çözeltisi 1 000 ml, 10:1 mM TE (Tris-Cl pH 8,0:EDTA pH 8,0) çözeltisi 100 ml, %20 SDS (pH 7,2) çözeltisi 1 000 ml, 2x CTAB çözeltisi 1 000 ml, 7,5 M amonyum asetat çözeltisi 500 ml, 5 M NaCl çözeltisi 1 000 ml ve 10 mg/ml etidyum bromür (EtBr) çözeltisi 40 ml, olarak hazırlanmıştır.

3.2.6. Yaprak örneklerinden DNA çıkartma

Seradan alınan yaprak örnekleri ve çimlendirme sonucu tohumlardan alınan doku örneklerinden DNA çıkartma işlemi CTAB DNA izolasyon (Gökçe 2001) protokolü veya MO-BIO Laboratories firmasından sağlanan UltraClean® Plant DNA Isolation Kit protokolüne göre yapılmıştır. MO-BIO Laboratories firmasından sağlanan UltraClean® Plant DNA Isolation Kit protokolüne göre uygulanan protokol:

1. İlk adım olarak MO-BIO Laboratories firmasından alınan içerisinde ufak bilyeler içeren 2 ml'lik bead solüsyon tüplerine dondurucudan çıkartılan ve buz dolu kabın içerisinde bekletilen doku örneklerinden on tanesi pens yardımıyla koyulmuştur. Bead solüsyon tüpleri, içerisinde küçük bilyeler bulundurması sebebiyle dokudaki hücre çeperinin parçalanması sağlanmakta ve 550 µl hücre parçalama çözeltisi içermektedirler.
2. İçerisinde örnek bulunan tüplere 60 µl Solüsyon P1 konulmuş, tüpler yaklaşık 10 dakika vorteks yapılmıştır. Solüsyon P1, içerisinde deterjan içermekte ve soğuk bulunması halinde çökelme meydana getirmektedir.
3. Vorteks sonrası tüpler 10 dakika süre ile sıcak su banyosunda tutulmuşlardır. Bu aşamada bitki materyalinin yumuşaması sağlanmaktadır.

4. Su banyosundan alınan bead solüsyon tüpleri maksimum hızda 10 dakika daha vortekslenmişlerdir. Bu aşama yaprakların homojen bir şekilde öğütülmesinde elle öğütmeye göre çok daha iyi sonuç vermektedir.

5. Vorteksten alınan tüpler 10,000 x g' de 30 saniye boyunca santrifüje konulmuşlardır. Bu aşama, istenmeyen hücre ve doku artıklarını pellet haline getirmektedir. Santrifüjden alınan tüplerde süpernatant adı verilen tüpün üst kısmında kalan ve DNA içeren düşük yoğunluklu sıvı bulunurken, alt kısımda ise dibe çökmüş bir şekilde pellet bulunmaktadır.

6. Tüplerde oluşan DNA ve diğer hücre bileşenlerini içeren süpernatant kısımlar pelletten gelebilecek herhangi bir doku parçasından kaçınılarak mikro pipet yardımıyla dikkatlice çekilip 2 ml'lik boş tüplere aktarılmıştır.

7. Tüplere aktarılan süpernatant kısım üzerine 250 µl Solüsyon P2 eklenmiştir. İnkübe aşamasında proteinleri çöktürücü ve DNA'da istenmeyen proteinlerin çöktürülmesine yardımcı bir madde olan Solüsyon P2, proteinlerin çökmesini sağlamıştır.

8. Hazırlanan tüpler 5 saniye süre ile vorteks yapılmışlar ve ardından 4°C'de 5 dakika inkübe edilmişlerdir.

9. Bu aşamadan sonra tüpler 10,000 x g'de 1 dakikalığına santrifüj edilmiştir. Santrifüj ile birlikte tekrar oluşan süpernatant ve bununla beraber oluşan pellet olarak proteinlerin çöktürülmesi sağlanmıştır.

10. Süpernatant kısım, pelletlerin gelmesinden kaçınılarak tekrardan temiz olan 2 ml'lik mikro tüplere pipetler yardımıyla aktarılmıştır.

11. Tüplerde bulunan süpernatant kısım üzerine 1 000 µl Solüsyon P3 eklenmiş ve 5 saniye vorteks yapılmıştır. Solüsyon P3, DNA'nın filtreye bağlanmasını sağlayan tuzlu bir solüsyondur. Oluşan karışım 2 ml'lik mikro tüp içerisinde bulunan filtre üzerine mikro pipet yardımı ile konulmuştur.

12. Filtreli mikro tüpler 10,000 x g'de 30 saniye süre ile santrifüj edilip, santrifüj işleminden sonra tüplerdeki filtreli kısma bağlanan DNA'lar kalacak şekilde alta geçen sıvılar atılarak dökülmüş, tekrardan önceki adımdaki karışım eklenerek aynı değerlerdeki santrifüje konulmuştur. Bu işlem toplamda üç kez tekrarlanmıştır.

13. İşlem sonunda tüp içerisinde bulunan filtre üzerine 300 µl Solüsyon P4 eklenmiş ve sonrasında 10,000 x g'de 30 saniye süre ile tekrardan santrifüje konulmuştur. Solüsyon P4 bir yıkama tamponudur ve içerisinde etanol barındırmaktadır. Artık olan tuzları temizleyip DNA'nın temizlenmesinde yardımcıdır.

14. Tüpler Solüsyon P4 kalıntılarını kaldırmak için 1 dakika boyunca 10,000 x g'de yeniden santrifüj edilmişlerdir ve tüplerdeki alta geçen kısım santrifüj sonrası atılarak filtreli olan kısım 2 ml'lik temiz tüplere alta geçen kısımdan hiçbir şekilde sıçrama, değme olmayacak şekilde aktarılmışlardır.

15. Alınan yeni tüpteki filtre membranının ortasına mikro pipetler yardımıyla Solüsyon P5'den 50 µl çekilip eklenmiş ve 30 saniye santrifüje konulmuştur. Solüsyon P5, membranda bulunan bağlı DNA'nın serbest bırakılmasını sağlayan 10 mM tuz içeren bir Tris solüsyonudur. Solüsyon P5 filtreden geçerken DNA filtreye bağlı kalmaz ve solüsyonla beraber filtrenin altına geçer.

16. Santrifüj sonrası filtre tüpü atılmış ve DNA çıkartılmıştır. Çıkan DNA'lar eksi 20°C'deki derin dondurucuda jelde yürütülünceye kadar muhafaza edilmişlerdir.

3.2.7. Primerlerin seçimi

Soğan hatlarının moleküler markırlar ile karakterizasyonunda kullanılacak primerler daha önce Havey (1995b), Sato (1998) ve Engelke ve ark. (2003) tarafından bildirilen DNA dizinlerine göre İzmir Bornova'daki Genmar Teşhis Ürünleri Ar-Ge Laboratuvar Hizmetleri Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti.'ne sentezlettirilmiştir (Çizelge 3.2.7.1). Bu primerlerden GAF01 ile GAF02, GAF03 ile GAF04 ikiyeşerli olarak birlikte; mtDNA S-sitoplazmaya özel GAF05S ile mtDNA N-sitoplazmaya özel GAF06N her ikisinin ortağı olan GAF07O ile üçü birlikte kullanılmak üzere seçilmiştir.

Çizelge 3.2.7.1. Soğan hatlarının sitoplazma genotipini belirlemede kullanılan primerlerin adı, DNA dizini, çoğaltılan bitki DNA'sında N-, S-, veya T- sitoplazma tipi için beklenen DNA parçası boyları

Primer Adı	Sentezlenen Primerlerin 5'→3' DNA Dizini	Beklenen DNA Boyu		
		N	S	T
GAF01 GAF02	5'-CATTACAAATGCGATGCTCT-3' 5'-TCTACCGATTTCCGCATATC-3'	1 100 ^a	1 000 ^a	1 100
GAF03 GAF04	5'-ATGGCTCGCCTTGAAAGAGAGC-3' 5'-CCAAGCATTTGGCGCTGAC-3'		473 ^b	473 ^b
GAF05S GAF06N GAF07O	5'-GTCCAGTTCCTATAGAACCTATCACT-3' 5'-TCTAGATGTCGCATCAGTGGAAATCC-3' 5'-CTTTTCTATGGTGACAACCTCCTT-3'	180 ^c	414 ^c	180 ^c

^aGAF01 ile GAF02 primerleri birlikte kullanıldığında mitokondri genomu T tipi ve kloroplast genomu N tipi olan soğanlarda 1 100 bç, kloroplastı S tipi olan soğanlarda ise 1 000 bç boyunda DNA parçası üretilmektedir (Havey 1995b).

^bGAF03 ile GAF04 primerleri kullanıldığında mitokondri genomu S veya T tipi olan soğanlarda 473 bç boyunda DNA parçası üretilirken; N tipi olanlarda hiçbir DNA parçası üretilmeyeceği beklenmektedir (Engelke ve ark. 2003).

^cGAF05S, GAF06N ve GAF07O birlikte kullanıldığında kloroplastı N ve mitokondrisi T tipi olan soğanlarda 180 bç bant; mitokondrisi S olanlarda ise 414 bç boyunda DNA bandı beklenmektedir (Sato 1998).

3.2.8. Çıkarılan DNA'ların çoğaltılması ve elektroforezde yürütülmesi

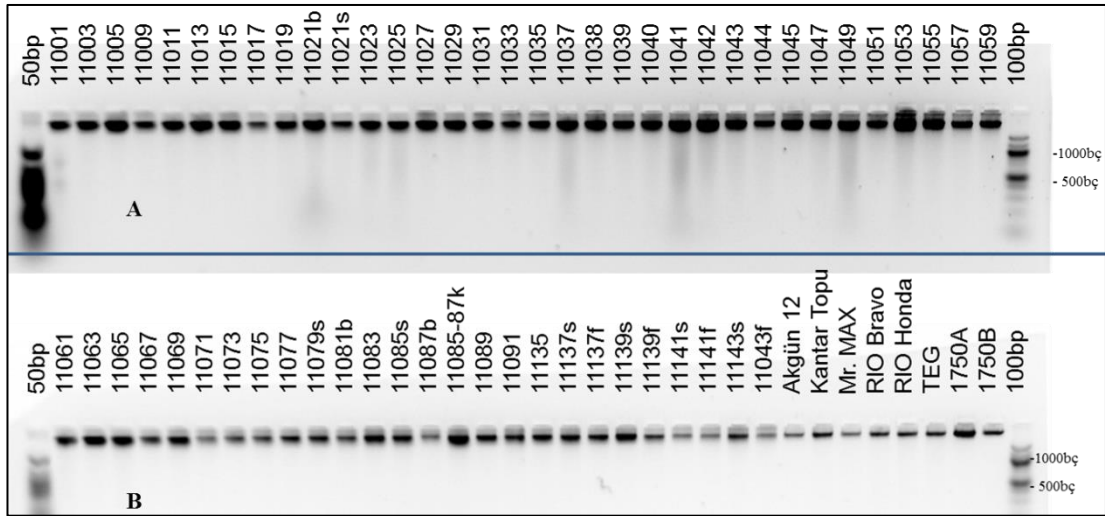
Çıkarılan DNA'ların görsel olarak bakılması 1x TBE çözeltisi ile hazırlanan %1.5'lik agaroz jelin içine 0.5 µg/ml konsantrasyonda olacak şekilde EtBr konularak 10 µl DNA örnekleri 3 saat 80 V elektrik akımı ile yürütülmüşlerdir. DNA görüntüleri DNR Mini Lumi Gel Imaging sistemi ile sabitlenip Gel Capture programı ile bilgisayar ortamına aktarılmıştır. İçerdiği DNA miktarı bilinen bir ölçü DNA bandı görüntüsü ile diğer örnek görüntüleri kıyaslanarak DNA Quant programında bilgisayar ortamında konsantrasyonları belirlenmiştir.

