

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**FARKLI PATLİCAN (*Solanum melongena* L.) GENOTİPLERİNİN
MİKROSPOR KÜLTÜRÜNE TEPKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Simge YILMAZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2025

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**FARKLI PATLİCAN (*Solanum melongena* L.) GENOTİPLERİNİN
MİKROSPOR KÜLTÜRÜNE TEPKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Simge YILMAZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2025

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI PATLİCAN (*Solanum melongena* L.) GENOTİPLERİNİN
MİKROSPOR KÜLTÜRÜNE TEPKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Simge YILMAZ
BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Bu tez TÜBİTAK 1001- Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme
Programı tarafından 121O610 nolu proje ile desteklenmiştir.**

TEMMUZ 2025

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI PATLİCAN (*Solanum melongena* L.) GENOTİPLERİNİN
MİKROSPOR KÜLTÜRÜNE TEPKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Simge YILMAZ
BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 16/07/2025 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet Naci ONUS (Danışman) [imza]

Prof. Dr. Halime ÜNLÜ [imza]

Doç. Dr. Tuğçe ÖZSAN KILIÇ [imza]

ÖZET

FARKLI PATLICAN (*Solanum melongena* L.) GENOTİPLERİNİN MİKROSPOR KÜLTÜRÜNE TEPKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Simge YILMAZ

Yüksek Lisans, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet Naci ONUS

Temmuz 2025; 39 sayfa

Mikrospor kültürü, androjenik haploid ve double haploid (DH) bitkilerin elde edilmesinde umut verici bir yöntemdir. Mikrospor kültürünün patlıcan ıslah programlarına entegrasyonu ile DH hatların elde edilmesi ıslah çalışmaları için çok önemlidir. Bu nedenle patlıcanda mikrospor kültüründe farklı genetik kaynakların double haploid verimliliğinin anlaşılması, ıslah çalışmalarında önemli avantajlar sunmaktadır. Bu araştırmada, mikrospor kültürünü etkileyen faktörlerden biri olan genotipin etkisini belirlemek amacıyla üç farklı patlıcan genotipinde mikrospor kültürü üzerine çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla, ilk olarak çoğunlukla vakuol mikrosporları ve genç çift çekirdekli polenleri içeren anterler belirlenmiştir. Bu anterlerden mikrosporlar izole edilmiş ve mikrospor embriyogenezi uyartmak amacıyla karanlık koşullarda 35°C 'de 3 gün süreyle ön işleme tabi tutulmuştur. Ön işlemden sonra, mikrosporlar %2 sakkaroz, 0.5 mg/l naftalinasetik asit (NAA) ve 0.5 mg/l 6-benzilaminopurin (BAP), pH 5.9 ayarlanmış ve sıvı NLN kültür ortamında kültüre alınmıştır. Bir ay boyunca 25° C'de karanlıkta tutulmuştur. Bu ortamlarda her üç genotipte de mikrosporlarda kallus haline gelmeden önce, simetrik bölünme ve çok çekirdekli yapıların oluşumu uyartılmış ve bir ay sonunda mikrosporlardan kallus oluşumu meydana gelmiştir. Bir ay sonunda petri başına düşen toplam kallus sayısı kaydedilmiş ve genotipler arasında mikrospor kültürüne yanıt açısından farklılıklar gözlemlenmiştir. P1 genotipinde petri kabı başına ortalama 77 kallus/petri, P2 için petri kabı başına 3.17 kallus/petri iken, P3 genotipinde ise 52.08 kallus/petri olarak kaydedilmiştir. Mikrospor kültürüyle elde edilen kallusların bitkiye dönüşüm oranı, P1 genotipinde %14, P3 genotipinde %7 olarak belirlenmiş; P2 genotipinde ise rejenerasyon gözlenmemiştir.

ANAHTAR KELİMELE: Double Haploid, Haploid bitki, Mikrospor embriyogenezi, Mikrospor kültürü, *Solanum melongena* L.

JÜRİ: Prof. Dr. Ahmet Naci ONUS

Prof. Dr. Halime ÜNLÜ

Doç. Dr. Tuğçe ÖZSAN KILIÇ

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE RESPONSE OF DIFFERENT EGGPLANT (*Solanum melongena* L.) GENOTYPES TO MICROSPOR CULTURE

Simge YILMAZ

MSc Thesis in Department of Horticultural Science

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet Naci ONUS

July 2025; 39 pages

Microspore culture is a promising method for obtaining androgenic haploid and double haploid (DH) plants. The integration of microspore culture into eggplant breeding programs is very important for obtaining DH lines. Therefore, understanding the double haploid efficiency of different genetic resources in microspore culture in eggplant offers significant advantages in breeding studies. In this study, research was conducted on microspore culture in three different eggplant genotypes to determine the effect of genotype, one of the factors affecting microspore culture. For this purpose, anthers containing mostly vacuolar microspores and young double-nucleated pollen were first identified. Microspores were isolated from these anthers and subjected to a 3-day pre-treatment at 35°C in the dark to induce microspore embryogenesis. After pretreatment, the microspores were cultured in liquid NLN culture medium containing 2% sucrose, 0.5 mg/l naphthaleneacetic acid (NAA), and 0.5 mg/l 6-benzylaminopurine (BAP), adjusted to pH 5.9. They were kept in the dark at 25°C for one month. In these conditions, symmetric division and the formation of multinucleated structures were induced in the microspores of all three genotypes before callus formation, and callus formation occurred from the microspores at the end of one month. The total number of calli per Petri dish was recorded at the end of one month, and differences in response to microspore culture were observed among the genotypes. The average number of calli per Petri dish was 77 calli/Petri dish for the P1 genotype, 3.17 calli/Petri dish for the P2 genotype, and 52.08 calli/Petri dish for the P3 genotype. The conversion rate of callus obtained from microspore culture to plant was determined to be 14% in the P1 genotype and 7% in the P3 genotype; no regeneration was observed in the P2 genotype.

KEYWORDS: Double haploid, Haploid plant, Microspore culture, Microspore embryogenesis, *Solanum melongena* L.

COMMITTEE: Prof. Dr. Ahmet Naci ONUS

Prof. Dr. Halime ÜNLÜ

Assoc. Prof. Dr. Tuğçe ÖZSAN KILIÇ

ÖNSÖZ

Bilimsel araştırmalar, yeni bilgi üretmenin yanı sıra mevcut bilgilerin geliştirilerek uygulamaya dönüştürölmesini sağlar. Bu tez çalışmasında, farklı patlıcan genotiplerinin mikrospor kültürüne verdikleri embriyogenik yanıtlar karşılaştırılarak genotip etkisi incelenmiştir. Mikrospor embriyogenez, genetik saflığın korunması ve ıslah sürecinin hızlandırılması açısından önem taşıırken, genotip bağımlılığı verimliliği doğrudan etkileyen temel bir faktördür. Bu bağlamda, elde edilen bulguların bitki biyoteknolojisi ve ıslah programları için yol gösterici olması hedeflenmiştir.

Tez çalışmam boyunca bana yol gösteren, bilimsel merakımı destekleyen ve her aşamada değerli katkılar sunan danışmanım Prof. Dr. Ahmet Naci ONUS 'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın her aşamasında bilgi, emeği ve desteğiyle yanımda olan, laboratuvar süreçlerini birlikte yürüttüğümüz değerli hocam Öğr. Gör. Dr. Buse ÖZDEMİR ÇELİK 'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Kendisiyle çalışmak benim için büyük bir şans oldu; bilgisi, titizliği ve paylaşımcı yaklaşımı bu süreci hem verimli hem de keyifli hale getirdi. Bilimsel yolculuğumda bana kattıkları için kendisine minnettarım.

Doku kültürü konusundaki bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak bu alanda gelişmeye öncülük eden, destekleriyle her zaman yanımda olan Uzm. Biyolog Z. Özgecan TANYOLAÇ YAZAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam süresince sağladığı maddi destek ile bu araştırmanın gerçekleşmesine olanak tanıyan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) ve araştırma materyalinin temininde destek olan Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne (BATEM) teşekkürü bir borç bilirim. Özellikle, bitkisel materyal teminindeki kıymetli katkılarından dolayı Doç. Dr. Hatice Filiz Boyacı ve Dr. Esra Cebeci'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince desteğini esirgemeyen kıymetli meslektaşlarım, Ziraat Mühendisi Durdu YETGİN, Ziraat Mühendisi Yasin ÖZDEMİR, Yüksek Ziraat Mühendisi Züleyha SÜMER, Ziraat Mühendisi Melike TEKİN ve Yüksek Ziraat Mühendisi Pelin SARIKAYA 'ya, her anıma tanıklık eden iyi ki tanıştık dediğim Şenay KOCATEPE 'ye ayrıca şükranlarımı sunarım. Her şeye rağmen birlikte çalışmanın ve öğrenmenin keyfini yaşadığım, yüksek lisans sürecimi anlamlı ve değerli kılan, bilgisi, çalışkanlığı ve enerjisiyle ilham veren meslektaşım Yüksek Ziraat Mühendisi Esra SULUHAN 'a özel bir teşekkürü borç bilirim.

Bu süreçte manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim, sabırları ve sevgileriyle bana güç veren, her anımda yanımda olup desteğini esirgemeyen kıymetli aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tezin, mikrospor kültürü, bitki biyoteknolojisi ve ıslah alanında çalışan araştırmacılar için faydalı bir kaynak olmasını temenni ederim. Çalışmanın ilerleyen süreçlerde daha geniş kapsamlı araştırmalarla desteklenerek geliştirilmesi ve farklı türlerde mikrospor kültürü çalışmalarına ışık tutması en büyük dileğimdir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
AKADEMİK BEYAN	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	8
2.1. Patlıcanda Mikrospor Embriyogenez Çalışmaları.....	8
2.1. Mikrospor Embriyogenez Üzerine Genotip Etkisi	10
3. MATERYAL VE METOT	14
3.1. Materyal.....	14
3.2. Metot	14
3.2.1. Sitolojik çalışmalar	15
3.2.1.1. Uygun mikrospor/polen gelişim aşamasının belirlenmesi.....	15
3.2.2. Mikrospor kültürü aşamaları.....	15
3.2.2.1. Sterilizasyon.....	15
3.2.2.3. Mikrospor yoğunluğunun belirlenmesi.....	17
3.2.2.4. Mikrosporlara uygulanan ön işlem	17
3.2.2.5. Mikrosporların kültüre alınması	18
3.2.2.6. Sitolojik gözlemler.....	19
3.2.2.7. Bitki rejenerasyonu	19
3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi.....	20
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	21
4.1. Uygun Mikrospor/Polen Gelişim Aşamasının Belirlenmesi	21
4.2. Mikrospor Kültürü.....	23
4.3. Mikrospor Kültüründe Genotip Etkisi.....	27
4.4. Bitki Rejenerasyon Oranı	30
5. SONUÇLAR	32
6. KAYNAKLAR	34
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Farklı Patlıcan (*Solanum melongena* L.) Genotiplerinin Mikrospor Kültürüne Tepkilerinin Belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

16/07/2025

Simge YILMAZ



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	: Santigrat derece
μM	: Mikromolar
mg/L	: Miligram/Litre
mM	: Milimolar
μl	: Mikrolitre
rpm	: Dakikadaki dönüş sayısı (Revolutions per minute)
g	: Gram
ml	: Mililitre
h	: Saat

Kısaltmalar

2,4-D	: 2,4-Diklorofenoksiasetik Asit
ABA	: Absisik Asit
AC	: Aktif Kömür
AGP	: Arabinogalaktan Proteinleri
BAP	: 6-Benzilaminopurin
CoCl ₂ ·6H ₂ O	: Kobalt(II) Klorür Hekzahidrat
CuSO ₄ ·5H ₂ O	: Bakır(II) Sülfat Pentahidrat
DAPI	: 4',6-Diamidino-2-fenilindol
DH	: Çift Haploid (Double Haploid)
ELS	: Embryo-Like Structures
F ₁	: Birinci Filial Jenerasyon (İlk Melez Kuşak)
FeNaEDTA	: Demir(III) Sodyum EDTA Kompleksi

H_3BO_3	: Borik Asit
IAA	: Indol-3-Asetik Asit
KH_2PO_4	: Potasyum Dihidrojen Fosfat
KNO_3	: Potasyum Nitrat
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	: Magnezyum Sülfat Heptahidrat
$MnSO_4 \cdot H_2O$	: Manganez(II) Sülfat Monohidrat
MS	: Murashige ve Skoog Besi Ortamı
MS-13	: Modifiye MS Ortamı (13. Varyant)
NAA	: Naftalen Asetik Asit
$Na_2MoO_4 \cdot H_2O$	: Sodyum Molibdat Monohidrat
NLN	: Modifiye NLN Ortamı (13. Varyant)
TDZ	: Thidiazuron
W14	: Chu'nun W14 Besi Ortamı
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	: Çinko Sülfat Heptahidrat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. 2023 yılında dünya genelinde en fazla patlıcan üreten ilk sekiz ülkenin üretim miktarları (Ton) (FAO 2024).....	2
Şekil 1.2. 2017–2024 Yılları arasında Türkiye’de örtü altı patlıcan üretim miktarları (TÜİK 2024).....	5
Şekil 3.1. Serada yetiştirilen patlıcan genotipleri a) P1 genotipi b) P2 genotipi c) P3 genotipi.....	14
Şekil 3.2. Besin ortamlarının ve büyüme düzenleyicilerinin 0.22 µm poroziteli filtre yardımıyla steril edilmesi.....	16
Şekil 3.3. Anterlerin %70'lik etil alkol içerisinde 30 saniye bekletilmesi	16
Şekil 4.1. Işık mikroskobu altında vakuol mikrosporların görüntüsü.....	21
Şekil 4.2. Işık mikroskobu altında genç çift çekirdekli polen görüntüsü.....	22
Şekil 4.3. Mikrosporların kültüre alınmasından sonra normal gametofitik gelişim gösteren (↗) ve gelişimlerini durduran mikrosporların (↘) inverted mikroskop altında görüntüleri	24
Şekil 4.4. Sporofitik yola yönelmiş mikrosporların simetrik bölünme geçirmiş formlarının invert mikroskop ile elde edilen görüntüsü.....	25
Şekil 4.5. Sporofit gelişim sürecine başlamış ve aktif bölünme aşamasında olan mikrosporların invert mikroskop altındaki görünümü	25
Şekil 4.6. Fluoresan mikroskopta gözlenen sporofitik gelişim evresindeki mikrosporların bölünme yapıları.....	26
Şekil 4.7. Sporofitik gelişim gösteren mikrosporlarda meydana çok çekirdekli yapıların fluoresan mikroskop altındaki görüntüsü.....	26
Şekil 4.8. Sporofitik yönelime sahip mikrospordan gelişen globular embriyoların morfolojik görüntüsü (fluoresan mikroskop)	27
Şekil 4.9. P1, P2 ve P3 patlıcan genotiplerinde genotipin toplam kallus sayısına etkisi	28
Şekil 4.10. Mikrospordan elde edilen P1 genotipine ait kallusların ışık mikroskobu altındaki görüntüsü.....	29
Şekil 4.11. Mikrosporların kültüre alınmasından bir ay sonra P1 genotipinde kallus oluşumu	29
Şekil 4.12. 1 mm ve üzeri büyüklükteki kallusların rejenerasyon ortamına transfer aşaması	30
Şekil 4.13. Rejenerasyon ortamında gelişen kallusların alt kültüre alınması ve kalluslardan sürgün gelişimi ve elde edilen bitkicikler.....	31

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünya Patlıcan Üretim İstatistikleri (2017-2023) (FAO 2024).....	3
Çizelge 1.2. 2016-2024 yılları arasında Türkiye’deki patlıcan üretimi, ithalatı, ihracatı ve kişi başına tüketimi (ton/kg) (TÜİK 2024)	4
Çizelge 3.1. NLN sıvı besisi ortamında yer alan makro elementlerin miktarları.....	18
Çizelge 3.2. NLN sıvı besisi ortamında yer alan mikro elementlerin miktarları.....	18
Çizelge 3.3. NLN ortamı içeriğinde bulunan vitaminlerin miktarları	19



1. GİRİŞ

Solanaceae familyası, dünya genelinde tarımsal ve ekonomik öneme sahip birçok türü içeren büyük bir bitki ailesidir. Bu familya, yaklaşık 90 cins ve 3000-4000 türden oluşmaktadır (Gebhardt 2016). *Solanaceae* familyasının en geniş cinsi olan *Solanum*, yaklaşık 1500 türe ev sahipliği yapmaktadır. *Solanum* cinsi, ekonomik öneme sahip birçok sebzeyi içermekte olup, domates (*Solanum lycopersicum*), patates (*Solanum tuberosum* L.) ve patlıcan (*Solanum melongena* L.) bu grup içerisinde yer almaktadır (Frodin 2004). Çoğu *Solanum* türünün temel kromozom sayısı $2n=24$ olup, genetik çeşitlilik açısından oldukça geniş bir varyasyon göstermektedir (Chiarini vd. 2010).