PCR yardımıyla DNA çoğaltma işlemine geçilmiştir. Sentezletilen primerler TE çözeltisi ile sulandırılarak 20µM çalışma konsantrasyonu olacak şekilde seyreltilmiştir. Bitki DNA'larını primer kullanarak PCR ile çoğaltma işlemi her bir örnek için 2 µl (4-11 ng DNA) üzerine içerisinde 0,2 µM her bir primer olacak şekilde 1,25 µl ileri ve geri primerlerinden, 8 µl ultra saf su, 12,5 µl 2x One Tag mastır karışımından son konsantrasyon 20 mM Tris-HCl (Ph:8,9), 1.8 mM MgCl₂, 22 mM NH₄Cl, 22 mM KCl, 0.2 mM dNTPs, %0,5 Gliserol, %0,06 IGEPAL@CA-630, %0,05 Tween® 20 (pH 9,0), 25 u/ml One Taq DNA polimeraz konularak toplam 25 µl hacim içerisinde gerçekleştirilmiştir. PCR'da DNA çoğaltma işlemi GAF01 ve GAF02 için 94°C'de 4 dakika ön ısıtma, 35 döngü 94°C'de 1 dakika, 45°C'de 1 dakika, 68°C'de 2 dakika ve en son 68°C'de 5 dakika; GAF03 ve GAF04 primerleri için 94°C'de 4 dakika ön ısıtma, 40 döngü 94°C'de 1 dakika, 60°C'de 1 dakika, 72°C'de 2 dakika ve en son 72°C'de 5 dakika; GAF05, GAF06 ve GAF07 primerleri için 94°C'de 4 dakika ön ısıtma, 30 döngü 94°C'de 1 dakika, 53°C'de 1 dakika, 72°C'de 2 dakika ve en son 72°C'de 5 dakika dizi tamamlama uygulanmıştır. PCR ile çoğaltılan DNA parçaları içinde %1,5'lik agaroz jelin içine 0,5 µg/ml konsantrasyonda olacak şekilde EtBr konularak yukarıdaki DNA görüntüleme işlemi tekrarlanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. DNA Yoğunlukları ve PCR İçin Uygun Miktarın Belirlenmesi

Çıkarılan DNA'lar agaroz jelde yürütülerek görüntülendiğinde 8-22 ng/µl arası DNA çıkarılabildiği (Çizelge 3.1.1). Şekil 4.1.1 üst (A) ve alt (B) de verilen görüntünün sağ son sırasında bulunan 1 000 bç ölçü markır DNA bandı 142 ng DNA içermektedir. Diğer örnek DNA bantları ise 142 ng olan DNA bandı DNA Quant programında standart olarak verilerek bilgisayar ortamında konsantrasyonları belirlenmiştir (Çizelge 3.1.1) PCR ortamında çoğaltmak için önce 2 µl DNA solüsyonu (16-44 ng DNA) kullanılmıştır. Ancak PCR reaksiyonundan sonra agaroz jel görüntülerine bakıldığında jel kuyucuklarında büyük boylu DNA gözlemlendiğinden reaksiyonun çalışmadığı tespit edilmiş (Şekil burada verilmemiştir), bir sonraki işlemde DNA 1/10 seyreltilmiş ancak kullanılan hacimde 2 µl'den 5 µl'ye çıkarıldığından önceki DNA miktarının dörtte biri (¼) kadar 4-11 ng DNA kullanılmıştır.



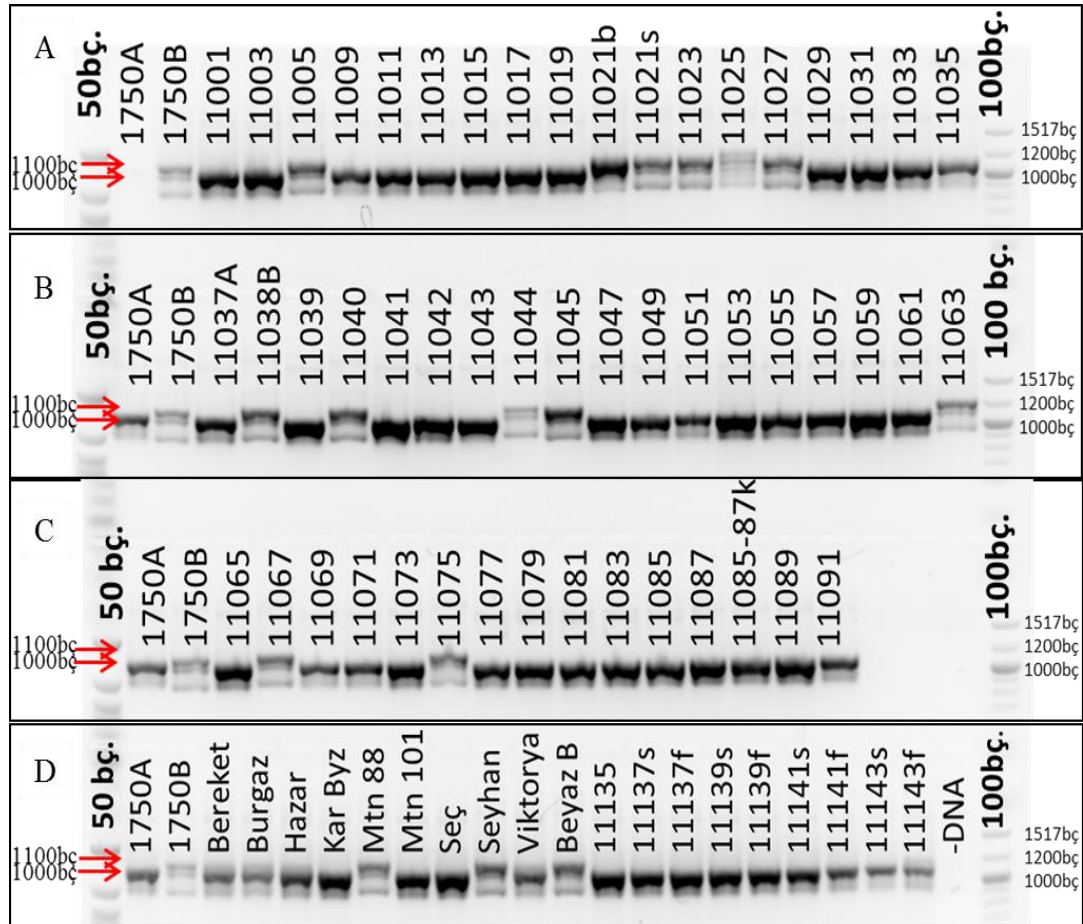
Şekil 4.1.1. Çıkarılan DNA örneklerinden 10 µl hacmin içerdiği DNA miktarlarının agaroz jelde görüntüleri (1 000 bç'lik DNA ölçü bandı 142 ng DNA içermektedir)

4.2. Çıkarılan DNA'ların GAF01 ve GAF02 Primerleri ile Kloroplast Genom Tipini Belirleme

Soğan kloroplast genom farklılığından yararlanarak moleküler markırlar ile genotiplerin sitoplazma tipini belirlemek için GAF01 ve GAF02 primerleri kullanılmıştır. PCR'da DNA çoğaltma işlemi Havey (1995b) tarafından bildirildiğine göre yapılmıştır. Ancak daha önce rapor edilen 42°C primer eşleşme sıcaklığı denendiğinde ilgisiz boylarda beklenmeyen DNA bantları gözlemlenmiştir. Sitoplazma spesifik olmayan bu DNA bantlarının elemine edilmesi için primer eşleşme sıcaklığı olarak 48°C kullanılmış ancak bu sefer de hiçbir DNA bandı gözlenmediğinden, son olarak primer eşleşme sıcaklığı 45°C olarak denenmiştir. Sonucunda beklenen DNA bantları gözlemlenmesine rağmen zayıf bant görüntüsünden dolayı dizin çoğalma sıcaklığı 72°C'den 68°C'ye düşürülmüştür. Son olarak GAF01 ve GAF02 primerleri çoğaltma işlemi için 94°C'de 4 dakika ön ısıtma, 35 döngü için 94°C'de 1 dakika, 45°C'de 1 dakika, 68°C'de 2 dakika ve en son 68°C'de 5 dakika tamamlama şeklinde kullanıldığında soğan kloroplast (cpDNA) genomunda beklenen N- ve S-sitoplazma için 1 100 bç ve 1 000 bç DNA bantları gözlemlenmiştir (Şekil 4.2.1). Soğan sitoplazmasında bulunan cpDNA farklılığından kaynaklanan 1 100 bç'lik DNA bandı kloroplast yönünden N sitoplazmayı gösterirken, 1 000 bç'lik bant ise S sitoplazmayı göstermektedir (Havey 1995b). Önceden genotipleri bilinen 1750A ve 1750B hatları S- ve N- sitoplazma tipine kontrol olarak kullanılmıştır. Aynı zamanda 11039, 11041 ve 11043 nolu hatların *galanthum* tipi sitoplazmaya sahip oldukları bilinmektedir (Gökçe 2012).

Şekil 4.2.1'de ilk üç tarak (A, B, C) 22 gözlü, son tarak (D) ise 24 gözlü olarak kullanılmıştır. Her dört tarak için ilk gözlere (sol) 50 bç, son gözlere (sağ) ise 100 bç aralıklarla artan DNA ölçü markırı yüklenmiştir. Son gözlere konan DNA ölçü markırınının 1 517, 1 200 ve 1 000 bç olanlar şekilde gösterilmiştir. Şeklin sol tarafında ise primerler ile çoğaltıldığında S- ve N-sitoplazma için beklenen 1 000 bç ve 1 100 bç bantlar ok işareti ile gösterilmiştir. Bant boylarının birbirine yakın olmasından dolayı ayrılma iyi olmamasına rağmen, ilk tarak (A) üçüncü gözde bulunan 1750B kontrolünde 1 100 bç DNA bandı (üstteki) görülmektedir. Dördüncü ve beşinci gözlerde yer alan 11001 ve 11003 örnekleri için ise 1 000 bç DNA bantları seviye olarak 1750B kontrol bandından biraz aşağıda gözükmektedir. Aynı şekilde sırası ile altıncı gözde bulunan

11005 için 1 100 bç (yukarıda), 11009, 11011, 11013, 11015, 11017 ve 11019 örnekleri için 1 100 bç bant (aşağıda), 11021b, 11021s, 11023, 11025, 11027 için 1 100 bç, 11029, 11031, 11033 ve 11035 için 1 000 bç bant görülmüştür. Diğer taraklarda (B, C, D) aynı şekilde incelenmiştir. Üçüncü tarakta 19, 20 ve 21'inci gözler boş bırakılmıştır. Dördüncü tarakta (D) ise, sondan ikinci göz negatif kontrol olarak kullanılmış PCR işleminde karışıma DNA konmamıştır (Şekil 4.2.1). Genotipleme yapabilmek için sayısal veri olarak bant olanlara bir (1) olmayanlara sıfır (0) verilerek Çizelge 4.2.1'de skorlanmıştır. GAF01 ve GAF02 primerleri ile bakılan cpDNA'ya göre ıslah hatlarından 47 tanesi S-, 13 tanesi N-tipi; ticari çeşitlerden 8 tanesi S-, 2 tanesi de N-sitoplazmaya sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2.1). Bu primerler sadece cpDNA'daki farklılığı gösterdiğinden mtDNA'ya göre belirlenebilen T- ya da G-sitoplazma hakkında bilgi vermemiştir.



Şekil 4.2.1. GAF01 ve GAF02 primerleri ile çoğaltılan PCR ürününün agaroz jel görüntüsü. B, C ve D'de kontrol 1750A'daki 1 000 bç bant S sitoplazmayı, 1750B'deki 1 100 bç bant ise, N sitoplazmayı göstermektedir

Çizelge 4.2.1. Soğan hatları No., soğan kloroplast DNA'ları primerlerden ikili olarak GAF01 ile GAF02 ve mitokondri DNA'ları GAF03 ile GAF04, üçlü olarak GAF05, GAF06 ve GAF07 ile çoğaltıldığında beklenen DNA boyları ve markırlar ile belirlenen kloroplast ve mitokondri tipleri

Hat Numarası	GAF01-02 ^a		GAF03-04 ^b	GAF05-06-07 ^c		Sitoplazma Tipi ^d	
	1 100 N	1 000 S	473 S/T	414 S	180 S/N	Kloroplast	Mitokondri
B1750A	0	1	1	1	0	S	S
B1750B	1	0	0	0	1	N	N
11001	0	1	1	1	0	S	S
11003	0	1	1	1	0	S	S
11005	1	0	0	0	1	N	N
11009	0	1	1	1	0	S	S
11011	0	1	1	1	0	S	S
11013	0	1	1	1	0	S	S
11015	0	1	1	1	0	S	S
11017	0	1	1	1	0	S	S
11019	0	1	1	1	0	S	S
11021b	1	0	0	0	1	N	N
11021s	1	0	0	0	1	N	N
11023	1	0	0	0	1	N	N
11025	1	0	0	0	1	N	N
11027	1	0	0	0	1	N	N
11029	0	1	1	1	0	S	S
11031	0	1	1	1	0	S	S
11033	0	1	1	1	0	S	S
11035	0	1	1	1	0	S	S
11037	0	1	1	1	0	S	S
11038	1	0	0	0	1	N	N
11039	0	1	0	1	1	S	G
11040	1	0	0	0	1	N	N

Çizelge 4.2.1. Soğan hatları No., soğan kloroplast DNA'ları primerlerden ikili olarak GAF01 ile GAF02 ve mitokondri DNA'ları GAF03 ile GAF04, üçlü olarak GAF05, GAF06 ve GAF07 ile çoğaltıldığında beklenen DNA boyları ve markırlar ile belirlenen kloroplast ve mitokondri tipleri (Devamı)

Hat Numarası	GAF01-02 ^a		GAF03-04 ^b	GAF05-06-07 ^c		Sitoplazma Tipi ^d	
	1 100 N	1 000 S	473 S/T	414 S	180 S/N	Kloroplast	Mitokondri
B1750A	0	1	1	1	0	S	S
B1750B	1	0	0	0	1	N	N
11041k	0	1	0	1	1	S	G
11042	0	1	1	1	0	S	S
11043	0	1	0	1	1	S	G
11044	1	1	0	0	1	N	N
11045	1	0	0	0	1	N	N
11047	0	1	1	1	0	S	S
11049	0	1	1	1	0	S	S
11051	0	1	1	1	0	S	S
11053	0	1	1	1	0	S	S
11055	0	1	1	1	0	S	S
11057	0	1	1	1	0	S	S
11059	0	1	1	1	0	S	S
11061	0	1	1	1	0	S	S
11063	1	0	1	0	1	N	T
11065	0	1	1	1	0	S	S
11067	1	0	0	0	1	N	N
11069	0	1	1	1	0	S	S
11071	0	1	1	1	0	S	S
11073	0	1	1	1	0	S	S
11075	1	0	0	0	1	N	N
11077	0	1	1	1	0	S	S
11079	0	1	1	1	0	S	S

Çizelge 4.2.1. Soğan hatları No., soğan kloroplast DNA'ları primerlerden ikili olarak GAF01 ile GAF02 ve mitokondri DNA'ları GAF03 ile GAF04, üçlü olarak GAF05, GAF06 ve GAF07 ile çoğaltıldığında beklenen DNA boyları ve markırlar ile belirlenen kloroplast ve mitokondri tipleri (Devamı)

Hat Numarası	GAF01-02 ^a		GAF03-04 ^b	GAF05-06-07 ^c		Sitoplazma Tipi ^d	
	1 100 N	1 000 S	473 S/T	414 S	180 S/N	Kloroplast	Mitokondri
B1750A	0	1	1	1	0	S	S
B1750B	1	0	0	0	1	N	N
11081	0	1	1	1	0	S	S
11083	0	1	1	1	0	S	S
11085	0	1	1	1	0	S	S
11087	0	1	1	1	0	S	S
11085-87k	0	1	1	1	0	S	S
11089	0	1	1	1	0	S	S
11091	0	1	1	1	0	S	S
13135	0	1	1	1	0	S	S
11137s	0	1	1	1	0	S	S
11137f	0	1	1	1	0	S	S
11139s	0	1	1	1	0	S	S
11139f	0	1	1	1	0	S	S
11141s	0	1	1	1	0	S	S
11141f	0	1	1	1	0	S	S
11143s	0	1	1	1	0	S	S
11143f	0	1	1	1	0	S	S
Bereket	0	1	1	1	0	S	S
Burgaz	0	1	1	1	0	S	S
Hazar	0	1	1	1	0	S	S
Karbeyazı	0	1	1	1	0	S	S
Metan 88	1	0	0	0	1	N	N
MT 101	0	1	1	1	0	S	S

Çizelge 4.2.1. Soğan hatları No., soğan kloroplast DNA'ları primerlerden ikili olarak GAF01 ile GAF02 ve mitokondri DNA'ları GAF03 ile GAF04, üçlü olarak GAF05, GAF06 ve GAF07 ile çoğaltıldığında beklenen DNA boyları ve markırlar ile belirlenen kloroplast ve mitokondri tipleri (Devamı)

Hat Numarası	GAF01-02 ^a		GAF03-04 ^b	GAF05-06-07 ^c		Sitoplazma Tipi ^d	
	1 100 N	1 000 S	473 S/T	414 S	180 S/N	Kloroplast	Mitokondri
B1750A	0	1	1	1	0	S	S
B1750B	1	0	0	0	1	N	N
Seç	0	1	1	1	0	S	S
Seyhan	1	0	1	0	1	N	T
Viktorya	0	1	1	1	0	S	S
Beyaz Bilek	1	0	0	0	1	N	N

^aGAF01 ve GAF02 primer kombinasyonu ile çoğaltılan DNA'lardan 1 100 bç'lik bant kloroplastın N; 1 000 bç'lik bant ise kloroplastın S tipinde olduğunu göstermektedir. Kloroplastın S olması durumunda mtDNA tipi S ya da G olabilir; N olması durumunda mtDNA tipi N veya T olabilir.

^bGAF03 ve GAF04 primer kombinasyonu ile çoğaltılan 473 bç'lik bant mitokondrinin S ya da T olduğunu; bant yok ise mitokondrinin N tipinde veya *galanthum* (G) olduğunu göstermektedir.

^cGAF05, GAF06 ve GAF07 primer kombinasyonu ile çoğaltılan DNA'lardan 414 bç'lik bant mitokondrinin S ya da *galanthum* (G) olduğunu; 180 bç'lik yoğun bant ise mitokondrinin N ya da *galanthum* (G) tipinde olduğunu göstermektedir. Kloroplastın N olması durumunda ise mitokondri N veya T olabilir.