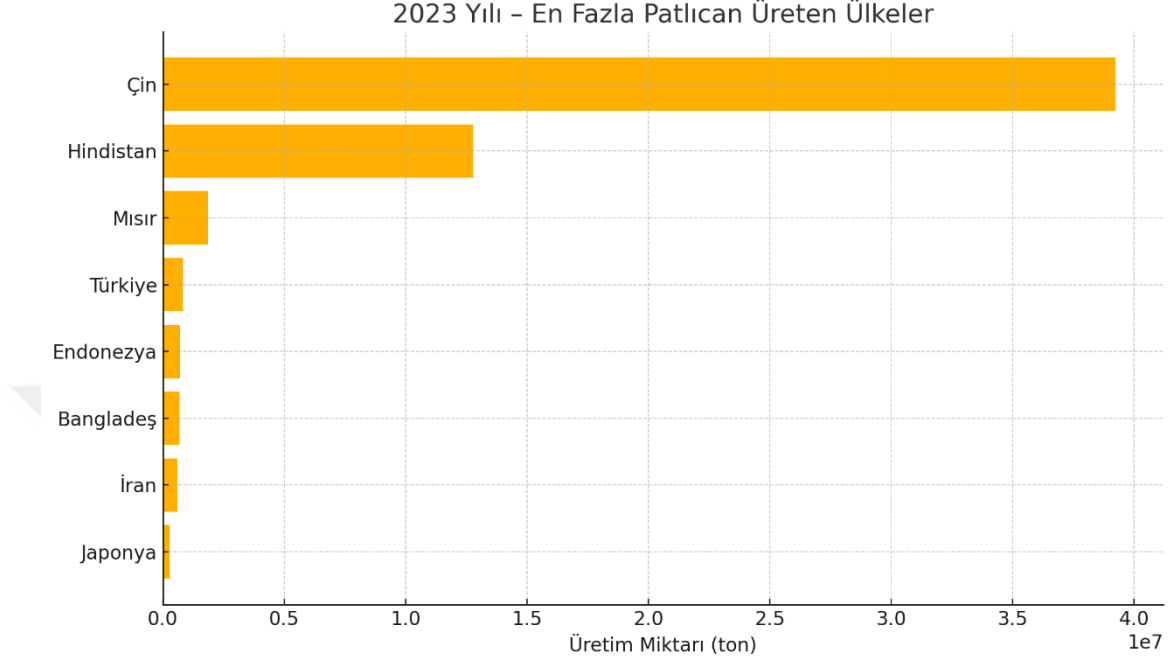
Patlıcan, tropikal ve ılıman iklimlerde yetiştirilebilen önemli sebzelerden biridir. Hindistan menşeli olduğu belirtilse de, bazı kaynaklar patlıcanın İndo-Burma kökenli olduğunu öne sürmektedir. İkinci gen merkezi olarak ise Çin olduğu düşünülmektedir (Kalloo 1993; Özdemir 2012). Kültüre alınma sürecinde patlıcanın, Arap tüccarlar aracılığıyla Akdeniz Havzası'na getirildiği ve buradan İspanya'ya yayıldığı ifade edilmektedir. Daha sonra, Türkler tarafından Balkanlar üzerinden Avrupa'ya taşındığı düşünülmektedir (Vural vd. 2020).

Patlıcan, farklı coğrafyalarda çeşitli isimlerle anılmaktadır. Kuzey Amerika'da "eggplant" olarak adlandırılmasının nedeni, geçmişte beyaz ve yumurta şeklinde meyvelere sahip çeşitlerin yaygın olmasıdır (Bhat ve Vasanthi 2008). Hindistan ve Asya'nın birçok bölgesinde "brinjal", Fransa'da "aubergine", Avustralya'da "eggfruit" olarak bilinirken, Türkiye ve Orta Doğu'da "patlıcan", İtalya ve bazı Avrupa ülkelerinde ise "melanzani" olarak adlandırılmaktadır (Kashyap vd. 2003).

Solanum melongena L., genellikle yıllık olarak yetiştirilen bir türdür ve farklı ekolojik koşullara uyum sağlayabilmektedir. Patlıcan bitkisi güçlü bir kök sistemine sahiptir ve gövde yapısı nedeniyle desteğe ihtiyaç duymadan büyüyebilir. İlk dallanma 4-5 boğumdan sonra meydana gelir ve yan dalların gelişimi devam eder. Çiçekler genellikle erseliktir ve 5 ila 8 adet anter içerir. Anterler, dişi organı çevreleyerek polen üretimini sağlar. Patlıcanda kendine döllenme oranı %60-80 arasında değişirken, erkek organın dişi organdan kısa olduğu durumlarda yabancı döllenme oranı %47'ye kadar artabilmektedir (Aybak 2005). Meyve şekli, uzun, ince, yuvarlak, basık veya silindirik olabilir. Uzunluk 4-45 cm, çap 2-35 cm, ağırlık ise 15-1500 g arasında değişebilir. Meyve rengi açık mor, koyu mor, siyah, beyaz, yeşil veya kırmızı tonlarında olabilir (Hedges ve Lister 2007; Sekara vd. 2007; Çakır ve Akman 2017).

Doğu ülkelerinde patlıcan çok eski bir üründür. Patlıcanın kökenleri Hindistan ve Çin'den gelmektedir ve 2.000 yıl öncesine kadar uzanır. Eski Sanskrit belgelerinde M.Ö. 300 yılında bahsedilmesi, Hint alt kıtasında uzun süredir var olduğunu göstermektedir. Hindistan'dan Çin'e ticaret yolları ve fetihler yoluyla patlıcan Orta Doğu ve Akdeniz bölgelerine yayılmıştır. 8. yüzyılda Arap tüccarlar patlıcanı Afrika'ya taşımıştır. Orta Çağ'da Mağribiler İspanya üzerinden Avrupa'ya getirmiştir. Bununla birlikte, 18. yüzyıla gelindiğinde, benzersiz lezzeti ve çeşitliliği nedeniyle Akdeniz mutfağının vazgeçilmezi haline gelmiştir. Yüzyıllar boyunca, patlıcan Asya, Afrika, Avrupa ve Yakın Doğu'da yetiştirilmiş ve günümüzde küresel öneme sahip bir üründür. Patlıcan, Amerika, Avrupa ve Avustralya 'da yaygın olarak tüketilmesine

rağmen, üretimin yüzde 90'ından fazlası sekiz ülkede yoğunlaşmıştır: Çin, Hindistan, Mısır, Türkiye, Endonezya, Bangladeş, İran ve Japonya. Brinjal veya patlıcan olarak da bilinen patlıcan (*Solanum melongena* L.) günümüzde dünya çapında önemli bir sebze türüdür (Kalloo 1988; Frary vd. 2007; Weese ve Bohs 2010; Lo Scalzo vd. 2016;).



Şekil 1.1. 2023 yılında dünya genelinde en fazla patlıcan üreten ilk sekiz ülkenin üretim miktarları (Ton) (FAO 2024)

2023 yılı itibarıyla dünya genelinde patlıcan üretiminde ilk sırayı Çin almış ve toplam 39.244.168 ton üretim gerçekleştirmiştir. Bu üretim miktarı, 2022 yılına göre yaklaşık %1,1, 2021 yılına göre ise %4,9 oranında artış göstermektedir (FAO 2024). Çin'i takip eden Hindistan, 2023 yılında 12.792.000 ton patlıcan üretmiştir. Bu değer, 2022 yılına kıyasla %0,2 artış, ancak 2021 yılına göre %0,7'lik hafif bir düşüş anlamına gelmektedir (FAO 2024). Üçüncü sıradaki Mısır, 2022 yılına göre %5,7'lik bir üretim düşüşü yaşamış (2023: 1.859.439 ton; 2022: 1.972.593 ton), buna karşılık 2021 yılına kıyasla %31,4'lük dikkate değer bir artış sağlamıştır (FAO 2024). Türkiye ise 2023 yılında 817.591 ton patlıcan üretimiyle dördüncü sırada yer almakta olup 2022'ye göre %4,6 oranında artış, 2021'e kıyasla ise %1,8 oranında azalma göstermiştir (FAO 2024). Diğer büyük üretici ülkeler olan Endonezya, Bangladeş ve İran'da da benzer şekilde sınırlı artış ve azalışlar izlenmiştir. Bu veriler, 2023 yılında küresel patlıcan üretiminin genel olarak artış trendinde olduğunu; ancak ülkeler bazında üretimde dalgalanmaların olduğunu ortaya koymaktadır (FAO 2024).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) verilerine göre, 2017–2023 yılları arasında dünya genelinde patlıcan üretim alanı ve üretim miktarı Çizelge 1.1'de verilmiştir. 2023 yılında Dünyadaki patlıcan üretimi yapılan toplam alan 1.922.783 hektar ve bu alanlarda patlıcan üretim miktarı 60.793.941 tondur. Dünyadaki patlıcan üretim

miktarındaki değişimler incelendiğinde 2017 yılı baz yılı olarak alındığında, 2023 yılındaki patlıcan üretim miktarı 2017 yılına göre %12,6 oranında artmıştır.

Çizelge 1.1. Dünya Patlıcan Üretim İstatistikleri (2017-2023) (FAO 2024)

Yıllar	Üretim Alanı (ha)	Üretim Miktarı (ton)	Verim (ton/ha)
2017	1.859.651	54.008.714	29.04
2018	1.863.491	52.998.463	28.44
2019	1.855.473	52.310.591	28.18
2020	1.861.846	55.877.447	30.01
2021	1.870.723	56.313.568	30.1
2022	1.881.939	57.108.229	30.35
2023	1.922.783	60.793.941	31.62

Çizelge 1.1'e göre, 2017–2023 yılları arasında dünya genelinde patlıcan üretimi artış göstermiştir. 2017 yılında 1.859.651 ha olan ekim alanı, 2023'te 1.922.783 ha'ya yükselmiştir. Bu durum, yaklaşık %3,4'lük bir alan artışını ifade etmektedir. Üretim miktarı ise aynı dönemde 54 milyon tondan 60,8 milyon tona çıkmıştır. Bu artış %12,6 oranında bir üretim artışına karşılık gelmektedir. Elde edilen bu değerler, sadece alan genişlemesine değil, verim artışına da işaret etmektedir. 2017 yılında verim 29,04 ton/ha iken 2023 yılında 31,62 ton/ha olmuştur. Bu da yaklaşık %8,9 oranında verimlilik artışı olduğunu göstermektedir. Verim değerleri özellikle 2020 yılından itibaren düzenli artış göstermiştir. Birim alandan alınan ürün miktarındaki bu artış, üretim teknolojilerindeki ilerleme ve yüksek verimli çeşitlerin kullanımı ile ilişkilidir. Sonuç olarak, patlıcan üretimindeki artış hem alan hem verim açısından önemlidir. (FAO 2024).

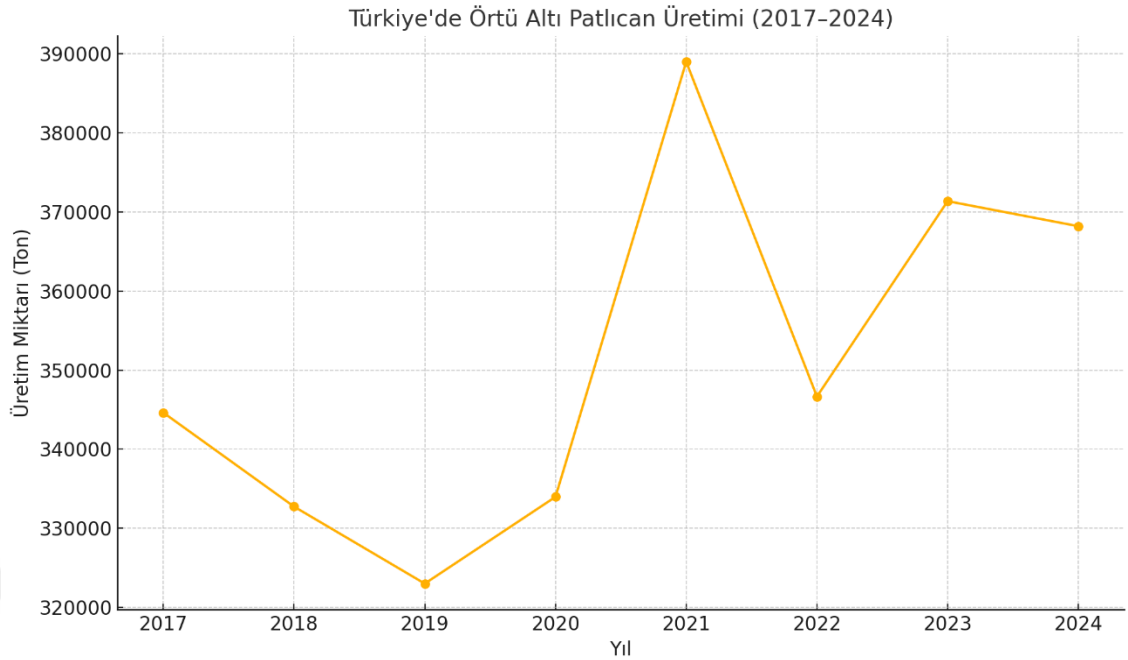
Türkiye'de ise patlıcan üretimi son dokuz yıllık süreçte dalgalı bir seyir izlemiştir. 2016 yılında 805.259 ton olan patlıcan üretim miktarı, 2018 yılında 883.917 tona kadar yükselmiş, bu dönem en yüksek üretimin gerçekleştiği yıl olmuştur. Ancak bu artışı takip eden yıllarda üretimde kademeli bir düşüş gözlemlenmiş, 2022/23 sezonunda üretim 781.242 tona kadar gerilemiştir. Son yıl olan 2023/24 döneminde ise üretim miktarı tekrar yükselerek 817.591 tona ulaşmıştır (TÜİK, 2024).