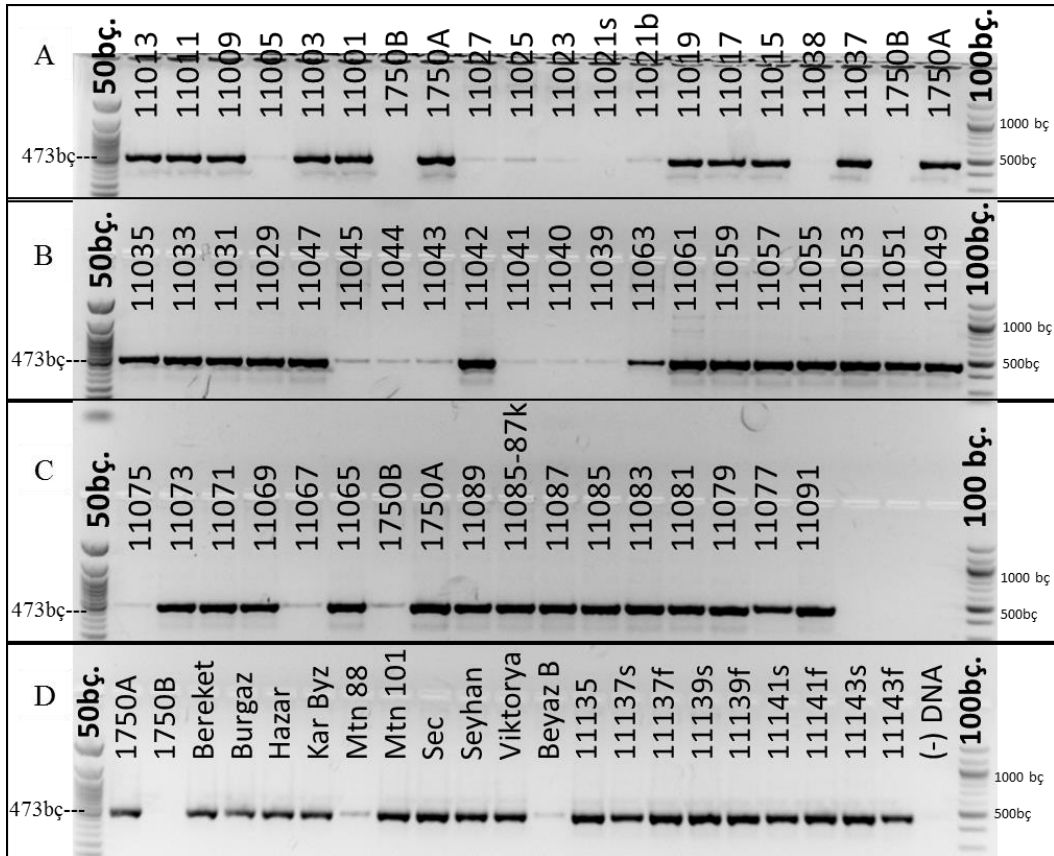
^dSitoplazmalar aşağıda verilen Çizelge 4.5.1'e göre çapraz kontrol yapılarak kloroplast genomu yönünden S ya da N; mitokondri yönünden S, N ya da T; daha önceden *Allium galanthum*'a geriye melezleme ile elde edilen *galanthum* sitoplazma erkek kısır olanlarda G olarak belirtilmiştir.

4.3. Çıkarılan DNA'ların GAF03 ve GAF04 Primerleri ile Mitokondri Genom Tipini Belirleme

Soğan mitokondri (mtDNA) genomları çoğaltılma işleminde GAF03 ve GAF04 primerleri kullanılarak PCR da 94°C'de 4 dakika ön ısıtma, 35 döngü için 94°C'de 1 dakika, 60°C'de 1 dakika, 72°C'de 2 dakika ve en son 72°C'de 5 dakika dizi tamamlama şeklinde uygulandığında beklenen 473 bç boyunda DNA bandı görülmüştür (Şekil 4.3.1). Şekil 4.3.1'de çoğaltılan örneklerin jel yüklemde ilk üç tarak (A, B, C) 22 gözlü, son tarak (D) ise 24 gözlü olarak kullanılmıştır. Her dört tarak için ilk gözlere (sol) 50 bç, son gözlere (sağ) ise 100 bç aralıklarla artan DNA ölçü markırı yüklenmiştir. Son gözlere konan 100 bç DNA ölçü markırınının 1 000, 500 bç olanlar şekilde gösterilmiştir. Üçüncü tarakta 19, 20 ve 21'inci gözler boş bırakılmıştır. Dördüncü tarakta ise sondan ikinci göz (D en alt sağdan) negatif kontrol olarak kullanılmış PCR işleminde karışıma DNA konmamıştır. Dolayısı ile her hangi bir bant üretilmemiş sadece DNA olmadığı için kullanılmayan primerler gözlemlenmiştir, boyu 50 bç bant hizasında olduğundan şeklin gösterilen kısmının dışında kalmıştır (Şekil 4.3.1). Şeklin sol tarafında ise primerler ile çoğaltındığında S- veya T-sitoplazma için beklenen 473 bç bant ok işareti ile gösterilmiştir. Yukarıdan ilk tarak (A) 9'uncu sırada bulunan 1750A S-sitoplazma tipi kontrolüdür ve 473 bç DNA bandı görülmektedir. Yine aynı tarak 8'inci sırada bulunan 1750B, N sitoplazma tipi kontrolünde bant görülmemiştir. Aynı şekilde sırası ile birinci tarak (A) ikinci gözden sağa doğru 11013, 11011, 11009 nolu hatlarda 473 bç bant görülmektedir ve sayısal skorlamada bunlara bir (1) verilmiştir. Beşinci gözde bulunan 11005 nolu genotipte bant çoğalmamıştır ve buna da sıfır (0) skoru verilmiştir. Ayrıca ikinci tarakta (B) bulunan 11039, 11041 ve 11043 nolu hatlar *galanthum* tipi sitoplazmaya sahiptir (Gökçe 2012) ve bunlarda da çok zayıf olarak 473 bç'lik bant görülmüştür (Şekil 4.3.1 B). Skorlama bant olanlara bir (1) olmayanlara ise sıfır (0) verilerek yapılmıştır ve Çizelge 4.2.1'de verilmiştir.

Soğan bitkisinin mtDNA'sında bulunan farklılıklardan dolayı T- veya S-sitoplazmaya sahip genotiplerde GAF03 ile GAF04 primerleri birlikte kullanıldığında 473 bç boyunda DNA parçası oluşması beklenirken; N-sitoplazmaya sahip olan genotiplerde ise hiçbir DNA parçası çoğalmamaktadır (Engelke ve ark 2003). S-sitoplazma tipi için kontrol 1750A'da olduğu gibi diğer S- sitoplazmaya sahip olan bireylerde de 473 bç'lik

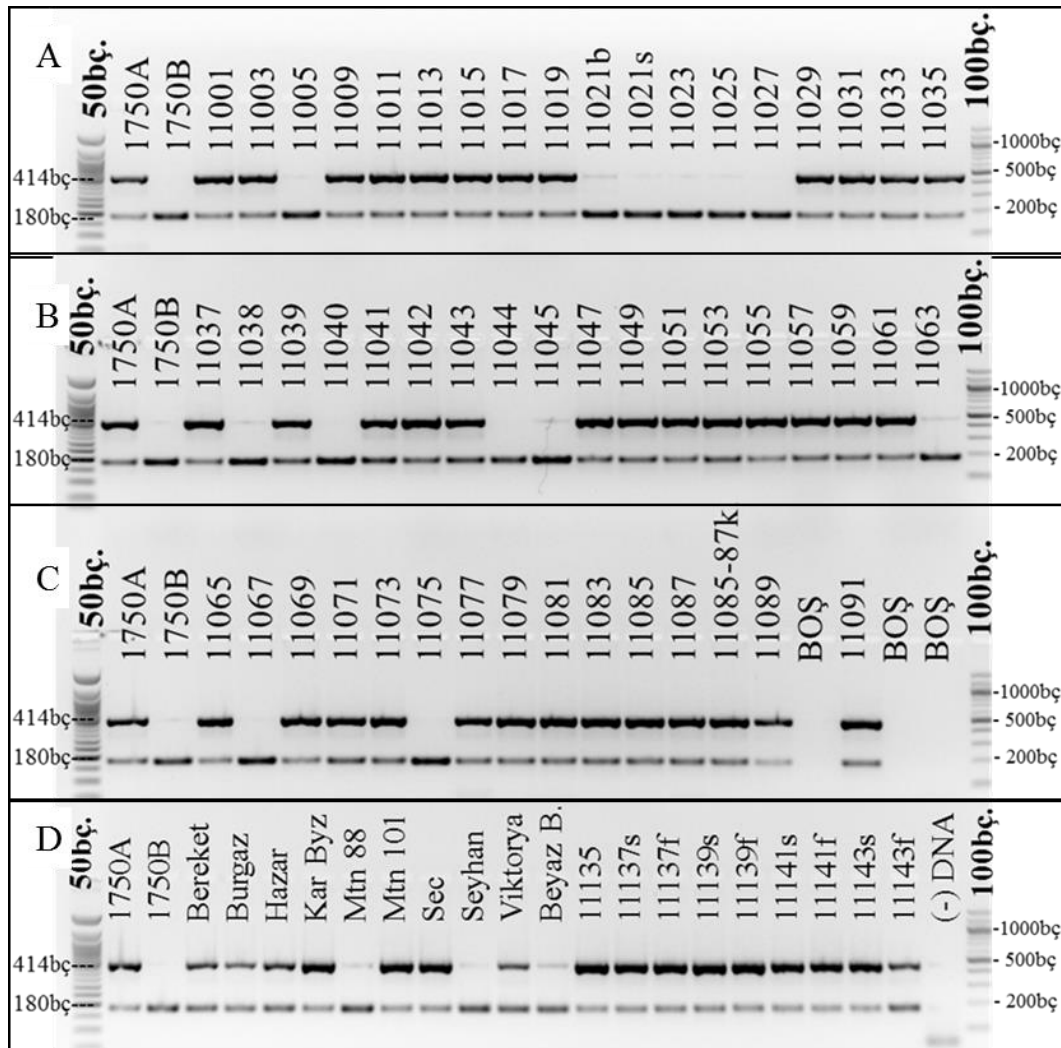
DNA bandı gözlenmektedir ancak aynı bant T-sitoplazmaya sahip olan bireylerde de görülmektedir. Nitekim Şekil 4.3.1 dördüncü tarakta (D) soldan on birinci sırada bulunan Seyhan çeşidi T sitoplazmaya sahip olduğu diğer markırlar ile birlikte değerlendirilince belirlenebilmiştir (Çizelge 4.2.1). N-sitoplazma tipi için 1750B’de ise 473 bç’lik DNA bandı zayıf olarak gözükmemektedir. Diğer zayıf bandı taşıyan hatların ise N-sitoplazma olabileceği görülmektedir. Ayrıca 11039, 11041 ve 11043 nolu hatlar *galanthum* tipi sitoplazmaya sahip oldukları bilinmektedir (Gökçe 2012) ve bunlarda da çok zayıf olarak 473 bç'lik bant görülmüştür (Şekil 4.3.1). GAF03 ve GAF04 primerleri ile bakılan mtDNA’ya göre ıslah hatlarından 47 tanesi S-/T-, 13 tanesi N-/G-tipi; ticari çeşitlerden 9 tanesi S-/T-, 1 tanesi de N-/G-sitoplazmaya sahip olduğu belirlenmiştir. GAF03 ve GAF04 tek başına tüm sitoplazma tipini belirlemede yeterli olmadığından yukarıdaki ihtimaller diğer markırların sonucu ile birlikte değerlendirildiğinde anlam kazanmış ve sitoplazma tipleri kesinleşmiştir (Çizelge 4.2.1).



Şekil 4.3.1 GAF03 ve GAF04 primerleri soğan ile 4-10 ng DNA kullanılarak elde edilen PCR ürününün agaroz jel görüntüsü. 473 bç bant mitokondrinin S ya da T tipinde, 473 bç bant olmaması da N ya da *galanthum* sitoplazma olduğunu göstermektedir

4.4. Çıkarılan DNA'ların GAF05, GAF06 ve GAF07 Primerleri ile Mitokondri Genom Tipini Belirleme

Soğan mitokondri (mtDNA) genomları çoğaltılma işlemi GAF05, GAF06 ve GAF07 primerleri kullanılarak PCR da 94°C'de 4 dakika ön ısıtma, 35 döngü için 94°C'de 1 dakika, 53°C'de 1 dakika, 72°C'de 2 dakika ve en son 72°C'de 5 dakika dizi tamamlama şeklinde uygulandığında beklenen 414 ve 180 bç boyunda DNA bandı görülmüştür (Şekil 4.4.1).



Şekil 4.4.1. GAF05, GAF06 ve GAF07 primerleri ile çoğaltılan PCR ürününün agaroz jel görüntüsü. A, B, C ve D'de kontrol 1750A'daki 414 bç bant S ya da *galanthum* (G) sitoplazmayı, 1750B'deki 180 bç koyu bant ise N ya da T sitoplazmayı, dördüncü (D) tarak sağdan ikini göz ise negatif kontrolü ve o gözün altındaki bant primerleri göstermektedir

Soğan sitoplazmasında bulunan mitokondri genomundaki farklılıktan kaynaklanan S-ya da G-sitoplazma 414 bç boyunda çoğalan DNA parçası ile gözükürken, N-, T-, ya da G-sitoplazma ise 180 bç boyunda çoğalan koyu DNA parçası ile görülmektedir. Şekil 4.4.1'de ilk tarak (A) ikinci sırada bulunan S-sitoplazmik kontrol olarak kullanılan 1750A örneğinde 414 bandı varken aynı tarağın üçüncü gözünde N-sitoplazma kontrolü için kullanılan 1750B'de 414 bç bandı yoktur. S-sitoplazmik kontrol 1750A'da olmaması gereken 180 bç bant görülmüştür. Zayıf olarak görülen bu bant daha önce S-sitoplazmik bitkilerde görüldüğü rapor edilmiştir (Engelke ve ark. 2003). 414 bç bandı olan genotiplerde 180 bç'lik DNA bandı olmayanlara göre daha zayıf bulunmuştur. Bu durum yoğunluk farkı ile ayırt edilmiştir. N-sitoplazmaya sahip kontrol olarak kullanılan 1750B'de görülen 180 bç'lik DNA bandının 414 bç bandı olan genotiplerdeki 180 bç banda göre yoğunluk farkı ayırt edilebilmektedir. S-sitoplazmik genotipteki bireylerin N-sitoplazmaya ait 180 bç'lik DNA bandının zayıf olarak görülmesi Engelke ve ark. (2003) tarafından da rapor edilmiştir. Ayrıca 11039, 11041 ve 11043 nolu hatların *galanthum* tipi sitoplazmaya sahip oldukları bilinmektedir ve bunlarda da 414 bç'lik bant ile birlikte N sitoplazma tipinde olduğu gibi 180 bç'lik bant yoğun olarak gözükmektedir (Şekil 4.4.1 B). Şekil 4.4.1 incelendiğinde 414 bç DNA bandı var (1) veya yok (0) şeklinde kolayca gruplanabilmiştir. Aynı şeklin 180 bç bandı ise yoğun olanlara bir (1) açık olanlara ise sıfır (0) verilerek genotipleme yapılmıştır. Skorlar sayısal olarak Çizelge 4.2.1'de verilmiştir. GAF05, GAF06 ve GAF07 primerleri ile bakılan mtDNA'ya göre 414 bç bant ile ıslah hatlarından 47 tanesi S-/G-, 13 tanesi N-/T-tipi; 180 bç bant ile ise 16 tanesi G-N-/T-tipi, 44 tanesi S-tipi; 414 bç band ile ticari çeşitlerden 7 tanesi S-/G-, 3 tanesi de N-/T-sitoplazmaya sahip olduğu belirlenmiştir.

4.5. Soğan Genotiplerinin Sitoplazmik Olarak Sitotipinin Belirlenmesi

Kullanılan üç markır kombinasyonunun ürettiği beş farklı bandın her biri tek başına sitotipleri belirlemeye yeterli olmamıştır (Havey 1995b, Sato 1998, Engelke ve ark. 2003). Kullanılan markırların sonucuna birlikte bakılarak (Çizelge 4.5.1) soğan hatları ve çeşitlerinin sitoplazma tipleri belirlenmiş ve Çizelge 4.2.1'in en sağ sütununda verilmiştir. Çizelge 4.5.1'e bakıldığında üç markırın ürettiği beş farklı DNA bandına sırası ile bakılacak olursa, GAF01 ve GAF02'nin ürettiği 1 100 ve 1 000 bç, GAF03 ve GAF04'ün birlikte ürettiği 473 bç, son olarak GAF05, GAF06 ve GAF07'nin birlikte ürettiği 414 ve 180 bç DNA bantlarının var olması durumunda (1), yok (0), yok (0), yok (0) ve var (1) olduğunda yani toplu olarak 10001 şeklinde ise, DNA'sına bakılan örneğin N-sitoplazmik olduğu anlaşılmıştır. Aynı skorlama yöntemi ile 01110 olduğunda S-, 10101 olduğunda T- ve 01011 olduğunda G-sitoplazmik oldukları belirlenmiştir.

Çizelge 4.5.1 Moleküler markırlar için kullanılan PCR primer çiftleri, bu çiftler ile çoğaltılan DNA baz çifti (bç) olarak bant boyları, bakılan bant var (1), yok (0) veya zayıf bant (0/1) anahtarına göre sitoplazma tiplerini göstermektedir

GAF01 ve GAF 02		GAF03 ve GAF04	GAF05, GAF06 ve GAF 07		Sitoplazma Tipleri
1 100 bç	1 000 bç	473 bç	414 bç	180 bç	
1	0	0	0	1	N
0	1	1	1	0/1	S
1	0	1	0	1	T
0	1	0/1	1	1	G

Bakılan soğan hatları ve ticari çeşitlerin cpDNA bakımından büyük çoğunluğu S-sitoplazma tipinde çıkmıştır (Çizelge 4.5.2). Bakılan 60 saflaştırılmış hattın 47 tanesi (%78) cpDNA bakımından S-sitoplazma çıkarken 13 tanesi (%22) N-sitoplazma tipine sahip olduğu belirlenmiştir. Ticari soğan çeşitlerinden ise %70'i S-sitoplazma, %30'u N-sitoplazma tipi kloroplasta sahip olduğu belirlenmiştir. Soğanlarda mtDNA bakımından da çoğunluk kısır sitoplazma yönünde olmuştur çünkü kloroplastı steril olan soğanların mitokondrisinde kısır olması gereklidir. Bugüne kadar aksi rapor edilmemiştir. Kloroplast bakımından S-tipi bulunan 47 hattın 44 tanesi S-tipi

mitokondriye sahip bulunurken 3 tanesi G-tipi mitokondriye sahip bulunmuştur. N-tipi kloroplasta sahip 13 hattın 12 tanesinin N-mitokondrili olduğu bulunurken 1 tanesinin ise T-mitokondriye sahip olduğu bulunmuştur. Ticari çeşitlerden kloroplastı S-tipi olan 7 çeşidinde mitokondrisi S-tipi çıkmıştır ve hiçbirinin G-tipine sahip olmadığı görülmüştür. G-sitoplazma olması zaten beklenemezdi çünkü G-sitoplazmik erkek kısır soğanın ilk piyasaya çıkması 1999 yılında olmuştur (Havey 1999) ve henüz yoğun bir kullanımı rapor edilmemiştir. Genel olarak değerlendirme durumunda toplam 70 genotipin cpDNA yönünden 54 tanesi (%77) S-, 16 tanesi (%33) N-; mt DNA yönünden 51 tanesi (%73) S-, 14 tanesi (%20) N-, 3 tanesi (%4) G- ve 2 tanesi de (%3) T-sitoplazmik yapıda oldukları tespit edilmişlerdir (Çizelge 4.5.2).

Çizelge 4.5.2. Soğan ıslah hatları ve ticari çeşitlerin kloroplast ve mitokondri tipleri ile sayıları

Soğan Genotipleri	Kloroplast		Mitokondri	
	Tipi	Bitki Sayısı	Tipi	Bitki Sayısı
Islah Hatları	S	47	S	44
	N	13	G	3
Ticari Çeşitler	S	7	N	12
	N	3	T	1
	S	7	S	7
	N	3	G	0
	Toplam G	0	N	2
	Toplam N	16	T	1
	Toplam T	0		
	Toplam S	54		
	Genel Toplam	70		70

Daha önceki çalışmalarda G-sitoplazma hakkında bilgi rapor edilmemiş ilk kez burada rapor edilmiştir. Diğer tiplerden S-, N- ve T-sitoplazma hakkında ise farklı kaynaklara göre sonuçlar rapor edilmiştir. Havey (1995b), Gökçe (2001), Gökçe ve Havey (2002, 2006) bildirdiklerine göre cpDNA için S- ve N-sitotipinde bireyler bir popülasyonda rastlanmıştır. Bu çalışmada ise karışık sitoplazma tipinde bireyleri olan soğan genotipine rastlanmamıştır. Havey (1995b), Gökçe (2001), Gökçe ve Havey (2002,

2006) tarafından yapılan çalışmada kullanılan soğan genotiplerinden üçü hariç diğerlerinin tamamı ABD soğan gen bankasında uzun yıllardır her hangi bir seleksiyon çalışması yapılmadan genetik kaynak olarak muhafaza edilen soğan koleksiyonundan temin edilmişlerdir (Gökçe 2013). Dolayısı ile bu soğan genotipleri üzerinde herhangi bir ıslah çalışması yapılmadığından orjinal genetik özelliklerini korumuş olabilirler. Diğer taraftan bu tez çalışmasında kullanılan 10 ticari çeşit kısa süre önce (en fazla yirmi yıl) ıslah edilen çeşitlerin muhafaza edilerek tohum ile çoğaltılması sonucu günümüze ulaşmış soğan çeşitleridir. Islah sürecinde tek sel seleksiyon yapılmış olması durumunda sitoplazma tipinin de karışık olması beklenemez. Nitekim bu tez çalışmasında kullanılan Hazar çeşidi Texas Early Grano 951 soğan çeşidinden seleksiyon yolu ile on beş yıl önce geliştirilip tescil edilen bir çeşittir ki, Texas Early Grano 951 çeşidi de Texas A&M Üniversitesinde Dr. Leonard Pike tarafından Texas Early Grano 502 hibrit soğan çeşidinden bir tek S-sitoplazma tipinde soğanın ana olarak, Ben Shemen çeşidinden bir soğanında baba olarak kullanılarak elde edilen melez soğanın kendilenmesi sonucu elde edilen bir çeşittir (Gökçe 2013). Bu çalışmada da Hazar çeşidinin S-tipi sitoplazmaya sahip olduğu bulunmuştur. Diğer ticari çeşitlerden Bereket, Seç ve Victorya'nın ise ülkemize dışardan gelen soğan çeşitlerinden seleksiyon yolu ile elde edildiği bilinmektedir ve büyük ihtimalle dışardan gelen soğan çeşidi S-sitoplazma tipi taşıyan hibrit çeşitler olduğu düşünülmektedir (Gökçe 2013). Bu çeşitlerinde sitoplazması sadece S-tipi çıkmıştır. Bunlar gibi diğer ticari çeşitler kısa zaman önce ıslah yolu ile elde edildikleri için seleksiyon aşamasında bir tek bitkiden çoğaltılmış olma ihtimalleri çok yüksektir. Kullanılan 60 ıslah hattını geliştiren Gökçe (2013) bu hatların kendileme ya da melezleme sonucu elde edildiğini ve hepsinin kaynağının bir birinden farklı bir ya da iki bitki olduğunu söylemektedir. Bundan dolayı ıslah hatlarının da her birinin sadece bir tip sitoplazma içermesi çok yüksek ihtimalle beklenmektedir.