Çizelge 1.2. 2016-2024 yılları arasında Türkiye’deki patlıcan üretimi, ithalatı, ihracatı ve kişi başına tüketimi (ton/kg) (TÜİK 2024)

Yıllar	Üretim (Ton)	İthalat (Ton)	İhracat (Ton)	Kişi Başına Tüketim (kg)
2016	805.259	107	23.366	8,8
2017	854.049	1	22.983	9,2
2018	883.917	34	24.629	9,4
2019	836.284	341	20.556	8,8
2020	822.659	3	29.253	8,5
2021	835.422	22	34.658	8,5
2022	832.938	29	25.987	8,5
2023	781.242	51	33.527	7,8
2024	817.591	6	30.094	8,2

Kişi başına patlıcan tüketimi de yıllar içinde üretimle paralel olarak değişim göstermiştir. 2015/16 yılında 8,8 kg olan kişi başına tüketim, 2017/18 döneminde 9,4 kg ile zirve yapmıştır. Ancak bu tarihten sonra tüketimde azalma eğilimi görülmüş ve 2022/23 döneminde 7,8 kg’a kadar gerilemiştir. 2023/24 yılında ise kişi başına tüketimde yeniden artış eğilimi gözlenmiş ve 8,2 kg seviyesine yükselmiştir. Bu durum, tüketici talebindeki dönemsel değişimlerin yanında, üretim miktarı ve ihracat düzeylerindeki dalgalanmalardan da etkilenmiş olabilir (TÜİK 2024).

Genel olarak değerlendirildiğinde, Türkiye'nin patlıcan üretiminde iç pazara yönelik yeterlilik düzeyi yüksek seviyelerde seyretmektedir. Son dokuz yıllık dönemde yeterlilik oranı %102 ila %104,5 aralığında değişerek, patlıcan üretiminin iç tüketimi karşılamada oldukça yeterli olduğunu ortaya koymuştur (TÜİK 2024).



Şekil 1.2. 2017–2024 Yılları arasında Türkiye’de örtü altı patlıcan üretim miktarları (TÜİK 2024)

Şekil 1.2 ’de görüldüğü üzere, 2017–2024 yılları arasında Türkiye’de örtü altı patlıcan üretim miktarlarının yıllara göre dalgalanma gösterdiği gözlemlenmektedir. 2021 yılında örtü altı patlıcan üretimi 388.969 ton ile en yüksek seviyesine ulaşmışken, 2023’e kadar yaklaşık %4,5’lik bir düşüşle 371.352 ton olarak gerçekleşmiştir. 2024 yılında üretimdeki bu azalma ivmesi yavaşlayarak yalnızca %0,88 oranında gerçekleşmiş ve üretim miktarı 368.186 ton olarak kaydedilmiştir (TÜİK 2024).

Patlıcan, yüksek su içeriği ve düşük kalori değeri ile dengeli beslenme açısından önemli bir sebzedir. 100 gram patlıcan sadece 25 kalori içerir ve zengin bir mineral içeriğine sahiptir. Özellikle potasyum (229 mg), fosfor (24 mg) ve magnezyum (14 mg) gibi mineraller açısından değerli bir kaynaktır. Antioksidan özellikleri sayesinde bağışıklık sistemini destekler ve serbest radikallere karşı koruma sağlar (Alas vd. 2022). Yapılan çalışmalar, patlıcan özlerinin çeşitli hastalıkların tedavisinde farmakolojik açıdan etkili bileşenler içerdiğini göstermektedir (Im vd. 2016). Fenolik bileşikler açısından zengin olup, özellikle klorojenik asit, flavonoidler ve glikol-alkaloidler içerir (Plazas vd. 2013; Naemm ve Ugur 2019). Bazı bilimsel çalışmalar, patlıcan özlerinin kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğunu ve hücre ölüm mekanizmalarını tetikleyebileceğini bildirmektedir (Afshari vd. 2016; Tajik vd. 2017).

Patlıcan besleyici ve tıbbi özellikleriyle önemli kültür bitkilerinden biridir. Patlıcan üretiminin yoğun olarak yapıldığı ülkelerde yeni çeşitlerinin geliştirilmesine yönelik ıslah çalışmaları önemli bir yer tutmaktadır. Patlıcanda uzun yıllardan beri sürdürülen ıslah çalışmaları sonucunda hibrit çeşitler geliştirilmiş, yüksek verimleri ve kalite özellikleri nedeniyle önemli bir endüstri haline gelmiş ve üreticiler tarafından vazgeçilmez olmuştur (Sekara vd. 2007). Dünyada ve ülkemizde patlıcan ıslah programlarında yüksek verimli, farklı yetiştirme programlarına uygun, yüksek meyve

kalitesine ve raf ömrüne sahip, hastalıklara ve zararlılara karşı dirençli ve çevresel strese geniş adaptasyon sağlayan F1 hibritler çeşitlerin geliştirilmesi amacıyla yoğun araştırmalar sürdürülmektedir (Daunay ve Hazra 2012).

Dünya 'da olduğu gibi ülkemizde de açıkta ve serada yetiştiriciliği yaygın olarak yapılan patlıcan üretiminde yeni çeşitlerin geliştirilmesi için yoğun ıslah çalışmaları yürütülmektedir. Islah çalışmalarında homozigot saf hatları elde etmede daha çok seleksiyon ve melezlemeye dayalı klasik ıslah yöntemleri kullanılmakta bu da uzun zaman, maliyet ve iş gücü gerektirmektedir. Geleneksel ıslah yöntemleriyle hibrit çeşitlerin geliştirilmesinde karşılaşılan bu zorluklar yanında sürekli değişen pazar istekleri, yurtdışından tohum girişi ve üreticilerimizin çoğunlukla yabancı orijinli hibrit çeşitleri tercih etmesi ülkemiz tohumculuk sektörünün yurt dışına bağımlılığını hala devam ettirmektedir. Bu nedenle ülkemizde sebze üretiminde önemli bir paya sahip patlıcanda dışa bağımlılığı önleyecek daha kaliteli, hastalık ve zararlılara dayanıklı çeşitlerin geliştirilebilmesi için ıslah çalışmalarının süresini kısaltacak hızlı ve ucuz biyoteknolojik metotlara gereksinim duyulmaktadır. Saf hatların, zaman alıcı ve maliyetli, seleksiyon ve melezlemeye dayalı klasik metotlarla üretilmesine alternatif olarak kısa sürede homozigot hatların elde edilmesine olanak sağlayan haploid ve double haploid (DH) tekniği bitki ıslahında kullanılan biyoteknolojik yöntemlerin başında gelmektedir.

Haploid bitkiler, tek bir genom setine sahip olup, genetik homozigotluk sağlama süreçlerinde kritik bir rol oynarlar. Double haploid (DH) bitkiler ise haploid bitkilerin spontan olarak veya genom çoğaltma teknikleriyle kromozomlarının iki katına çıkarılmasıyla elde edilen tamamen homozigot bireylerdir (Segui'-Simarro ve Nuez 2008). Günümüzde çeşit geliştirme çalışmalarında kullanılan haploid bitki üretim teknikleri, bitki ıslahında önemli avantajlara sahiptir. Bu tekniğin en başta gelen avantajı, geleneksel ıslah yöntemlerine kıyasla homozigot hatların daha hızlı ve etkili bir şekilde elde edilmesine olanak tanımasıdır. Dünyada ekonomik olarak önemli tarım bitkilerinin ıslahında DH teknolojisi, sürecin hızlandırılmasına ve maliyetlerin düşürülmesine katkı sağlamaktadır (Dunwell 2010). Ayrıca DH teknolojisi, genetik haritalama, kantitatif özellik lokuslarının (QTL) belirlenmesi ve genetik analizler gibi çeşitli ıslah uygulamalarında kullanılmaktadır. Özellikle, genetik haritaların oluşturulması ve istenilen özelliklerin hızlı bir şekilde sabitlenmesi süreçlerinde DH bitkiler önemli bir araçtır (Lantos vd. 2022).

Mikrospor embriyogenezi yöntemleri bitki ıslahında kullanılan homozigot DH hatların elde edilmesinde kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir. Mikrospor embriyogenezi henüz olgunlaşmasını tamamlamamış ve içerisinde birinci polen mitozu aşamasına gelmiş mikrosporları bulunduran anterlerin *in vitro* koşullarda kültüre alınmasıyla anter kültürü veya bu mikrosporların anterlerden izole edilerek somatik dokular olmaksızın doğrudan sıvı bir ortamda *in vitro* koşullarda kültüre alınmasıyla mikrospor kültürü ile yapılmaktadır (Özdemir Çelik 2019; Rotino vd. 1996). Patlıcanda haploid bitki üretimiyle sonuçlanan anter ve mikrospor kültür teknikleri mevcuttur.

Anter kültürü, patlıcanda haploid bitki üretimi için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Bazı patlıcan genotiplerinde anter kültürü yoluyla olumlu sonuçlar elde edilmiştir ve anter kültürü yoluyla haploid veya DH bireylerin elde edildiği çalışmalar farklı araştırma grupları tarafından bildirilmiştir (Dumas de Vaultx ve Chambonnet

1982; Rotino vd. 1987; Rotino vd. 1996; Salas vd. 2011,2012; Başay ve Ellialtıoğlu 2013). Haploidi çalışmalarının başlangıç yıllarında ağırlıklı olarak anter kültürü kullanılmış olmakla birlikte devam eden yıllarda mikrospor kültürü tercih edilen yöntem haline gelmiştir. Mikrospor kültürü anter kültürüne göre daha karmaşık bir teknik olmasına rağmen birçok türde daha başarılı sonuçlar elde edilen gelişmiş ve etkin bir yöntem olarak öne çıkmaktadır (Ferrie ve Caswell 2011). Mikrospor kültürü; diploid yapıya sahip anter dokularının ortamdan uzaklaştırılması ile anter dokularından regenerasyon olasılığı tamamen ortadan kaldırılması, mikrosporların besin ortamıyla doğrudan temasının sağlanması, kültür koşullarında mikrosporların gelişim süreçlerini gözlemlenebilmesi, genetik çalışmalar, mutasyon araştırmaları ve stres dayanıklılık testleri gibi çeşitli biyoteknolojik uygulamalar için de daha uygun bir başlangıç materyali oluşturması bakımından avantajlar sağlamaktadır (Ellialtıoğlu vd. 2001; Omedilla 2010; Tuncer 2010; Rivas-Sendra vd. 2017).

Mikrospor kültürü yoluyla DH bitkilerin elde edilmesinde başarıyı etkileyen faktörler üzerine farklı araştırmacılar tarafından çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalara sonucunda, genotip, donör bitkilerin büyüme koşulları ve yaşı, mikrosporların gelişme dönemi, çiçek tomurcuklarının, anterlerin veya mikrosporların çeşitli ön uygulamalara tabi tutulması, mikrosporların izolasyon yöntemi, kültür ortamının besin kompozisyonu, kültür ortamında mikrospor yoğunluğu, kültür odası koşulları başarıyı etkileyen önemli faktörlerdendir (Rivas-Sendra vd. 2017). Bu faktörler arasında mikrospor kültürünün etkinliğini en çok etkileyen faktörlerden biri olan genotip etkisi, bu yöntemi ilk kez denendiği zamandan beri bilinmektedir (Nitsch 1972). Mikrospor kültürü verimliliği, türler arasında ve hatta aynı tür içindeki genotipler arasında bile büyük farklılıklar göstermektedir (Ferrie vd. 1995). Zayıf embriyojenik tepki, DH teknolojisinin ıslah programlarında ve hem temel hem de uygulamalı deneysel araştırmalarda kullanışlılığını sınırlamaktadır. Bu nedenle yüksek embriyojenik genotiplerin tanımlanması, bu teknolojinin pratik uygulamasında ilerleme sağlamak için temel bir adımdır. Ayrıca yüksek embriyojenik tepki veren genotiplerin belirlenmesi, bu genotiplerin tarımsal açıdan ilgi çekici ancak androjenik yeterliliği düşük veya inatçı genotiplerle melezlenme olanağının araştırılması ve oluşacak varyasyondan yararlanma açısından da avantajlıdır (Rivas-Sendra vd. 2017). Bu nedenle, birçok türde yüksek androjenik tepki gösteren genotiplerin belirlenmesi için çalışmalar yapılmıştır (Ferrie ve Caswell 2011). Bazı türlerde yüksek embriyojenik genotipler tanımlanmış veya geliştirilmiştir ve bunlar double haploid araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak patlıcanda mikrospor kültüründe genotiplerinin mikrospor kültürü verimliliği üzerine yapılan araştırmalar oldukça azdır ve mevcut araştırmalar genellikle belirli genotipler ile sınırlı kalmış olup, farklı genotiplerin mikrospor kültürü verimliliğinin belirlenmesi gerekmektedir.

Bu çalışma ile ülkemizde ıslah çalışmalarında kullanılan genotiplerde mikrospor kültürü yöntemi kullanılarak, genotipin mikrospor kültürü üzerine etkisinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bu genotiplerin mikrospor kültürü verimliliğinin belirlenmesi ile özellikle ülkemizde ıslah programlarında mikrospor kültürünün kullanılmasını sağlamak ve etkinliğini artırmak için avantaj sağlayacaktır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Patlıcanda Mikrospor Embriyogenez Çalışmaları

Miyoshi (1996) tarafından yürütülen bir çalışmada, üç farklı F1 patlıcan çeşidi üzerinde mikrospor kültürü uygulanmıştır. Araştırmada, bu genotiplerden izole edilen mikrosporların kültüre alınması sonucunda morfojenik kallus oluşumları gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan çiçek tomurcuklarının sarımsı beyaz renkte olduğu ve bu tomurcukların yeşilimsi beyaz taç ve çanak yapraklara sahip olduğu belirtilmiştir; mikrosporların erken çift çekirdekli ve geç tek çekirdekli dönemleri içeren heterojen bir populasyon oluşturduğu rapor edilmiştir. Anterlerden izole edilen mikrosporlar 25–35 °C arasında karanlık koşullarda inkübe edilmiştir. Mikrosporların bir kısmı distile suda, diğer kısmı ise %2 sakkaroz içeren NLN ortamında kültüre alınarak, sıcaklık ve karbonhidrat eksikliği etkisi değerlendirilmiştir. Üç gün süresince 35 °C’de uygulanan yüksek sıcaklık ve sakkaroz eksikliği kombinasyonunun kallus indüksiyonunu olumlu etkilediği belirlenmiştir. İnkübasyon sonrası mikrosporlar hormon takviyeli NLN ortamına aktarılmış, dört hafta sonra oluşan kalluslar zeatin ve IAA içeren MS rejenerasyon ortamına transfer edilmiştir. Kromozom analizleri sonucunda elde edilen 1 bitkinin haploid, 7 diploid ve bir tanesinin tetraploid olduğu saptanmıştır.