5. SONUÇ

Bir soğan popülasyonundan hibrit çeşit geliştirebilmek için erkek kısır ana, idameci ve hibrit tohum üretiminde tozlayıcı olarak kullanılacak baba hatların aynı popülasyondan geliştirilmesi en kolay olanıdır. Bunun olabilmesi içinde hibrit geliştirilecek olan popülasyonda hem N-sitoplazmik, hem de S-sitoplazmik bireylerin olması gerekir. Aksi durumda tüm bireyler S-sitoplazmik olan bir popülasyondan hibrit geliştirmek için erkek kısır ana ve tozlayıcı baba bu popülasyondan geliştirilebilir ancak idameci hat geliştirebilmek için N-sitoplazmik bir kaynaktan alınan bir bireye geriye melezleme ile çekirdek genom transferi gerekmektedir. Bireylerinin tamamı N-sitoplazmik olan popülasyonlarda ise idameci ve tozlayıcı geliştirilebilirken; erkek kısırılık için S-sitoplazmaya sahip bir kaynaktan yararlanmak gerekir.

Çalışmada kullanılan ticari çeşitlerden Bereket, Burgaz, Hazar, Karbeyazı, MT 101, Seç ve Viktorya çeşitlerinin sitoplazması S-tipi, Seyhan çeşidi T-tipi çıktığından bunlardan hibrit üretebilmek için N-sitoplazma tipinin geriye melezleme ile bu çeşitlere kazandırılması; Beyaz Bilek ve Metan 88 ise N-sitoplazmik çıktıklarından erkek kısırılık için geriye melezleme ile S-sitoplazma gereklidir. Bunlara alternatif olarak sitoplazmik erkek kısırılık gösteren *galantum* tipi sitoplazmaya sahip olan bireyler özellikli idameciye gerek duymadan herhangi bir erkek fertil soğan ile tozlanması durumunda tohum ile çoğaltılabilmekte ve tohumdan oluşan soğanlar yine erkek kısır olmaktadır. Dolayısı ile bu çalışmada kullanılan erkek fertil çeşitlerin tamamına erkek kısırılık kaynağı olarak G-sitoplazmik erkek kısırılık sistemide kullanılabilir. Bu durumda 11039, 11041 ve 11043 nolu ıslah hatlarından herhangi birinden alınan erkek kısır soğanlar istenen bir çeşit yada ıslah hattı ile tozlanarak tohum üretimi sağlanıp, üretilen tohumdan elde edilen soğan çiçekleri tekrar aynı hattın çiçek tozu ile tozlanması ile üç beş nesil sonra kullanılan tozlayıcı hat yada çeşit için erkek kısır aday hat geliştirilebilir.

Islah hatları için ise aynı durum geçerli olmakla birlikte bunlardan 11037 sitoplazmik-genik (*S-msms*) erkek kısır ve 11038'de sitoplazmik-genik idameci (*N-msms*) olarak 11037 nolu hattın idamecisi olarak kullanılmaktadır. Yine ıslah hatlarından 11039 sitoplazmik erkek kısır (G) ve bu hattın tohumla devamlılığını sağlamada kullanılan

11040 ise 11038 nolu idameciden seçilme N-*msms* genotipli hattır. Diğer erkek kısırlardan 11041 sitoplazmik erkek kısırlık sistemi gösteren G-tipi sitoplazmaya sahip olan soğanın S-tipi sitoplazmaya sahip kırmızı renkli 11001 nolu hattan seçilerek geliştirilen 11042 nolu hatta geriye melezleme yolu ile elde edildiğinden erkek kısırlık kaynağı olarak kullanılabilir. Kantartopu soğanından seçilen 11044 nolu N-tipi sitoplazmaya sahip hat yine G-tipi sitoplazmaya sahip soğanı tozlayıcı olarak kullanarak geliştirilen 11043 sitoplazmik erkek kısır olan genotip de erkek kısırlık kaynağı olarak kullanılabilir.

Dört farklı erkek kısır (11037, 11039, 11041 ve 11043) ile bunların dışında kalan ve renk açılımı yönünden durulmuş 56 erkek fertil genotip ile melezlenmesi sonucu 224 farklı hibrit soğan geliştirmek mümkündür. Geliştirilen bu olası hibrit çeşitlerin Türkiye'nin değişik iklim bölgelerinde verim denemesine tabi tutularak en uygun hibrit kombinasyonları geliştirmek mümkün olmaktadır.

Islah hatlarından renk açılımı devam eden 11017s, 11019b, 11021b 11021s, 11023, 11047s, 11053, 11057s, 11059b ve 11085-87k nolu hatlar için öncelikle renkler yönünden durultulma çalışmaları gerekmektedir. Bu hatlardan kendileme yolu ile elde edilen bireysel bitki tohumları ayrı ayrı ekilerek başlarda renk gözlemi yapılabilir ve açılım göstermeyenler seçilerek renk yönünden durulmuş hatlar geliştirilebilir.

Bu çalışmada soğanlarda sadece sitoplazma tipleri değerlendirilmiştir. Moleküler markır yardımı ile erkek kısır ve idameci hatların seçimini yapabilmek için çekirdek DNA'sında bulunan *Ms* bölgesi allelleri için de çalışmalar yapmak gerekmektedir (Gökçe ve ark. 2002, Bang ve ark 2011, 2013). Bu markırların bağlantı durumu tespit edildikten sonra herhangi bir soğan bitkisinin erkek kısırlık ve idameci genotipi moleküler markırlar yardımı ile klasik test melezlemesine gerek kalmadan kolay ve kesin bir şekilde tespit edilebilir.

KAYNAKLAR

- Anonim, 2007a.** <http://www.faostat.fao.org> (Erişim: Ocak 2013).
- Anonim, 2007b.** <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim: Ocak 2013).
- Anonim, 2008a.** <http://www.faostat.fao.org> (Erişim: Ocak 2013).
- Anonim, 2008b.** <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim: Ocak 2013).
- Anonim, 2009a.** <http://www.faostat.fao.org> (Erişim: Ocak 2013).
- Anonim, 2009b.** <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim: Ocak 2013).
- Anonim, 2010a.** <http://www.faostat.fao.org> (Erişim: Ocak 2013).
- Anonim, 2010b.** <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim: Ocak 2013).
- Anonim, 2011a.** <http://www.faostat.fao.org> (Erişim: Ocak 2013).
- Anonim, 2011b.** <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim: Ocak 2013).
- Anonim, 2013a.** <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=13661> (Erişim: Ocak 2013).
- Anonim, 2013b.** National Nutrient Database for Standard Reference Release 25 Software v.1.2.2 <http://ndb.nal.usda.gov> (Erişim tarihi:2013).
- Augusti, K.T., 2000.** The role of garlic and onions in health management. Proceeding of the third international symposium on edible alliaceae, 30 October to 3 November, 2000, Athens, Georgia, USA.
- Banga, O., Petiet, J. 1958.** Breeding male sterile lines of dutch onion varieties as a preliminary to the breeding of hybrid varieties. *Euphytica*, 7:21-30.
- Bang, H., Cho, D.Y., Yoo, K.S., Yoon, M.K., Patil, B.S., Kim, S., 2011.** Development of simple PCR-based markers linked to the Ms locus: a restorer-of-fertility gene in onion (*Allium cepa* L.). *Euphytica* 179, 437–449.
- Bang, H., Kim, S., Park, S.O., Yoo, K.S., Patil, B.S. 2013.** Development of a codominant CAPS marker linked to the Ms locus controlling fertility restoration in onion (*Allium cepa* L.) *Scientia Horticulturae* 153:42–49.
- Baytop, T., Mathew, B. 1984.** The Bulbous Plants of Turkey. BT Batsford Ltd., London 1-132.
- Berninger, E. 1965.** Contribution a l'étude de la sterilité-male de l'oignon (*Allium cepa* L.) (Contribution to the study of male sterility in the onion). *Ann. Amélior Plantes*, 15:183-199.
- Block, E. 2010.** Garlic and Other Alliums: The Lore and the Science. The Royal Society of Chemistry, 474s.

- Brewster, J.L. 1994.** Onions and Other Vegetable Allies. CAB International, Wallingford, UK. pp 212.
- Brewster, J.L. 2008.** Onions and Other Vegetable Alliums. CABI, Cambridge, USA, 448 s.
- Courcel, A.G.L., Vedel, F., Boussac, J.M. 1989.** DNA polymorphism in *Allium cepa* cytoplasms and its implications concerning the origin of onions. *Theor. Appl. Genet.*, 77:793-798.
- Cronquist, A. 1968.** The Subclasses, Orders, and Families of Monocotyledons. The Evolution and Classification of Flowering Plants. Thomas Nelson Ltd., London and Edinburgh. pp 315-374.
- Cronquist, A., Holmgren, A.H., Holmgren, N.H., Reveal, J.L., Holmgren, P.K. 1977.** Family LILIACEAE, the Lily Family. Vascular Plants of the Intermountain West, USA. Intermountain Flora, Colombia University Press, New York. 6:476-510.
- Davis, E. 1957.** The distribution of the male-sterility gene in onion. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 70:316-318.
- Davis, E. 1958.** Male-sterility in onion plants from Turkey. *J. of Heredity*, 49(1):31-32.
- Engelke, T., Terefe, D., Tatlioglu, T. 2003.** A PCR-based marker system monitoring CMS-(S), CMS-(T) and (N)-cytoplasm in the onion (*Allium cepa* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 107:162-167.
- Engindeniz, S. 2007.** İzmir’de Pırasa Üretiminin Ekonomik Analizi Üzerine Bir Araştırma. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 44 (1): 149-162.
- Etoh, T. 1986.** Fertility of the garlic clones collected in Soviet Central Asia. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 55(2):312-319.
- Gökçe, A.F., 2001.** Molecular tagging of male fertility restoration locus and its selection in onion (*Allium cepa* L.). *Ph.D. thesis*, University of Wisconsin-Madison 1575 Linden Drive 53705 Madison, WI, USA.
- Gökçe, A.F. 2002.** Soğanlarda (*Allium cepa* L.) erkek kısırlık (Ms) lokusuna link markır geliştirme ve DNA sekans analizi. IV Sebze Tarımı Sempozyumu, 17-20 Eylül 2002, Bursa.
- Gökçe, A.F. 2010.** Yemeklik Soğan (*Allium cepa* L.) Yetiştiriciliği. *Bursa’da Gıda ve Tarım*, 16:42-46.
- Gökçe, A.F. 2011.** Bahçe Tarımı II: Soğan (*Allium cepa* L.) yetiştiriciliği, Editörler: Şeniz, V., Erdoğan, B., Anadolu Üniversitesi Yayınları Eylül 2011, Eskişehir, s.167-170.
- Gökçe, A.F. 2012.** Türkiye’de ilk kez geliştirilen hibrit soğan çeşitleri. *Agromedya*, sf. 80-81.

Gökçe, A.F. 2013. Sözlü görüşme. Niğde Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Tarımsal Genetik Mühendisliği Bölümü, Niğde, (Görüşme tarihi: 16.07.2013), e-posta: gokce01@yahoo.com.

Gökçe, A.F., Aras, V. 2002. Moleküler markır (RFLP) ile soğanlarda (*Allium cepa* L.) sitoplazmaların belirlenmesi. IV Sebze Tarımı Sempozyumu, 17-20 Eylül 2002, Bursa.

Gökçe, A.F., Havey, M.J. 1998. Molecular-Facilitated Selection of Maintainer Lines in Onion. Proceedings of the National Onion (and other *Allium*) Research Conference, 1998, Sacramento, California, USA.

Gökçe, A.F., Havey, M.J. 2000. The Efficiency of DNA Markers to Identify Cytoplasms and Nuclear Genotypes for the Development of CMS-Maintainer Lines. The 3rd International Symposium on Edible *Alliaceae*, October 29-November 3, 2000, Athens, Georgia, USA.

Gökçe, A.F., Havey, M.J. 2002. Linkage Equilibrium among tightly linked RFLPs and the *Ms* locus in Open-Pollinated Onion Populations. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 127:944-946.

Gökçe, A.F., Havey, M.J. 2006. Selection at the *Ms* Locus in Open Pollinated Onion Populations Possessing S-Cytoplasm or Mixtures of N- and S-Cytoplasms. *Gen. Res. Crop. Evol.*, 53:1495-1499.

Gökçe, A.F., Kaderlioğlu, E., Başar Kemikler, N. 2012a. Türkiyedeki Yerli Soğanlarda (*Allium cepa* L.) İlk Erkek Kısır Ana, İdameci Baba Hat Islahı ve Hibrit Tohum Üretimi. 9. Sebze Tarımı Sempozyumu, 12-14 Eylül 2012, Konya.

Gökçe, A.F., Kaderlioğlu, E., Başar Kemikler, N. 2012b. Hibrit Soğan (*Allium cepa* L.) Islahında Kendileme veya Melezleme İçin Tozlayıcı Böcek Olarak Karasinek Üretimi, Kullanımı ve Bombus ile Balarısına Karşı Üstünlüğü. 9. Sebze Tarımı Sempozyumu, 12-14 Eylül 2012, Konya.

Gökçe, A.F., Kaya, C., Serçe, S., Özgen, M. 2010. Effect of scale color on the antioxidant capacities of onions. *Scientia Horticulturae*, 123(4):431-435.

Gökçe, A.F., McCallum, J., Sato, Y., Havey, M.J. 2002. Molecular tagging of the *Ms* locus in onion. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 127:576-582.

Gökçe, A.F., Özokutanoğlu, E., Kemikler, N., Odabaş, İ. 2012c. Türkiyede Yerli Soğan (*Allium cepa* L.) Islahı ve İlk Hibrit Çeşit Geliştirme. Bursa X. Tarım Fuarı (Kongresi), 26-27 Ekim 2012, Bursa.

Gökçe, A.F., Başar, N., Candar, A., Kaderlioğlu, E., Akbudak, N. 2011a. Yerli Soğanlarda (*Allium cepa* L.) Tekrarlamalı Seleksiyonla Saf Hatlar Geliştirme Ve Hibrit Tohum Üretimi. IV Tohumculuk Kongresi, 14-17 Haziran 2011, 19 Mayıs Üniversitesi, Samsun.

Gökçe, A.F., Başar, N., Candar, A., Kaderlioğlu, E., Akbudak, N. 2011b. Soğanlarda (*Allium cepa* L.) Hibrit Çeşit Islahı. VI Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 4-8 Ekim 2011, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa.

- Gökçe, A.F., Basar, N., Candar, A., Kaderlioglu, E., Akbudak, N. 2012d.** Onion Breeding Program in Turkey. The 6th International Symposium on Edible *Alliaceae*, 21-24 May 2012, Acros Fukuoka, Japan.
- Gökçe, A.F., Kaderlioğlu, E., Başar, N., Candar, A., Akbudak, N. 2011c.** Soğanlarda (*Allium cepa* L.) Moleküler Markır kullanarak safhatlar ve yerel soğan populasyonlarında sitoplazmaların belirlenmesi. VI Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 4-8 Ekim 2011, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa.
- Galmarini C.R., Goldman, I.L., Havey, M.J., 2001.** Genetic analyses of correlated solids, flavor, and health-enhancing traits in onion (*Allium cepa* L.). *Mol. Genet. Genomics* 265:543-551.
- Griffiths, G., Trueman L., Crowther T., Thomas B., Smith B. 2002.** Onions a global benefit to health. *Phytotherapy Research*, 16(7):603-15.
- Günay, A., 1992.** Özel Sebze Yetiştiriciliği. A. U. Zir. Fak. Bah. Bit. Böl. 2(2):1-28.
- Hanelt, P. 1990.** Taxonomy, evolution, and history. Onion and Allied Crops, Rabinowitch, H., Brewster, J.L. CRC Press, Boca Raton, Florida. 1:1-26.
- Havey, M.J. 1993.** A putative donor of S-cytoplasm and its distribution among open-pollinated populations of onion. *Theor. Appl. Genet.*, 86:128-134.
- Havey, M.J. 1995a.** Onion and other cultivated alliums *Allium* spp. (Liliaceae). In: Smartt J, Simmonds NW (eds) Evolution of Crop Plants. Longman Scientific and Technical. 2nd ed pp 344-350.
- Havey, M.J. 1995b.** Identification of cytoplasm using the polymerase chain reaction to aid in the extraction of maintainer lines from open-pollinated populations of onion. *Theor. Appl. Genet.*, 90:263-268.
- Havey, M.J. 1997.** On the origin and distribution of normal cytoplasm of onion. *Gen. Res. Crop. Evol.*, 44:307-313.
- Havey, M.J. 1999.** Seed yield, floral morphology, and lack of male-fertility restoration of male-sterile onion (*Allium cepa*) populations possessing the cytoplasm of *Allium galanthum*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 124:626-629.
- Havey, M.J., Galmarini, C., Gökçe, A.F., Goldman, I.L. 2001.** Qtl Mapping and Genetic Bases of Correlated Production, Flavor, and Health-Enhancing Attributes of Onion. International Plant & Animal Genomes IX Conference, January 13-17, 2001. San Diego, CA, USA.
- Havey, M.J., Galmarini, C., Gökçe, A.F., Henson, C. 2004a.** QTL affecting soluble carbohydrate concentration in stored onion bulbs and their association with flavor and health-enhancing attributes. *Genome*, 47:463-468.
- Havey, M.J., Galmarini, C.R., Gökçe, A.F., Henson, C. 2004b.** Candidate genes affecting soluble carbohydrate concentrations and health-enhancing attributes of onion. International Plant & Animal Genomes XII Conference, January 10-14, 2004, San Diego, CA.

- Havey, M.J., King, J.J., Bradeen, J.M., Bark, O., Sato, Y., Gökçe, A.F. 2000.** A Low-Density Genetic Map of Onion (*Allium cepa* L.) and Its Use for Marker-Facilitated Selection of Maintainer Lines. *Acta. Hort. ISHS* 555:87-89.
- Heusden van A.W., Ooijen van, J.W., Vrieling van, G.R., Verbeek, W.H.J., Wietsma WA, Kik C. 2000a.** A genetic map of an interspecific cross in *Allium* based on amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Theor. Appl. Genet.*, 100, 118-126.
- Heusden van, A.W., Shigyo, M., Tashiro, Y., Vrieling van, G.R., Kik, C. 2000b.** AFLP linkage group assignment to the chromosomes of *Allium cepa* L. via monosomic addition lines. *Theor. Appl. Genet.*, 100:480-486.
- Holford, P., Croft, J., Newbury, N. 1991.** Differences between, and possible origins of, the cytoplasm found in fertile and male-sterile onions (*Allium cepa* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 82:737-744.
- Inden, H., Asahira, T. 1990.** Japanese bunching onion (*Allium fistulosum* L.). Onions and allied crops, vol II. Ed.: Rabinowitch, H.D., Brewster, J.L. CRC, Boca Raton, pp 159–178.
- Jones, H.A., Clarke, A. 1943.** Inheritance of male sterility in the onion and the production of hybrid seed. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 43:189-194.
- Jones, H.A., Davis, G.N. 1944.** Inbreeding and heterosis and their relation to the development of new varieties of onions. *USDA Technical Bulletin*, 874 pp 1-28.
- Jones, H.A., Emsweller, S.L. 1936.** A male sterile onion. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 34:582-585.
- Jones, H.A., Mann, L.K. 1963.** Classification and Identification: Onions and Their Allies, Editörler: Hill, L. Interscience Publishers, Inc. New York pp 24-46.
- Jones, H.A., Perry, B.A., Edmundson, W.C. 1949.** Vegetative propagation of short-day varieties of onions as an aid in a breeding program. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 53:367-370.
- Kamenetsky, R., H.D., Rabinowitch. 2010.** The Genus *Allium*: A Developmental and Horticultural Analysis: Horticultural Reviews Volume 32, Ed: Jules Janick, Purdue University, USA, pp.329 – 378.
- Karağaç, O., Balkaya, A. 2009.** Sebzeerde Erkek Kısırlığı Mekanizmasından Yararlanılarak F1 Hibrit Tohum Üretimi. *Anadolu Tarım Bilim. Derg.*, 24(2):114-123.
- Kendler, B.S. 1987.** Garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*): a review of their relationship to cardiovascular disease. *Preventive medicine*, 16(5):670-85.
- Khazanehdari K.A., Jones G.H. 1997.** The causes and consequences of meiotic irregularity in the leek (*Allium ampeloprasum* spp. *porrum*); implications for fertility, quality and uniformity. *Euphytica*, 93: 313–319.