Salas vd. (2012), patlıcanda mikrospor ve polen gelişim evrelerini incelemek amacıyla 7 farklı gelişim aşamasını (tetrat, genç–orta–geç mikrospor, genç–orta–geç ve olgun polen) değerlendirmiştir. Çalışmada, bu evrelerin tomurcuk ve anter uzunluklarıyla olan ilişkisi ölçülmüş ve gelişim aşamalarına karşılık gelen boyut aralıkları tanımlanmıştır. Vakuol mikrosporlar ve genç çift çekirdekli polen aşamasına denk gelen tomurcuk boylarının çoğu genotipte 8–16 mm, anter uzunluklarının ise 4–7 mm arasında olduğu tespit edilmiştir. Ancak *S. aethiopicum* türü için bu değerler sırasıyla 6 mm ve 3 mm olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, mikrospor kültüründe en uygun dönemin vakuollü mikrospor ve genç çift çekirdekli evreler olduğunu; anter kültüründe ise genç ve orta evredeki mikrosporların başarı açısından daha elverişli olduğunu ortaya koymuştur.

Mikrospor kültüründe başarıyı artırmak amacıyla uygulanan stres yöntemleri arasında yüksek sıcaklık, soğuk şoku ve şeker açlığı önemli yer tutmaktadır. Yüksek sıcaklık uygulamaları (31–37 °C), embriyo oluşumunu teşvik edici bir etki gösterirken (Dumas de Vaultx ve Chambonnet 1982), soğuk şoku ise mikrosporların canlı kalma süresini uzatarak embriyogenezi desteklemektedir (Shariatpanahi vd. 2006; İslam ve Tuteja 2012). Bunun yanında, sakkaroz eksikliği gibi metabolik stresler, genç polenlerin hücre döngüsüne yeniden girmesini sağlayarak bölünmeleri tetikleyebilmektedir (Zarsky vd. 1992; Binarova vd. 1993; Touraev vd. 1996; Lantos vd. 2009;).

Mikrospor embriyogenezinde istenen başarıya ulaşmak, büyük ölçüde kültür ortamında kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerinin türü ve miktarına bağlıdır. Uygun hormon kombinasyonlarının belirlenmesi; kullanılan genotip, donör bitkinin fizyolojik durumu, ön uygulanan stresler ve mikrosporların gelişim evresi gibi birçok faktöre göre şekillenmektedir. Bitkilerde büyüme, gelişim, organ farklılaşması ile çiçek ve meyve oluşumu gibi süreçlerin, esasen büyüme düzenleyicileri tarafından yönlendirildiği bilinmektedir. Bu nedenle, hormon türlerinin ve konsantrasyonlarının dikkatli bir

şekilde seçilmesi, mikrospor embriyogenezinde başarılı sonuçlar elde etmek açısından kritik bir rol oynamaktadır (Coşkun vd. 2011).

Rotino vd. (1987), sekiz farklı indüksiyon ortamında çeşitli patlıcan genotiplerinin anter kültürü yanıtlarını incelemiş ve genotipin kültür başarısında belirleyici olduğunu göstermiştir. Özellikle “1L.V. Barbentel” yüksek embriyo verimi sergilerken, bazı F₁ hibritlerde hiç embriyo oluşmamıştır. Kültür ortamına eklenen hormonlar (NAA, zeatin) ve karbon kaynakları (sakkaroz, glikoz) embriyo gelişimini etkilemiştir. Uygun hormon dengesiyle *in vitro* androjenik yanıt artırılabilir. Ploidy düzeyi belirtilmemiş olsa da, benzer çalışmalarda %65 haploid, %35 diploid oranları bildirilmiştir.

Karakullukçu ve Abak (1993a/b), önceki çalışmalarında belirledikleri uygun tomurcuk aşamasına dayanarak yürüttükleri devam araştırmalarında, şeker ve bitki büyüme düzenleyicilerinin mikrospor embriyogenezine etkilerini incelemişlerdir. Araştırmada, ilk 12 gün boyunca uygulanan %12 sakkaroz konsantrasyonunun embriyo oluşumu açısından diğer oranlara kıyasla daha etkili olduğu belirlenmiştir. Aktif karbonun embriyo oluşumuna anlamlı bir katkı sağlamadığı gözlemlenmiştir. Hormon kombinasyonları bakımından ise, kinetin ve 2,4-D kombinasyonlarının diğer büyüme düzenleyicilerine göre daha olumlu sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Çalışmada, 5 mg/l kinetin + 5 mg/l 2,4-D ve %12 sakkaroz içeren ortamlarda sırasıyla “Baluroi F1” (%12.1), “Kemer” (%1.5) ve “Halep Karası” (%3.8) genotiplerinde embriyo oluşum oranları kaydedilmiştir. Ayrıca, embriyo oluşumu gözlenen anterlerde kallus dokusu oluşmadığı için, araştırmacılar kallus formasyonunun doğrudan embriyogenezi olumsuz etkilediği sonucuna ulaşmışlardır. Hormon oranlarındaki dengesizlik durumunda kallus oluşumunun arttığı, oksin ve sitokininin dengeli olduğu ortamlarda ise kallus oluşumunun nispeten daha düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Alpsoy ve Şeniz (2007), 15 patlıcan genotipiyle yaptıkları çalışmada farklı sakkaroz oranları, büyüme düzenleyicileri ve sıcaklık uygulamalarını test etmişlerdir. İlk yıllarda sadece kallus oluşurken, 1996 ve 1998'de 35°C'de 8 günlük ön inkübasyon sonucunda bazı genotiplerden embriyo ve bitki gelişimi sağlanmıştır. “Kemer” ve “Urfa Yerlisi” gibi genotipler embriyo oluşumunda öne çıkmıştır. Embriyo ve kallus oranlarının hem ortama hem genotipe göre değiştiği belirlenmiştir.

Corral-Martinez ve Segui-Simarro (2014), patlıcanda mikrospor kültüründe başarıyı artırmak amacıyla farklı kimyasallar (ABA: Absciscic Acid, EBr: Epi-brassinolide, PEG: Polyethylene Glycol, AGP: Arabinogalactan Proteins) ve hormon dozlarını test etmişlerdir. AGP'nin embriyo gelişimini teşvik ettiği, PEG ile birlikte kullanıldığında kallus oluşumunu olumlu etkilediği bulunmuştur. Ayrıca BAP ve NAA'nın standart dozunun (1X) beşte birine düşürülmesinin kallus verimini artırdığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, %1 sakkaroz + %1 PEG + 1600 mg/l AGP + 0.2X BAP-NAA içeren ortamın en uygun protokol olduğu önerilmiştir.

Corral-Martinez ve Segui-Simarro (2012) tarafından yürütülen çalışmada, “Bandera” patlıcan genotipinden mikrospor kültürü ile elde edilen kallus ve bitkilerin ploidy düzeyleri flow sitometri yöntemiyle analiz edilmiştir. Değerlendirilen 41 kallus örneğinden hiçbirinin haploid olmadığı; yalnızca 2'sinin diploid, 3'ünün tetraploid ve kalan 36'sının mikroploid yapı gösterdiği rapor edilmiştir. Mikrospor kültürü, temelde

haploid mikrosporların izole edilip *in vitro* koşullarda kültüre alınmasına dayandığı için, elde edilen kallus ve bitkilerin mikrospor kökenli olduğu varsayılmaktadır. Ancak, özellikle diploid yapı gösteren kallus ve bitkilerin olası somatik kökenli olup olmadığını değerlendirmek amacıyla, araştırmacılar bu bireyleri SSR (Simple Sequence Repeat) markörleri kullanarak moleküler düzeyde analiz etmişlerdir. Araştırmada, daha önce “Bandera” genotipinde heterozigot olduğu belirlenen altı SSR markörü (CSM19, CSM33, CSM36, CSM40, CSM58 ve CSM63) kullanılmıştır. İlk aşamada, “Bandera” çeşidine ait rastgele seçilen 12 donör bitki bu markörlerle test edilmiş ve her bir lokusun tüm bireylerde heterozigot olduğu doğrulanmıştır. Takiben, mikrospor kültürüyle elde edilen dört diploid ve dört miksaploid bitki olmak üzere toplam sekiz birey analiz edilmiş; bu bireylerin söz konusu altı SSR lokusu bakımından homozigot profiller sergilediği tespit edilmiştir. Bu bulgular, elde edilen diploid ve miksaploid bitkilerin somatik değil, mikrospor kökenli olduğunu ve kültür sürecinde spontane diploidizasyon ya da çekirdek kaynaşması gibi mekanizmalarla ploidy düzeylerinin değiştiğini göstermiştir.

2.1. Mikrospor Embriyogenez Üzerine Genotip Etkisi

Diğer doku kültürü tekniklerinde olduğu gibi, mikrospor embriyogenez sürecinde de embriyonik yanıtı etkileyen çeşitli iç ve dış faktörler bulunmaktadır. Mikrosporları embriyogenetik gelişime yönlendirmek için, türlere özgü farklı faktörlerin birlikte optimize edilmesi gerekmektedir. Bu süreç, yalnızca belirli koşullar sağlandığında başarılı bir şekilde ilerleyebilir.

Mikrospor embriyogenezinde embriyo oluşumu, gelişimi ve bitkiye dönüşüm aşamaları; kullanılan genotip, donör bitkinin fizyolojik durumu, mikrosporların gelişim evresi, uygulanan ön işlemler ve kültür koşulları gibi pek çok etkene bağlıdır (Smykal 2000; Wang vd. 2000; Datta 2005; Dunwell 2010).

Donör bitki genotipi, hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda elde edilecek başarı oranını büyük ölçüde etkilemektedir. Aynı tür içerisinde hatta aynı çeşide ait bireyler arasında bile embriyojenik yanıtlar bakımından farklılıklar gözlenebilmektedir (Seguí-Simarro ve Nuez 2008).

Ayrıca, bazı türler mikrospor embriyogenezine yüksek yanıt verirken, bazı türlerin bu sürece karşı dirençli olduğu bildirilmektedir. Aynı tür içerisinde ise bazı genotiplerin yüksek, bazılarının ise çok düşük yanıt verdiği ya da hiç yanıt vermediği görülmektedir (Miah vd. 1985; Ferrie vd. 1995; Rudolf vd. 1999; Salas vd. 2011).

Tuberosa vd. (1987), sekiz farklı patlıcan hattı ve bunların melezlerinden oluşan 16 genotipte anter kültürü denemeleri gerçekleştirmiştir. Sera ve tarla koşullarında toplanan toplam 8839 anter, önceden tanımlanmış protokollerle kültüre alınmıştır. Saf hatlarda en yüksek yeşil bitki oranı %13.7 iken, melezlerde bu oran %32.1'e ulaşmıştır. Elde edilen 328 bitkiden 77'si DH, 250'si haploid ve biri triploid olarak tanımlanmıştır. Bu çalışma, genotipin ve yetiştirme koşullarının anter kültürü başarısına etkisini açıkça ortaya koymaktadır.

Karakullukçu ve Abak (1992a) tarafından yürütülen çalışmada, “Halep Karası”,

“Adana Topağı”, “Birecik Yerlisi” ve “Black Beauty” gibi dört farklı patlıcan genotipinin anter kültürüne verdiği tepkiler değerlendirilmiştir. Kültüre alınan anterlerde I. polen mitozunu tamamlamış mikrosporların bulunduğu dönem hedef alınmıştır. Besi ortamına kinetin ve 2,4-D hormonları ile %12 sakkaroz eklenmiş, anterler önce yüksek sıcaklıkta (35°C), ardından daha düşük sıcaklıkta (25°C) inkübe edilmiştir. “Halep Karası” genotipi, %7.8 oranında embriyo ve %4.4 oranında haploid bitki oluşumu ile en başarılı sonuçları vermiştir. Diğer üç genotipte ise yalnızca kallus dokusu gelişmiş, embriyo ya da bitki oluşumu gözlemlenmemiştir. Elde edilen sonuçlar, patlıcanda androgenetik yanıtın genotipe bağlı olarak büyük farklılıklar gösterebileceğini ortaya koymuştur. Bu çalışma, özellikle yerel genotiplerin bazı durumlarda klasik çeşitlerden daha yüksek potansiyele sahip olabileceğini vurgulamaktadır.

Başay vd. (2010), yerli patlıcan çeşitleri olan “Topan-374”, “Aydın Siyahı”, “Halep Karası” ile “Teorem F1”, “Bonica F1” ve “Munica F1” hibrit çeşitleriyle birlikte, *Solanum torvum* ve *S. sodomium* gibi yabancı türleri kullanarak anter kültürü denemeleri gerçekleştirmişlerdir. Çalışma, yaz döneminde Yalova koşullarında sera ortamında yürütülmüş, anterler C ve R ortamlarında kültüre alınmıştır. Sıcaklık ön işlemi olarak ilk 8 gün boyunca 35°C’de karanlık koşullarda tutulmuş, ardından 25°C sıcaklıkta 16 saatlik fotoperiyot uygulanmıştır. Anterlerin canlı kalması ve şişerek farklılaşma göstermesi “gelişme” olarak değerlendirilmiş, renk değiştirerek büzüşen ya da kuruyan anterler ise gelişmemiş kabul edilmiştir. Bu bağlamda, en yüksek gelişme oranı %91.4 ile “Bonica F1” çeşidinde, en düşük ise %38.4 ile *S. sodomium* türünde gözlenmiştir. Kallus oluşumu açısından en yüksek değer %30.8 ile “Teorem F1”, en düşük ise %10.6 ile *S. torvum*’da saptanmıştır. Embriyo oluşumuna gelindiğinde, doğrudan embriyo oluşumunun yanı sıra bazı örneklerde kallus üzerinden embriyo gelişimi de kaydedilmiştir. Ancak *S. torvum*, *S. sodomium* ve “Teorem F1” genotiplerinde kalluslardan embriyo elde edilememiştir. Embriyo oluşum oranı %1.25 ile “Aydın Siyahı” çeşidinde en düşük seviyede kalırken, %14.2 ile “Bonica F1” en yüksek embriyo oluşumunu göstermiştir. Aynı şekilde bitkiye dönüşüm oranında da “Bonica F1” %14.29 ile en başarılı sonucu vermiştir. Bu çalışma, genotipin anter kültüründeki tüm aşamalara olan etkisini açıkça ortaya koyarken, özellikle “Bonica F1” gibi hibrit çeşitlerin embriyo ve bitki rejenerasyonu açısından yüksek potansiyele sahip olduğunu vurgulamaktadır.

Salas vd. (2011), 12 patlıcan genotipinin anter kültürüne tepkisini değerlendirmiştir. Genotiplerin çoğunda kallus oluşumu gözlenmiş, ancak yalnızca beş genotipte embriyo gelişmiştir. Bu embriyolardan sadece “ANS26”, “Bandera” ve “Ecavi” genotiplerinden bitki elde edilebilmiştir. “Bandera” çeşidinden elde edilen embriyoların flow sitometri analizinde %17.9’u haploid, %46.4’ü diploid olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, genotipin androjenik yanıt üzerinde belirleyici olduğunu göstermektedir.

Başay ve Ellialtıoğlu (2013), bazı yerli patlıcan çeşitleri (“Topan”, “Halep Karası”, “Teorem F1”) ve iki ıslah hattının (“Vd-1”, “Vd-2”) anter kültürüne verdiği tepkileri karşılaştırmalı olarak değerlendirmiştir. Araştırmanın ilk aşamasında, “Topan” ve “Halep Karası” çeşitlerinin sırasıyla %4.16 ve %2.63 oranlarında embriyo oluşturduğu ve bu iki genotipin androjenik kapasitelerinin diğerlerinden yüksek olduğu saptanmıştır. Bu yüksek yanıt veren genotipler, düşük yanıtı genotiplerle melezlenerek

ikinci aşamada test edilmiştir. Melez kombinasyonları arasında yalnızca “Topan × Teorem F1” ve “Teorem F1 × Topan” genotipleri embriyo üretmiş ve embriyo oluşum oranları sırasıyla %0.87 ve %2.57 olarak belirlenmiştir. Aynı melezlerden sırasıyla %0.69 ve %2.57 oranlarında haploid bitki gelişimi sağlanmıştır. Bu çalışma, hem donör genotipin etkisini hem de genotipler arası varyasyonun androjenik başarı üzerinde belirleyici olduğunu açıkça ortaya koymuştur.

Corral-Martinez ve Segui-Simarro (2012) çalışmasında, “Bandera”, “Ecavi”, “ANS-3” ve “Cristal” olmak üzere dört farklı patlıcan genotipinin mikrospor kültürüne verdiği yanıtlar değerlendirilmiştir. Mikrosporlar, anterlerden izole edilerek Miyoshi (1996) protokolüne göre kültüre alınmış ve gelişimleri ışık mikroskobu ile takip edilmiştir. Stres uygulamasının ardından 5. günde bazı mikrosporlarda simetrik bölünmeler ve embriyogeneze işaret eden yıldız şekilli morfolojiler gözlemlenmiş; ancak pek çok mikrospor gametofitik gelişimini sürdürerek polen benzeri yapılar oluşturmuş ya da morfolojik değişim göstermemiştir. 15. ve 20. günlerde bazı mikrosporlar embriyo benzeri yapılarla dönüşse de bu yapılar gelişimini sürdürememiş, ilerleyen günlerde yerlerini mikroskobik kallus benzeri yapılarla bırakmıştır. Kültürün sonunda her genotipten yalnızca kallus elde edilmiş, embriyo gelişimi sağlanamamıştır. Elde edilen kallus sayısına göre yapılan değerlendirmede, “Bandera” çeşidi en yüksek yanıt vermiş ve bu nedenle sonraki deneylerde referans genotip olarak seçilmiştir. Bu çalışma, mikrospor kültürü sürecinde genotipin belirleyici bir faktör olduğunu ve morfolojik gelişimin çoğu zaman kallus oluşumu ile sınırlı kaldığını ortaya koymuştur.

Ferrie ve Caswell (2011), mikrospor embriyogenezis çalışmalarında her tür için yüksek androjenik kapasiteye sahip genotiplerin tanımlanmasının, DH bitki üretiminin başarılı ve uygulanabilir bir teknoloji haline gelmesinde kritik bir adım olduğunu vurgulamışlardır. Bu amaçla birçok türde araştırmalar yapılmış; örneğin *Brassica napus*’ta Topas hattı DH4079 (Ferrie ve Keller 1995), *Brassica rapa*’da CV-2 (Ferrie vd. 1995), arpada Igri (Hoekstra vd. 1992) ve buğdayda Chris, Pavon 70, Bob White (Kasha vd. 2003) gibi yüksek embriyojenik yanıt veren genotipler tespit edilmiştir. Ancak, patlıcan gibi tarımsal açıdan önemli bazı türlerde bu tür genotiplerin sayısı hâlâ sınırlı kalmakta ve bu durum, daha evrensel ve verimli bir uygulama için engel oluşturmaktadır.

Rivas-Sendra vd. (2017) çalışmasında, patlıcanın (*Solanum melongena* L.) “Bandera” çeşidi kullanılarak mikrospor kültürü tekniğiyle toplam 80 adet çift haploid (DH) birey elde edilmiştir. Elde edilen DH popülasyonu; yaprak morfolojisi, çiçek yapısı, meyve özellikleri, tohum sayısı ve tohum çimlenme oranları gibi çeşitli morfolojik karakterler bakımından ayrıntılı şekilde değerlendirilmiştir. Ayrıca, androjenik potansiyel belirleme amacıyla hem anter kültürü hem de mikrospor kültürü protokolleri uygulanmıştır. Denemelerde, donör ebeveyn olan “Bandera” genotipinden 100 anter başına ortalama 146.5 embriyo elde edilirken, oluşturulan DH hatlardan DH36 hattı 100 anter başına 237.5 embriyo ile en yüksek performansı göstermiştir. Mikrospor kültürü deneylerinde de “Bandera” çeşidinden ortalama 65.1 kallus/ml elde edilirken, DH36 hattı hem “Bandera” hem de diğer DH genotiplere kıyasla en yüksek cevap veren hat olmuş ve ortalama 267.36 kallus/ml değerine ulaşmıştır. Bu veriler doğrultusunda araştırmacılar, DH36 hattının mikrospor embriyogenezi üzerine yürütülecek hem temel hem de uygulamalı biyoteknolojik çalışmalarda referans ya da model hat olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir. Bu çalışma, patlıcanda androjenik

potansiyeli yüksek bireylerin tanımlanmasının DH üretimi ve ıslah programları açısından ne kadar kritik olduğunu bir kez daha ortaya koymuştur.

Patlıcanda mikrospor kültürü yoluyla double haploid (DH) bitki elde edilmesinde genotipin belirleyici bir etken olduğu, çok sayıda araştırmacı tarafından ortaya konmuştur. Genotipler arasındaki androjenik yanıt farklılıkları, embriyo indüksiyonu, kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu gibi temel aşamaları doğrudan etkilemektedir (Salas vd. 2011; Rivas-Sendra vd. 2017).

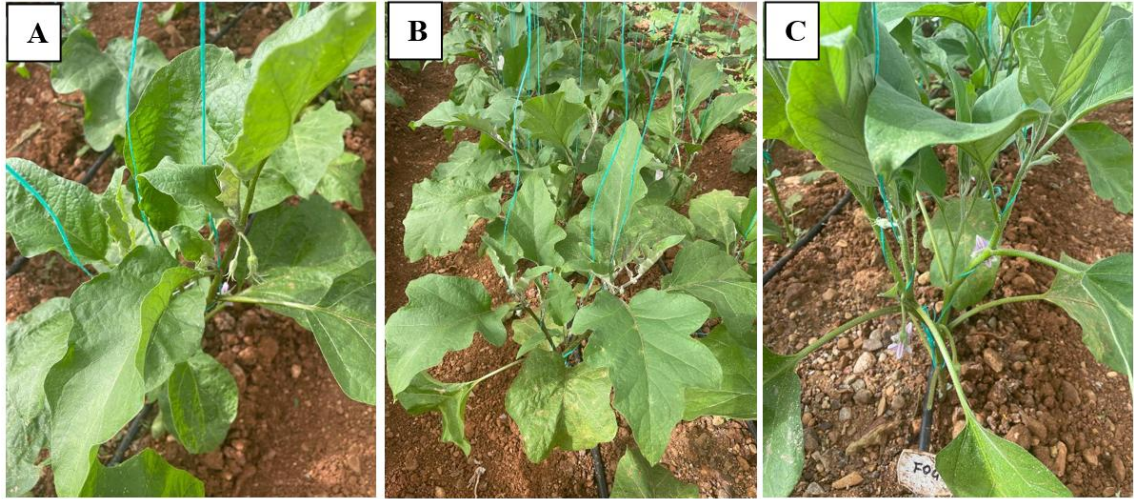
Sonuç olarak, patlıcanda mikrospor kültürü ile DH bitki üretimi üzerine yapılan çalışmalar, genotip farklılıklarının bu süreç üzerindeki belirleyici etkisini açıkça ortaya koymaktadır (Salas vd. 2011; Rivas-Sendra vd. 2017). Mikrospor embriyogenezinin başarıyla gerçekleşebilmesi için yalnızca uygun fizyolojik ve çevresel koşullar değil, aynı zamanda yüksek androjenik potansiyele sahip genotiplerin de seçilmesi büyük önem taşımaktadır (Ferrie ve Caswell 2011). Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda kullanılan patlıcan genotiplerinin mikrospor kültürüne verdikleri yanıtların değerlendirilmesi, hem temel bilimsel bilgi üretimi hem de ıslah programlarına katkı sağlama açısından önemli bir adım teşkil etmektedir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada bitki materyali olarak Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (BATEM) tarafından ıslah çalışmaları sonucunda elde edilmiş olan üç adet patlıcan genotipi (2 adet uzun tipte P1, P2 ve 1 adet oval tipte P3) kullanılmıştır (Şekil 3.1).

Genotiplere ait patlıcan tohumları 1:1 oranında torf ve perlit (1:1/v:v) içeren viyollere (15 × 10) ekilmiştir. Tohum ekiminden 15-20 gün sonra çimlenme ve çıkış gerçekleşmiştir. Bu esnada yeterli kök ve gövde gelişimin sağlanabilmesi için fideler Hoagland besin çözeltisi (Hoagland ve Arnon 1950) ile sulanmış olup ekimden 30-35 gün sonra 2-3 gerçek yapraklı hale gelen fideler sera içerisinde hazırlanan 90 cm genişlik 60 cm uzunluktaki sıralara çift sıralı olarak dikim yapılmıştır. Dikim sırasında sıra üzeri mesafe 40 cm sıra arası mesafe olarak 60 cm bırakılmış, dikim sonrası can suyu uygulaması yapılmıştır. Serada bitkilerin bakımı devam etmiş, gereken zamanlarda hastalık ve zararlılara karşı ilaçlı mücadele yapılmıştır. Sulama ve gübrelemesi ise damlama sulama sistemi ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Serada yetiştirilen patlıcan genotipleri a) P1 genotipi b) P2 genotipi c) P3 genotipi

3.2. Metot

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne bağlı Doku Kültürü Laboratuvarı ve İklim Odalarında yürütülmüştür. Araştırma kapsamında, üç farklı patlıcan genotipine ait mikrospor kültürü çalışmaları yürütülmüştür.

3.2.1. Sitolojik çalışmalar

3.2.1.1. Uygun mikrospor/polen gelişim aşamasının belirlenmesi

Mikrospor kültürü çalışmalarının başlangıcında, sitolojik gözlemlerle mikrospor ya da polenlerin uygun gelişim evresinde olduğu anterlerin seçimi önemlidir. Çalışmada patlıcanda mikrospor kültürü çalışmalarında Salas vd. (2012) tarafından önerildiği gibi, özellikle çoğunluğu vakuollü mikrospor ya da genç çift çekirdekli polen aşamalarında olan anterlerin kullanılması gerektiği belirtilmiştir. Anterlerin uzunlukları belirlenirken, çoğunluğu bu hücre aşamasında olan anterler seçilmesi baz alınmıştır. Salas vd. (2012), patlıcanda uygun mikrospor ya da polenler ile anter ve tomurcuk uzunluğu arasında bir ilişki kurulabileceğini bildirmiştir. Bu amaçla, dijital kumpasla anterlerin boyları ölçülerek lam üzerine birkaç anter alınmıştır. Anter üzerine bir iki damla su damlatılarak jilet yardımıyla parçalara ayrılmıştır. Üzeri lamel ile kapatılan preparatlar ışık mikroskobu altında gözlemlenmiştir.

3.2.2. Mikrospor kültürü aşamaları

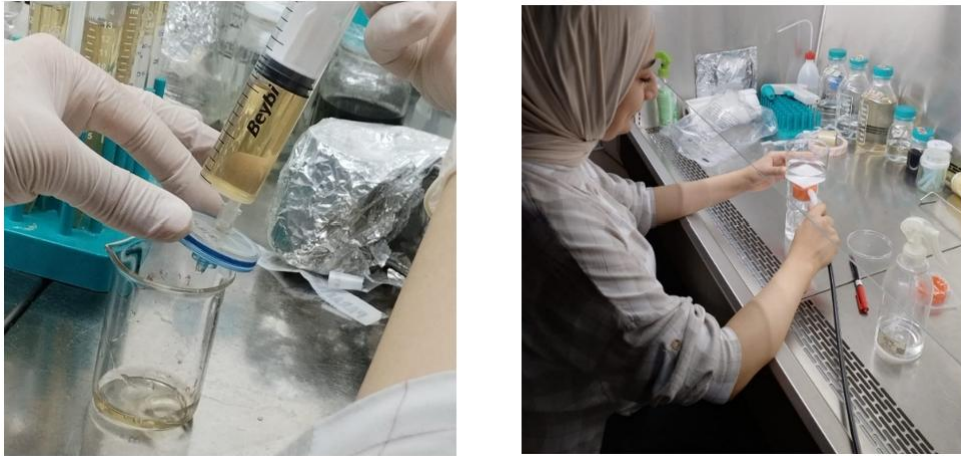
3.2.2.1. Sterilizasyon

Bitki büyüme düzenleyicilerinin ve besin ortamlarının sterilizasyonu:

Besi ortamları, mikrobiyal kontaminasyonu önlemek amacıyla steril filtre sistemlerinden geçirilerek hazırlanmıştır. Sıvı besin ortamlarının sterilizasyonu, laminar flow akışlı kabininde yapılan filtrasyon ile sağlanmıştır. Kültürde kullanılacak sıvı besin ortamları 0.22 mikronluk membran filtreler kullanılarak steril edilmiştir (Şekil 3.2). Mikrospor kültürü çalışmalarından elde edilen kalluslardan bitki rejenerasyon amaçlı kullanılan katı besin ortamlarının sterilizasyonu klasik otoklavlama yöntemiyle 121°C sıcaklıkta ve 1 atm basınçta 20 dakika boyunca sterilizasyonu sağlanmıştır.

Anterlerin sterilizasyonu:

Anterler, öncelikle uygun boyutları göz önünde bulundurularak dijital kumpas yardımıyla ölçülüp seçilmiştir. Tomurcuktan dikkatlice çıkarılan bu anterler, mikroskop kültürü uygulamaları için belirlenen ölçü kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sterilizasyon işlemine alınmıştır. Sterilizasyon süreci üç aşamalı olarak planlanmıştır; ilk adımda anterler musluk suyu altında yüzey gerilimini azaltmak ve yüzeydeki kirleri uzaklaştırmak amacıyla %0,1 oranında Tween-20 içeren çözeltiyle ön yıkamadan geçirilmiştir. Ardından anterler %70'lik etil alkol içerisinde 30 saniye bekletilmiş ve %8'lik sodyum hipoklorit çözeltisine 5 dakika süreyle daldırılmıştır (Şekil 3.3). Kimyasal uygulamalar sonrasında, olası kalıntıların uzaklaştırılması amacıyla anterler üç kez steril saf su ile dikkatlice yıkanmıştır. İlk durulamada anterler üç dakika süreyle saf suda bekletilmiş, ardından gelen ikinci ve üçüncü durulama adımlarında birer dakikalık süre yeterli olmuştur. Böylece kontaminasyon riskini en aza indirmek amacıyla aşamalı ve etkili bir sterilizasyon protokolü tamamlanmıştır.