- King, J.J., Bradeen, J.M., Bark, O., Havey, M.J. 1998.** A low-density genetic map of onion reveals the role of duplication in the evolution of an extremely large diploid genome. *Theor. Appl. Genet.*, 96:52-62.
- Kohli, B., Kaul, V. 2011.** Anthesis and Anther Dehiscence in *Allium roylei* Stearn. *The International Journal of Plant Reproductive Biology*, 3(2) pp. 170.
- Kolmann, F., Ozhatay, N., Koyuncu, M. 1983.** New *Allium* Taxa From Turkey. Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh 41(2):245-267.
- Lilly, J.W., Havey, M.J. 2001.** Sequence analysis of a chloroplast intergenic spacer for phylogenetic estimates in *Allium* section *cepa* and a PCR-based polymorphism detecting mixtures of male-fertile and male-sterile cytoplasmic onion. *Theor. Appl. Genet.*, 102:78-82.
- Little, T., Jones, H.A., Clarke, A. 1944.** The distribution of the male-sterility gene in varieties of onion. *Hebertia*, 11:310-312.
- McCollum, G.D. 1966.** Heritability and genetic correlation of some onion bulb traits. *J. of Heredity* 57:105-110.
- McCollum, G.D. 1968.** Heritability and genetic correlation of soluble solids, bulb size and shape in white sweet Spanish onion. *Can. J. Genet. Cytol.* 10:508-514.
- McCollum, G.D. 1976.** Onion and allies *Allium* (*Liliaceae*): Evolution of Crop Plants. Ed: Simmonds, N.W., Longman, London, pp, 186-190.
- Meer van der, Q.P., Hanelt, P. 1990.** Leek (*Allium ampeloprasum*). In: Rabinowitch HD, Brewster JL (eds) Onions and Allied Crops. CRC Press, Boca Raton, Florida, 3:179-196.
- Meer van der, Q.P., Bennekom van, J.L. 1968.** Research on pollen distribution in onion seed fields. *Euphytica*, 17:216-219.
- Meer van der, Q.P., Bennekom van, J.L. 1969.** Effect of temperature on the occurrence of male sterility in onion (*Allium cepa* L.). *Euphytica*, 18:389-394.
- Meer van der, Q.P., Bennekom van, J.L. 1972.** Influence of the environment on the percentage of self-fertilisation in onions and some consequences for breeding. *Euphytica*, 21:450-453.
- Moue, T., Uehara, T. 1985.** Inheritance of cytoplasmic male sterility in *Allium fistulosum* L. (Welsh onion). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 53: 432-437.
- Mutlu, H. 2006.** Soğan Deposunda Kullanılan Bir Havalandırma Sisteminin Projelendirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, TÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Makinaları Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Nabi, G., Rab, A., Sajid, M., Abbas, F.S.J, Ali I. 2013.** Influence of curing methods and storage conditions on the post-harvest quality of onion bulbs. *Pak. J. Bot.*, 45(2): 455-460.

- Nizamhoğlu, N.M., Nas S., 2010.** Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(1):20-35.
- Nishimura, Y., Shibano, M. 1972.** Male sterility in *Allium fistulosum* L. Cytological and anatomical studies. Abstr. *Japan. Soc. Hort. Sci.*, Spring Meet, 180–181.
- Pike, L., Yoo, K., 1990.** A tissue culture technique for the clonal propagation of onion using immature flower buds. *Scientia Horticulturae*, 45:31-36.
- Pike, L.M. 1986.** Onion Breeding: Breeding Vegetable Crops, Ed: Bassett, M.J. AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, pp 357-394.
- Platt, E.S. 2003.** Garlic, onion & other alliums. Stackpole books, Mechanicsburg, ABD, s.6.
- Pooler, M.R., Simon, P.W. 1994.** True seed production in garlic. *Sex. Plant. Reprod.*, 7(5): 282-286.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. 1989.** Molecular Cloning: A Laboratory Manual Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. pp. 2000.
- Sato, Y. 1998.** PCR amplification of CMS-specific mitochondrial nucleotide sequences to identify cytoplasmic genotypes of onion (*Allium cepa* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 96:367-370.
- Satoh, Y., Nagai, M., Mikami, T., Kinoshita, T. 1993.** The use of mitochondrial DNA polymorphism in the classification of individual plants by cytoplasmic genotypes. *Theor. Appl. Genet.*, 86:345-348.
- Schweisguth, B. 1973.** Etude d'un nouveau type de sterilité male chez l'oignon, *Allium cepa* L. (A new type of male-sterility in onion, *A. cepa* L.). *Ann. Amelior Plantes*, 23(3):221-233.
- Stearn, W.T., 1944.** Notes on the genus *Allium* in the Old World: Its distribution, names, literature, classification and garden-worthy species. *Herbertia*, 11:11-34.
- Şalk, A., Arın, L., Deveci, M., Polat, S. 2008.** Özel Sebzeçilik. Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Tekirdağ, 488 s.
- Tathoğlu, T. 1985.** Influence of temperature on the expression of cytoplasmic male sterility in chives (*Allium schoenoprasum* L.). *Z.Pflanzenzücht.* 94, 156-161.
- Tathoğlu, T. 1986.** Influence of tetracycline on the expression of cytoplasmic male sterility (cms) in chives (*Allium schoenoprasum* L.). *Plant Breeding*, 97, 46-55.
- Traub, H.P. 1968a.** Orientation of vascular bundles in *Allium* leaves. *Plant Life*, 24:143-146.
- Traub, H.P. 1968b.** The subgenera, sections and subsections of *Allium* L. *Plant Life*, 24:147-163.

Vavilov, N.I. 1951. The Origin, Variation, Immunity, and Breeding of Cultivated Plants, (Ruşçadan İngilizceye çeviren: Chester, K.S.). Chronica Botanica Co. in Waltham, Mass ve Ronald Press, New York. 1-366.

Ved Brat, S. 1965. Chromosome variation. I. Genetic system in *Allium*. *Chromosoma* 16:486-499.

Vural, H., Eşiyok D., Duman, İ. 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, İzmir, 440 s.

Vvedensky, A.I. 1944. The genus *Allium* in the USSR. *Herbertia*, 11:65-218.

Yabuki, Y., Mukaida, Y., Saito, Y., Oshima, K., Takahashi, T., Muroi, E., Hashimoto, K., Uda, Y, 2010. Characterisation of volatile sulphur-containing compounds generated in crushed leaves of Chinese chive (*Allium tuberosum* Rottler). *Food Chemistry*, 120:343–348.

Yamashita K., Takatori Y., Tashiro Y. 2005. Chromosomal location of a pollen fertility-restoring gene, Rf, for CMS in Japanese bunching onion (*Allium fistulosum* L.) possessing the cytoplasm of *A. Galanthum* Kar. et Kir. revealed by genomic in situ hybridization. *Theor. Appl. Genet.*, 111: 15-22.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Elif ÖZOKUTANOĞLU
Doğum Yeri ve Tarihi : Bursa - 21.08.1986
Yabancı dili : İngilizce
Eğitim durumu :
Lise : Bursa Kız Lisesi - 2004
Lisans : Trakya Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Bahçe Bitkileri Bölümü, Tekirdağ - 2009
: Anadolu Üniversitesi, Açıköğretim Fakültesi, Dış Ticaret
Bölümü, Eskişehir- 2010
Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Bursa - 2013
Çalıştığı Kurum ve Yıl : -
İletişim (e-posta) : elifkaderlioglu@gmail.com
Yayınları* :

Candar, A., Gökçe, A.F., Başar, N., Kaderlioğlu, E., Akbudak, N. 2011 Standart ve Hibrit Soğanlarda (*Allium cepa* L.) Tohum Verimini Etkileyen Faktörler. VI Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 4-8 Ekim 2011, Şanlıurfa. Sf 101-102.

Gökçe, A.F., Başar, N., Candar, A., Kaderlioğlu, E., Akbudak, N. 2011. Yerli Soğanlarda (*Allium cepa* L.) Tekrarlamalı Seleksiyonla Saf Hatlar Geliştirme ve Hibrit Tohum Üretimi. IV Tohumculuk Kongresi, 14-17 Haziran 2011, 19 Mayıs Üniversitesi, Samsun.

Gökçe, A.F., Başar, N., Candar, A., Kaderlioğlu, E., Akbudak, N. 2011. Soğanlarda (*Allium cepa* L.) Hibrit Çeşit Islahı. VI Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 4-8 Ekim 2011, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa.

Gökçe, A.F., Kaderlioğlu, E., Başar, N., Candar, A., Akbudak, N. 2011. Soğanlarda (*Allium cepa* L.) Moleküler Markır kullanarak safhatlar ve yerel soğan populasyonlarında sitoplazmaların belirlenmesi. VI Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 4-8 Ekim 2011, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa.

Gökçe, A.F., Basar, N., Candar, A., Kaderlioglu, E., Akbudak, N. 2012. Onion Breeding Program in Turkey. The 6th International Symposium on Edible *Alliaceae*, 21-24 May 2012, Acros Fukuoka, Japan.

Gökçe, A.F., Kaderlioğlu, E., Başar Kemikler, N. 2012. Türkiye'deki Yerli Soğanlarda (*Allium cepa* L.) İlk Erkek Kısır Ana, İdameci Baba Hat Islahı ve Hibrit Tohum Üretimi. 9. Sebze Tarımı Sempozyumu, 12-14 Eylül 2012, Konya.

Gökçe, A.F., Kaderlioğlu, E., Başar Kemikler, N. 2012. Hibrit Soğan (*Allium cepa* L.) Islahında Kendileme veya Melezleme İçin Tozlayıcı Böcek Olarak Karasinek Üretimi, Kullanımı ve Bombus ile Balarısına Karşı Üstünlüğü. 9. Sebze Tarımı

Gökçe, A.F., Özokutanoğlu, E., Kemikler, N., Odabaş, İ. 2012. Türkiye'de Yerli Soğan (*Allium cepa* L.) Islahı ve İlk Hibrit Çeşit Geliştirme. Bursa X. Tarım Fuarı (Kongresi), 26-27 Ekim 2012, Bursa.