Şekil 3.2. Besin ortamlarının ve büyüme düzenleyicilerinin 0.22 µm poroziteli filtre yardımıyla steril edilmesi

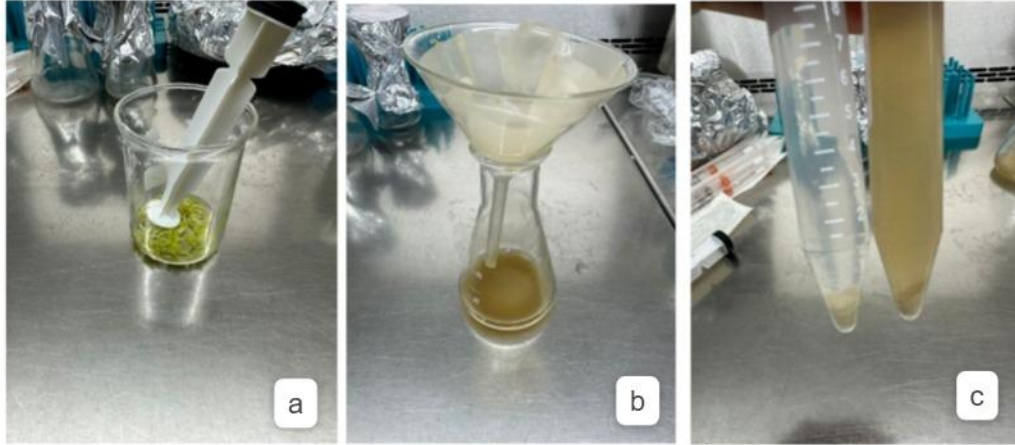


Şekil 3.3. Anterlerin %70'lik etil alkol içerisinde 30 saniye bekletilmesi

Gelişimin uygun aşamasındaki anterler, dijital kumpas kullanılarak seçilmiş olup, çoğunluğu vakuol mikrospor ve genç çift çekirdekli polenler içermektedir. Sterilizasyon işleminden sonra anterler steril distile su içerisinde ezilmiş (Şekil 3.4 a) ve 40 µm gözenek çapına sahip filtre yardımıyla süzölmüştür (Şekil 3.4 b). Bu sürecin ardından, parçalanmış anterlerden kaynaklanan somatik dokular filtre üzerinde kalırken, mikrosporlar erlenmayerde süspansiyon oluşturacak şekilde toplanmıştır.

İzolasyon işlemi sırasında, somatik dokuların parçalanması sonucu ortaya çıkan fenolik maddelerin mikrospor gelişimini olumsuz etkilememesi için, süspansiyon ortamından uzaklaştırılmaları sağlanmıştır. Mikrosporların çökmesini sağlamak için +4°C'de 850 rpm hızında çalışan soğutmalı santrifüjde 5 dakika süreyle santrifüjlenmiştir (Şekil 3.4 c). Bu işlem, mikrospor süspansiyonunun saflığını artırarak

embriyojenik yanıtın iyileştirilmesini amacıyla üç kez tekrarlanmıştır.



Şekil 3.4. Patlıcan mikrosporlarının anterlerden izolasyonu a) Anterlerin ezilmesi b) Süspansiyonun filtre edilmesi c) Mikrosporların santrifüj tüplerine aktarılması

3.2.2.3. Mikrospor yoğunluğunun belirlenmesi

Mikrospor kültürünün başarılı bir şekilde yürütülebilmesi için belirli bir hücre yoğunluğuna ulaşılması gerekmektedir (Miyoshi 1996). Hücre yoğunluğunun optimum düzeyde ayarlanması, mikrospor kültürlerinin gelişimini doğrudan etkileyen kritik bir faktördür (Corral-Martinez ve Seguí-Simarro 2012). Bu doğrultuda, üçüncü santrifüjlemeden sonra mikrospor peleti otoklavlanmış distile suyla karıştırılarak süspansiyon oluşturulmuştur. Mikrospor yoğunluğunu belirlemek amacıyla, hazırlanan süspansiyondan 10µl alınarak Thoma lamında hücre sayımı gerçekleştirilmiştir. Miyoshi (1996) tarafından önerilen 500,000 mikrospor/ml yoğunluğu esas alınarak mikrospor süspansiyonu yeniden hazırlanmıştır. Böylece, mikrospor kültürlerinde homojen bir hücre dağılımı sağlanarak embriyojenik gelişimin artırılması hedeflenmiştir.

3.2.2.4. Mikrospora uygulanan ön işlem

Mikrospor yoğunluğunun belirlenmesinin ardından, hazırlanan süspansiyondan 1 mililitre alınarak steril 3 cm çapındaki petri kaplarına aktarılmıştır. Kültüre alma işlemi öncesinde, her petri kabının üzerine ilgili genotip adı ve tarih kaydedilmiş ve kontaminasyonu önlemek amacıyla prafilmlle kaplanmıştır.

Mikrospor kültürünün başarılı bir şekilde başlamasını sağlamak için ön işlem olarak şeker açlığı ve sıcaklık stresi uygulanmıştır. Bu kapsamda, petri kapları 35°C sıcaklıkta, tamamen karanlık ortamda üç gün boyunca bekletilmiştir. Ayrıca, mikrosporların su içinde kültüre alınmasıyla birlikte şeker açlığı uygulaması gerçekleştirilmiştir. Literatürde bu yöntemin, mikrosporların embriyonik gelişimini teşvik edici etkisi olduğu belirtilmektedir (Miyoshi 1996; Corral-Martinez ve Seguí-Simarro 2012, 2014).

3.2.2.5. Mikrosporların kültüre alınması

Mikrosporlar üç gün boyunca 35°C’de karanlık ortamda bekletilmesi sonunda, Miyoshi (1996) temel alınarak oluşturulan ve patlıcan mikrospor kültüründe kallus oluşumunu sağladığı belirtilen NLN besi ortamına aktarılmıştır. Bu ortamın içeriğinde %2 sakkaroz, 0.5 mg/L 6-Benzilaminopurin (BAP) ve 0.5 mg/L Naftalen Asetik Asit (NAA) bulunmaktadır (Lichter 1982).

Mikrosporların kültüre alındığı petri kapları, 25°C sıcaklıkta ve karanlık koşullarda bir ay boyunca inkübe edilmiştir. Mikrospor kültür ortamında kullanılan makro ve mikro besin bileşenleri Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2’de sunulmuş olup, bu içerik Lichter (1982) tarafından önerilen NLN ortamına dayanmaktadır. NLN ortamı içeriğinde bulunan vitaminlerin miktarları Çizelge 3.3’ te verilmiştir.

Çizelge 3.1. NLN sıvı besi ortamında yer alan makro elementlerin miktarları

Makro Elementler	Miktar (mg/L)
KH_2PO_4	125
KNO_3	125
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	125

Çizelge 3.2. NLN sıvı besi ortamında yer alan mikro elementlerin miktarları

Mikro Elementler	Miktar (mg/L)
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
H_3BO_3	10.00
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	18.95
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.25
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10.00
FeNaEDTA	36.70

Çizelge 3.3. NLN ortamı içeriğinde bulunan vitaminlerin miktarları

İçerikte Bulunan Vitamin Bileşenleri	Yoğunluk (mg/L)
L-Serin	100.00
Myo-inozitol	100.00
L-Glutamin	800.00
İndirgenmiş Glutasyon	30.00
Niasin (Nikotinikasit)	5.00
Glisin	2.00
Folik asit	0.50
Piridoksin-HCl (B6 vitamini)	0.50
Tiamin-HCl (B1 vitamini)	0.50
D(+)-Biyotin (H vitamini/B7 vitamini)	0.05

3.2.2.6. Sitolojik gözlemler

Mikrospor kültürlerinde embriyonik gelişim süreçlerini değerlendirmek amacıyla floresan ve inverted mikroskop kullanılmıştır. Çekirdek bölünmelerini ve gelişim gösteren mikrosporları belirlemek için DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) ile boyama protokolü uygulanmıştır. İşlem kapsamında, 200 µl mikrospor süspansiyonundan örnek alınarak 8000 rpm'de 2 dakikalık santrifüjle yapılmış ve çöken mikrospor peletine 10 µl DAPI solüsyonu eklenmiştir. Hazırlanan örnek, floresan ve inverted mikroskop altında incelenerek mikrosporların gelişim aşamaları değerlendirilmiştir (Custers 2003).

3.2.2.7. Bitki rejenerasyonu

Mikrosporların kültüre alınmasından yaklaşık dört hafta sonra kallus oluşumu gözlenmiştir. Elde edilen 1 mm'den büyük kallus dokularından bitki gelişimini teşvik etmek amacıyla, Miyoshi (1996) ve Rivas-Sendra vd. (2015) tarafından bildirilen formülasyonlar temel alınarak, % 2 sakkaroz, % 0.8 agar, 0.2 mg/l IAA ve 4 mg/l zeatin içeren katı MS (Murashige ve Skoog 1962) ortamında kültüre alınmışlardır. Ortam, 25°C sabit sıcaklıkta rejenerasyon belirtileri görülene kadar inkübe edilmiştir. Kök gelişiminin desteklenmesi amacıyla, sürgünler daha sonra bazal MS ortamına aktarılmıştır (Rivas-Sendra vd. 2015).

3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi

Denemeler, tesadüfi parseller deneme desenine uygun olarak üç tekerrürlü ve üç yinelemeli biçimde düzenlenmiştir. Mikrospor kültürü denemelerinde, mikrospor kaynaklı kallusların oluşumu 30 gün sonunda değerlendirilmiştir. Kallus sayılarının istatistiksel olarak analiz edilmesi ve genotiplerin bu sürece verdiği yanıtların karşılaştırılması amacıyla, her genotip için petri başına düşen kallus sayısı temel ölçüt olarak kullanılmıştır. Elde edilen kalluslardan bitki rejenerasyonu oranları da ayrıca kayıt altına alınmıştır. Mikrospor kültürü çalışmalarında genotiplerin etkisini ortaya koymak amacıyla elde edilen veriler MINITAB 17 yazılımı ile analiz edilmiş, varyans analizi uygulanarak gruplar arasındaki farklılıklar Tukey testiyle belirlenmiştir.

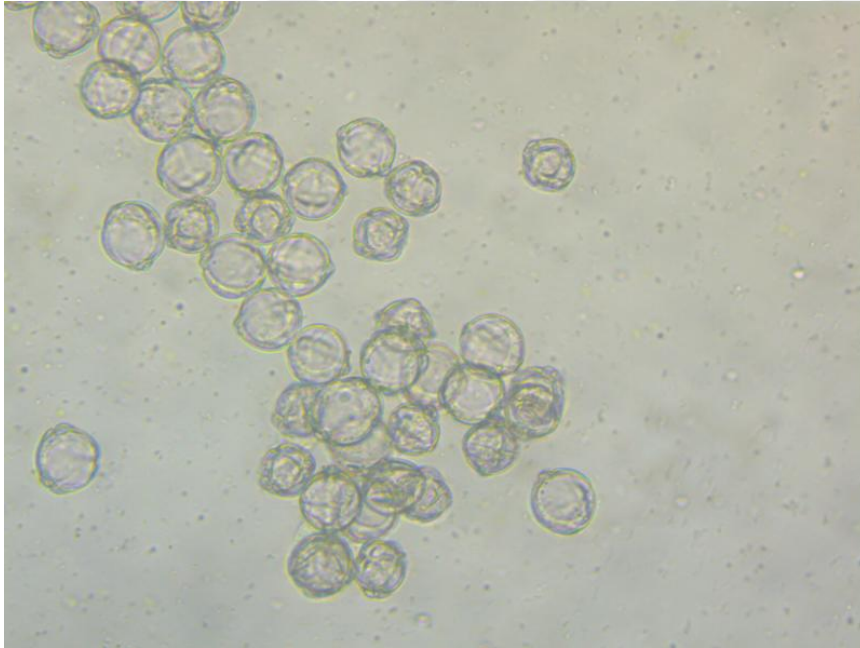


4. BULGULAR VE TARTIŞMA

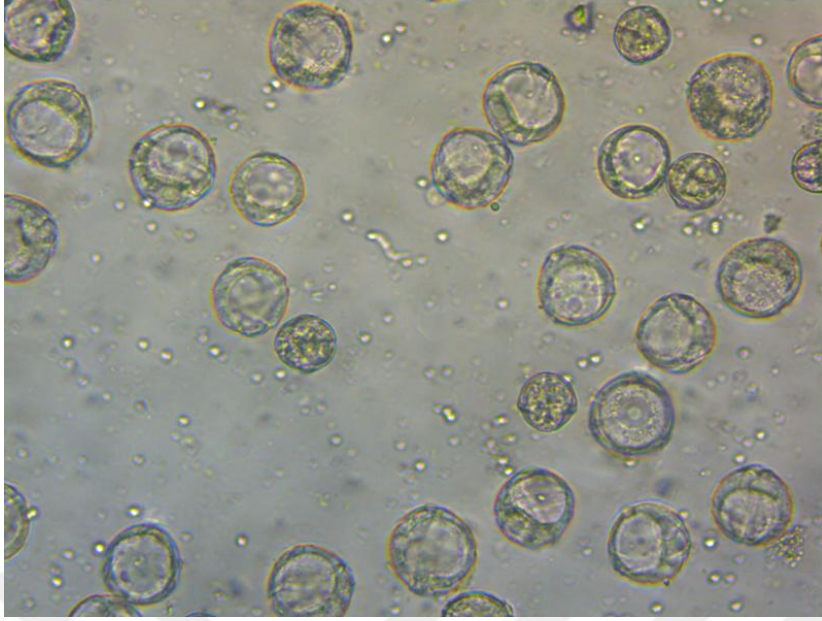
4.1. Uygun Mikrospor/Polen Gelişim Aşamasının Belirlenmesi

Bu çalışmada ilk olarak üç adet patlıcan genotipinde (2 adet uzun tipte P1, P2 ve 1 adet oval tipte P3) mikrospor kültürüne en duyarlı mikrospor/polen gelişim aşamaları belirlenmiştir. Bu amaçla, değişken uzunluklardaki tomurcuklar ve bunların içinde bulunan anterlerin içerisinde de bulunan mikrospor ve polenlerin gelişim aşamaları Salas vd. (2012) tarafından tanımlanan gelişim evresine göre; tetrat, genç, orta ve orta-geç (vakuollü) mikrospor ve genç, orta-geç ve olgun polen evreleri ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Patlıcanda mikrospor kültürü için en uygun gelişim evresine sahip tomurcukların belirlenmesinde, genç çift çekirdekli ve vakuollü mikrosporların bulunduğu tomurcuklar hedeflenmiştir (Şekil 4.1 ve 4.2).

Elde edilen veriler doğrultusunda, tomurcuk ve anter uzunluklarının genotipe göre değişiklik gösterdiği anlaşılmıştır. Kültür başarısı açısından en etkili hücre evresi, vakuollü mikrospor ve genç çift çekirdekli polen aşamasını maksimum yüzdeyle içeren tomurcuk uzunlukları, uzun tip P1 ve P2 genotiplerinde 9 -12 mm arasında değişirken; anter uzunluklarının sırasıyla 5-6 ve 6-7 mm arasındaki uzunluklarda olduğu belirlenmiştir. Oval tip P3 genotipinde ise tomurcuk uzunluğu 7 – 10 mm arasında değişirken; anter uzunluğunun 5.5-6.5 olduğu görülmüştür. Yapılan çalışma sonucunda en başarılı sonuç alan mikrospor/polen evresini içeren tomurcuk ve anter uzunluğunun her genotip için farklı olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Işık mikroskobu altında vakuol mikrosporların görüntüsü



Şekil 4.2. Işık mikroskobu altında genç çift çekirdekli polen görüntüsü

Mikrosporların kültüre alınmasında başarılı sonuç alınabilmesi için, gelişim aşamasına göre seçilmiş anterlerle çalışılması gerekmektedir. Polen mitozunun hemen öncesi ve sonrası, mikrosporların embriyo yönünde farklılaşma potansiyelinin en yüksek olduğu dönemler olarak kabul edilmektedir. Gelişimin bu safhalarında alınan mikrosporlar, embriyo oluşumu yönünden yüksek başarı göstermektedir (Reynolds 1997; Touraev vd. 2001; Segui-Simarro ve Nuez 2008). Bazı araştırmalarda, aynı gelişim safhasının farklı genotiplerde farklı yanıtlar verdiği bildirilmiştir. Bu evrelerin kesinliği, çalışılan türün genetik yapısına ve çevresel koşullara bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. (Raghavan 1986; Salas vd. 2011,2012). Patlıcan anter kültürü üzerine yapılan araştırmalarda, genellikle tek çekirdekli, geç evredeki tek çekirdekli (vakuollü mikrosporlar) ve genç çift çekirdekli polen evrelerinin kültür uygulamaları için tercih edildiği bildirilmektedir (Tuberosa ve ark., 1987; Salas ve ark., 2011; Basay ve Ellialtıoğlu, 2012). Buna ek olarak, Salas ve ark. (2012) tarafından yürütülen ayrıntılı bir çalışmada, patlıcanda mikrospor ve polen gelişim evreleri kapsamlı şekilde değerlendirilmiş ve mikrospor kültüründe özellikle vakuollü mikrosporlar ile genç çift çekirdekli polen evrelerinin kullanılması önerilmiştir. Denemelerimizde, kültür ortamına alınan anterler, çoğunlukla bu iki gelişim aşamasındaki mikrosporları içerecek şekilde seçilmiştir. Yapılan gözlemler doğrultusunda, embriyogenez için uygunluk gösteren bu iki evre temel alınmıştır. Vakuollü mikrosporlar ve genç çift çekirdekli polenlerin yer aldığı anterler, kültür başarısını artırmak amacıyla seçilmiştir.

Mikrospor gelişim aşamasının doğru belirlenebilmesi için, tomurcuk ve anter uzunluklarının önemli bir gösterge olduğu çeşitli çalışmalarda vurgulanmıştır. Çoğu türde, mikrospor kültürü öncesi gelişim aşamasını öngörmek için tomurcuk ve anter uzunluklarından faydalanılmaktadır (Kasperbauer ve Wilson 1979; Summers vd. 1992; Da Silva Lauxen vd. 2003; Segui-Simarro ve Nuez 2005; Salas vd. 2012; Parra-Vega vd. 2012). Mikrospor gelişim aşamasına ulaşmak için tomurcukların morfolojik ölçütleri, özellikle boy uzunluğu, güvenilir bir ön tanı aracı sunar. Kültüre alınacak anterlerin uygun dönemde seçilebilmesi için, bu uzunluk verileri kritik bir role sahiptir.

Bu bağlamda, mikrospor evresi ile tomurcuk uzunluğu arasındaki korelasyonun ortaya konması çalışmalarda sıklıkla temel alınır. Aynı tür içerisinde farklı genotiplerde, hatta aynı bireydeki tomurcuklar arasında dahi gelişim evresi açısından varyasyonlar olabileceği vurgulanmıştır. Genetik çeşitliliğe bağlı olarak, patlıcan anter kültürü çalışmalarında tomurcuk seçimi genotipten genotipe farklılık gösterebilmektedir (Dumas de Vault ve Chambonnet, 1982; Tuberosa vd. 1987; Rotino 1996). Karakullukçu ve Abak (1993a), 4 farklı çeşitte yaptıkları çalışmada tomurcuk uzunluklarının çeşitlere bağlı olarak 22.4-24.7 mm olduğunu belirlemişlerdir. 2012 yılında Ellialtıoğlu ve çalışma arkadaşları tarafından yürütülen bir araştırmada, en uygun mikrospor evresini taşıyan tomurcukların 15 ila 17 mm aralığında olduğu; bu dönemde petallerin sepallerden ayrılmaya başladığı ve anterlerin açık sarımsı-yeşil renkte olduğu rapor edilmiştir. Patlıcanda mikrospor kültürü ile yapılan çalışmalarda farklı genotiplerde farklı uzunluklar belirlenmiştir (Ellialtıoğlu vd. 2012).

Bu çalışmada, tomurcuk ve anter uzunluklarının mikrospor/polen gelişim evresiyle arasında anlamlı bir ilişki olduğu ortaya konmuştur. Mikrospor kültürü uygulamalarında anter uzunluklarının doğrudan ölçülebilmesi ve mikrosporların bu anterlerden izole edilebilmesi sayesinde, bu yöntem hem pratik hem de güvenilir bulunmuştur. Ayrıca, bu çalışmada ve literatürde dikkat çeken bir diğer önemli nokta, kullanılan genotiplere göre önerilen tomurcuk ve anter uzunluklarının değişkenlik göstermesidir. Bu nedenle, mikrospor kültürünün başarıyla uygulanabilmesi için, her genotip özelinde deneyin başlangıcında uygun gelişim evresini içeren tomurcuk ve anter uzunluklarının belirlenmesi kritik bir adım olarak değerlendirilmiştir.

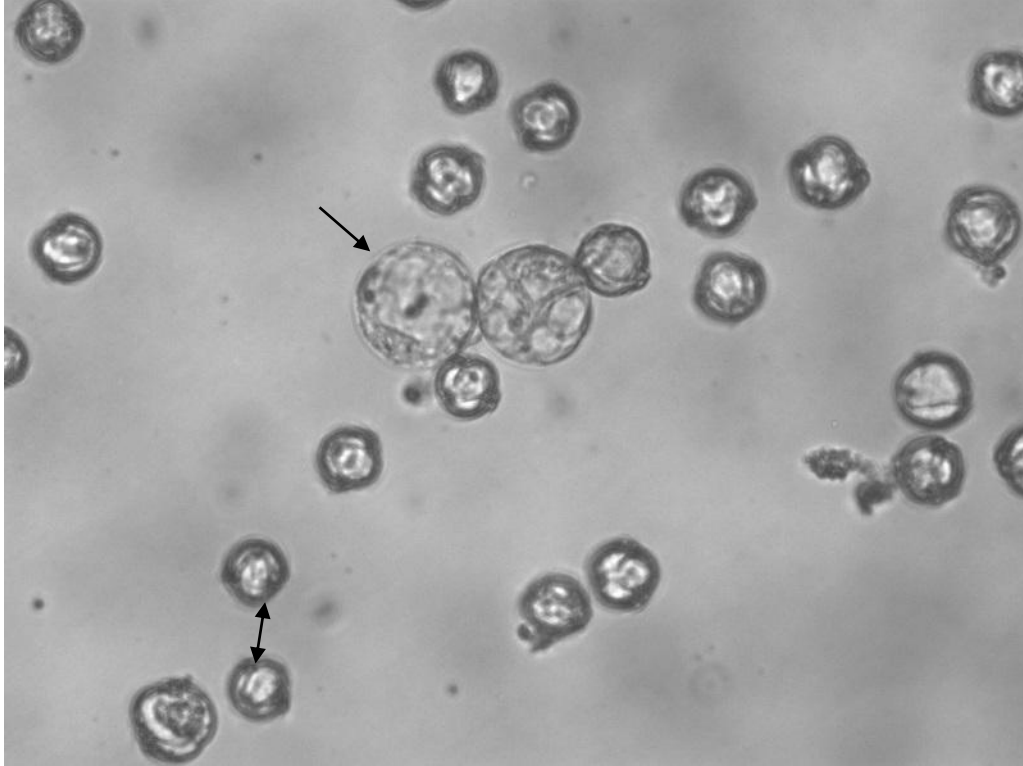
4.2. Mikrospor Kültürü

Farklı genotiplerin mikrospor kültürüne verdiği yanıtın değerlendirilmesi için, üç farklı patlıcan genotiplerinde Miyoshi (1996)'nın önerdiği yönteme bağlı kalınarak denemeler gerçekleştirilmiştir. Her üç genotipte de kültüre alınan mikrosporların gelişim süreçleri inverted ve flouresans mikroskop kullanılarak değerlendirilmiştir. Kültüre alınan mikrosporların üç genotipte de gelişim süreci benzer şekilde ilerlemiş ve farklılık göstermemiştir.

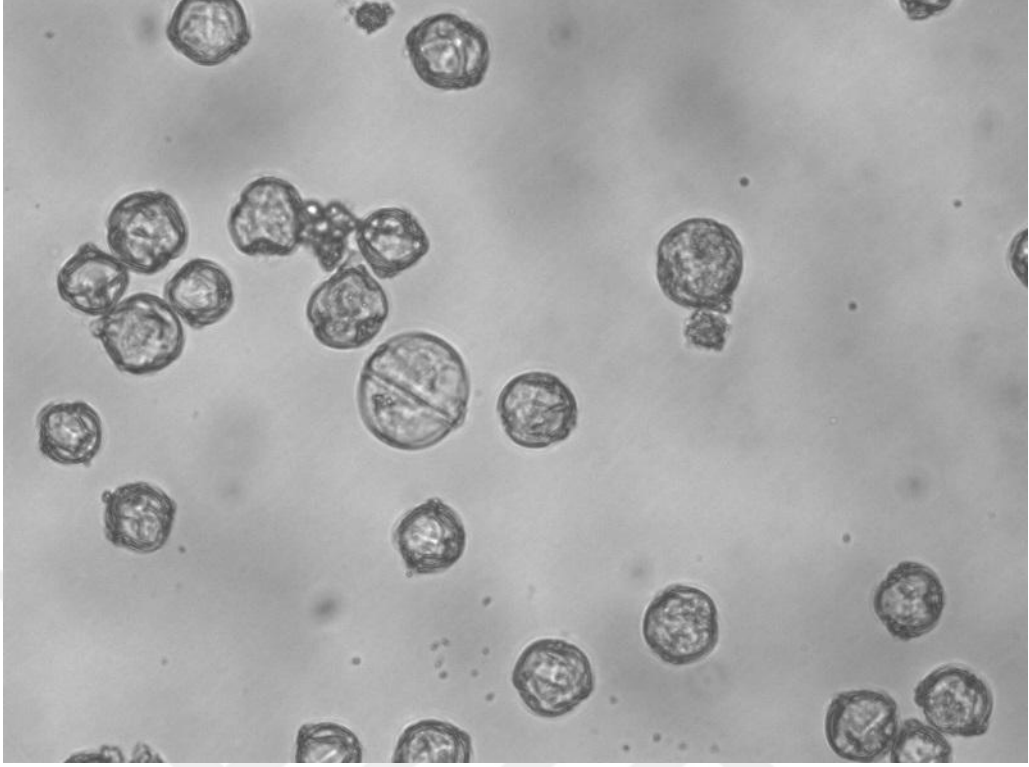
Mikrospor kültürü çalışmalarında, kültürlenmiş mikrosporların çoğunluğunun gelişim aşaması vakuollü mikrosporlar veya genç çift çekirdekli polenler olarak belirlenmiştir. Mikrosporları gametofitik gelişimden sporofitik gelişime yönlendirmek amacıyla stres uygulamalarından sonra mikrosporların birçoğu hemen gelişimini durdurmuş; herhangi bir morfolojik değişim göstermemiş ve başlangıçta kültür ortamına alınmasına rağmen bu hücrelerde morfolojik herhangi bir değişim gözlenmemiştir (Şekil 4.3). Bazı mikrosporlar, gametofitik yönelimlerini sürdürerek olgun polen oluşumuna ilerlemiştir (Şekil 4.3). Bu mikrosporlarda gametofitik gelişimin göstergelerinden olan simetrik bölünmeler ve çok hücreli yapılar tespit edilmiştir (Şekil 4.4). Sporofitik gelişim sürecine yönelen mikrosporlar, simetrik bölünmeler gerçekleştirerek çok çekirdekli yapılara dönüşmeye başlamıştır (Şekil 4.5). Bu hücreler, embriyogenezin erken evrelerinde olup, bölünme aktivitesi invert mikroskop ile açıkça gözlemlenmiştir. Stres koşullarının uygulanmasıyla birlikte bazı mikrosporların mitotik aktivitesi uyarılmış ve embriyogeneze geçişleri sağlanmıştır (Şekil 4.6). Floresan mikroskobu altında yapılan gözlemlerde, sporofitik gelişim gösteren mikrosporlarda çok çekirdekli yapılar net bir şekilde tespit edilmiştir (Şekil 4.7). İzleyen aşamalarda, çok

hücreli yapılar gelişimlerini sürdürerek globular embriyo formuna ulaşmıştır (Şekil 4.8). Ancak her üç genotipte de globular embriyo aşamasından sonra embriyo gelişimi devam etmemiş ve dört hafta sonunda mikrosporlardan sadece kallus oluşumu meydana gelmiştir.

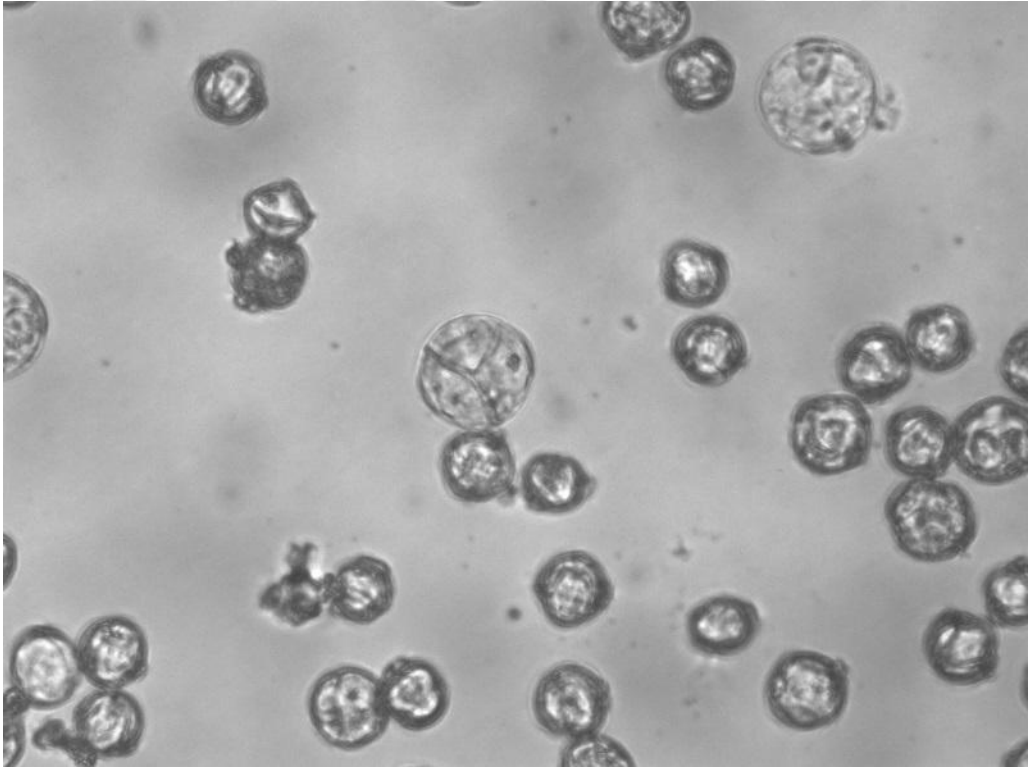
Embriyo gelişim sürecine giren mikrosporlar, embriyogenezin erken aşamalarında çeşitli morfolojik ve yapısal dönüşümler geçirir. Bu değişimler kapsamında, hücre büyür, çekirdek hücre merkezine yönelir, sitoplazma daha belirgin hâle gelir ve merkezi vakuol çok sayıda küçük vakuole ayrışır (Touraev vd. 2001). Mikrosporlarda embriyojenik sürecin karakteristik bir belirtisi, çekirdeğin merkezî konumlanmasından sonra gerçekleşen simetrik hücre bölünmeleridir. Embriyogenezin başlangıcında gözlenen simetrik bölünmeler, çekirdeğin konum değiştirmesinden sonra ortaya çıkmakta ve morfolojik olarak tanımlanmaktadır (Maraschin vd. 2005b; Segui-Simarro ve Nuez 2008; Corral-Martinez ve Segui-Simarro 2012, Özdemir 2012; Indrianto vd. 2020). Üç farklı genotipte yapılan gözlemlerde, uygulanan stres koşullarının ardından mikrosporların sporofitik gelişim yoluna yöneldiği ve bu sürecin simetrik bölünmeler ve çok çekirdekli oluşumlarla desteklendiği belirlenmiştir.



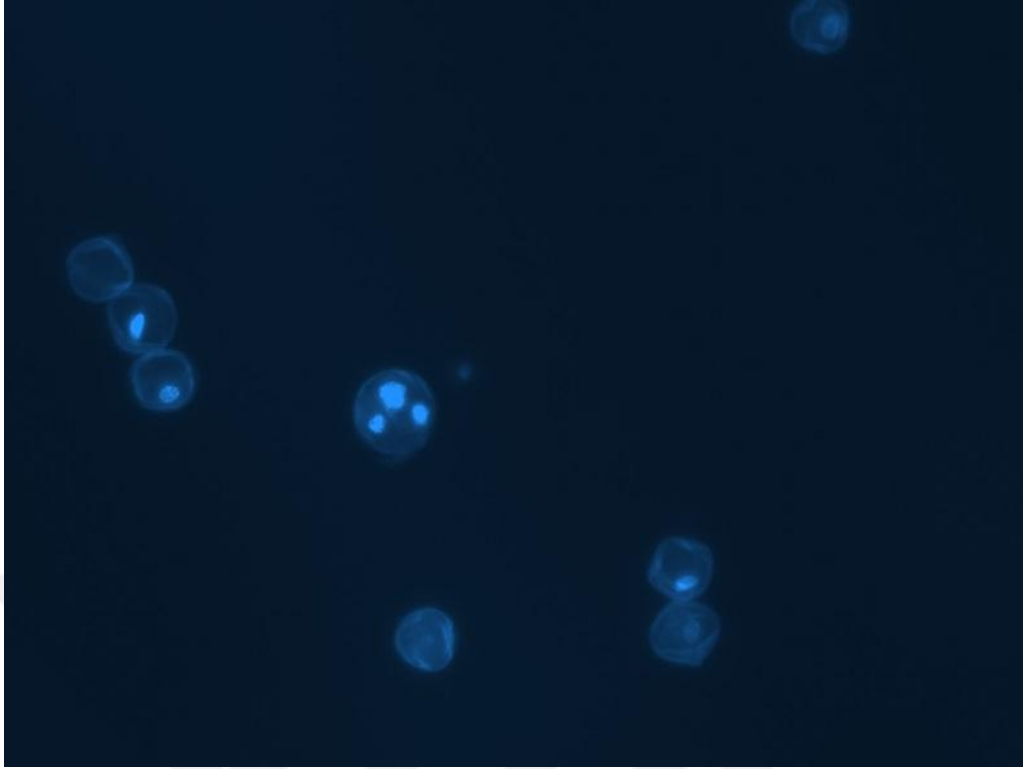
Şekil 4.3. Mikrosporların kültüre alınmasından sonra normal gametofitik gelişim gösteren (↘) ve gelişimlerini durduran mikrosporların (↗) inverted mikroskop altında görüntüleri



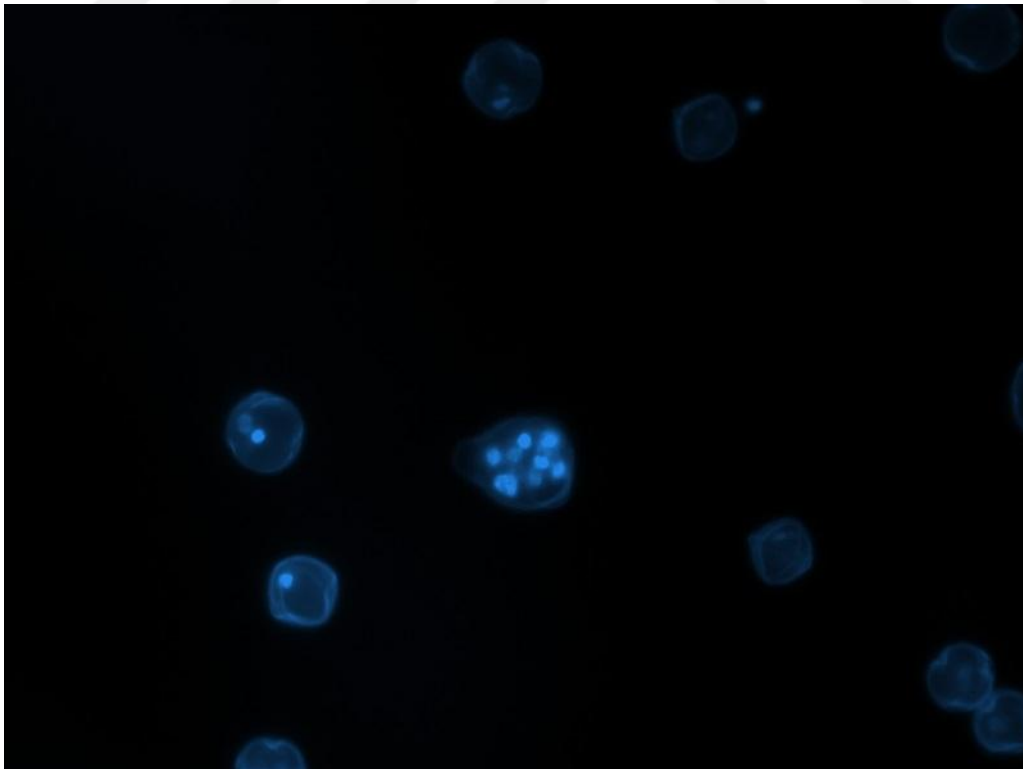
şekil 4.4. Sporofitik yola y6nelmiş mikrosporların simetrik b6l6nme ge6irmiş formlarının invert mikroskop ile elde edilen g6r6nt6s6



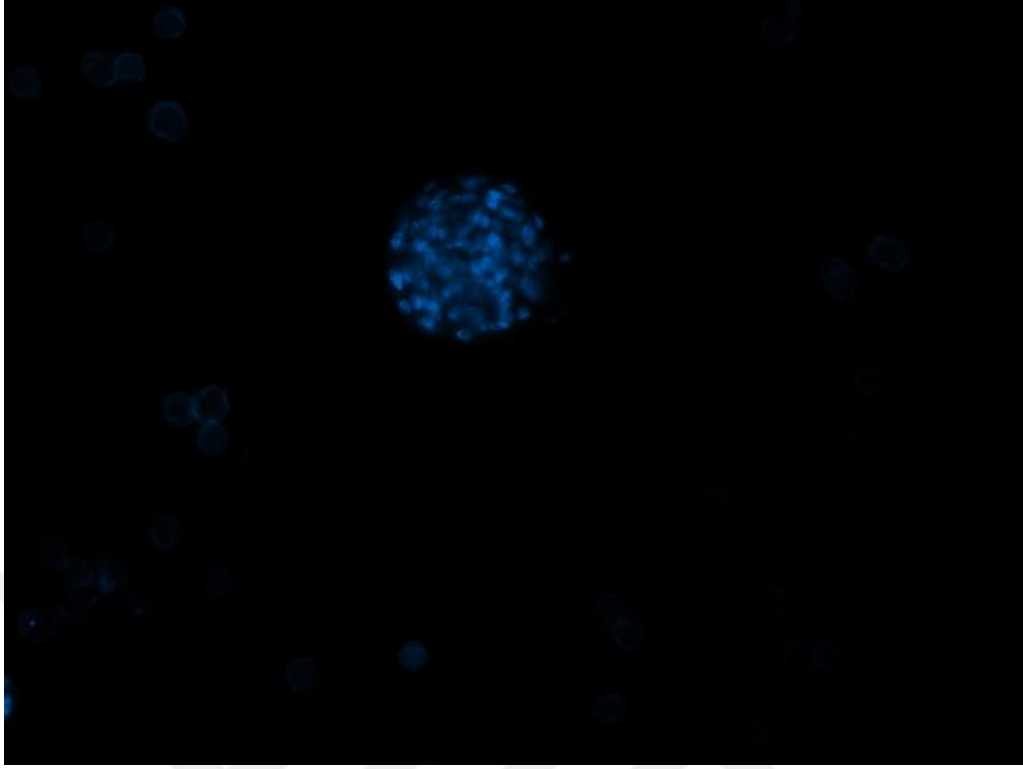
şekil 4.5. Sporofit gelişim sürecine başlamış ve aktif b6l6nme aşamasında olan mikrosporların invert mikroskop altındaki g6r6n6m6



şekil 4.6. Fluoresan mikroskopta gözlenen sporofitik gelişim evresindeki mikrosporların bölünme yapıları



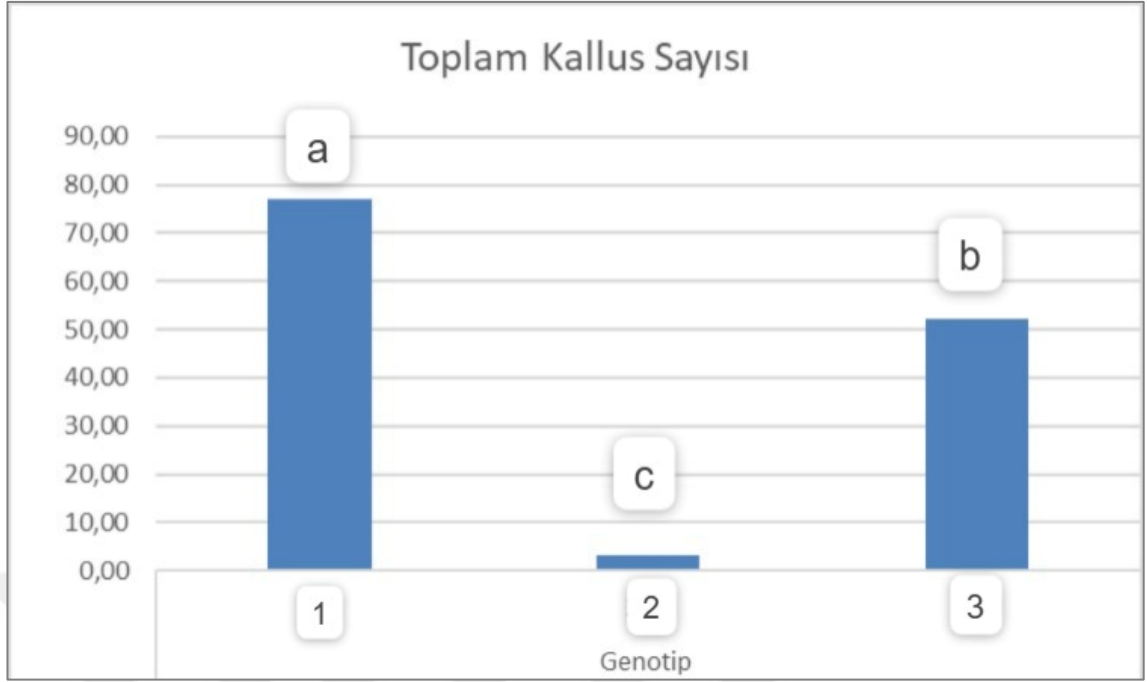
şekil 4.7. Sporofitik gelişim gösteren mikrosporlarda meydana çok çekirdekli yapıların fluoresan mikroskop altındaki görüntüsü



şekil 4.8. Sporofitik yönelime sahip mikrosporlardan gelişen globular embriyoların morfolojik görüntüsü (fluoresan mikroskop)

4.3. Mikrospor Kültüründe Genotip Etkisi

Bu çalışmada materyal olarak üç adet patlıcan genotipi (2 adet uzun tipte P1, P2 ve 1 adet oval tipte P3) kullanılmış ve farklı genotiplerin mikrospor kültürü üzerine etkisi belirlenmiştir. Her üç genotipte de mikrospor kültüründen sadece kallus oluşumu meydana gelmiştir ve mikrosporların kültüre alınmasından bir ay sonra petri başına toplam kallus sayımları ayrı ayrı yapılmıştır. Mikrospor kültüründe kullanılan uzun tip patlıcan genotiplerinden P1 genotipinden toplam 77 kallus/petri elde edilirken P2 genotipinde ise 3.17 kallus/petri elde edilmiştir. Diğer P3 oval tip patlıcan genotipinde ise 52.08 kallus/petri elde edilmiştir (şekil 4.10).

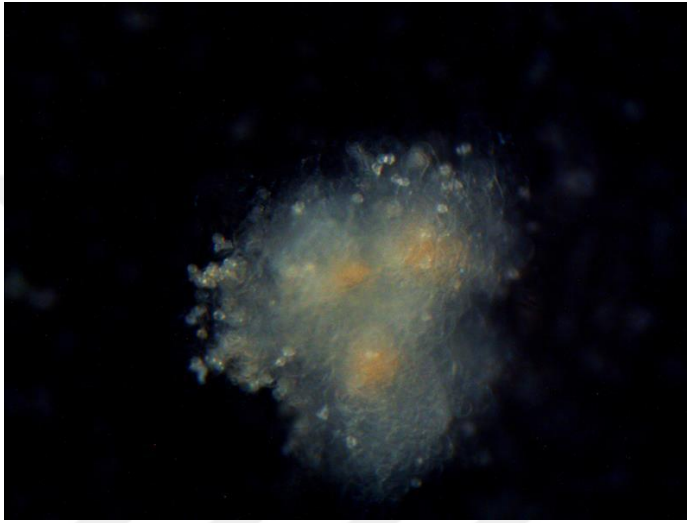


Şekil 4.9. P1, P2 ve P3 patlıcan genotiplerinde genotipin toplam kallus sayısına etkisi

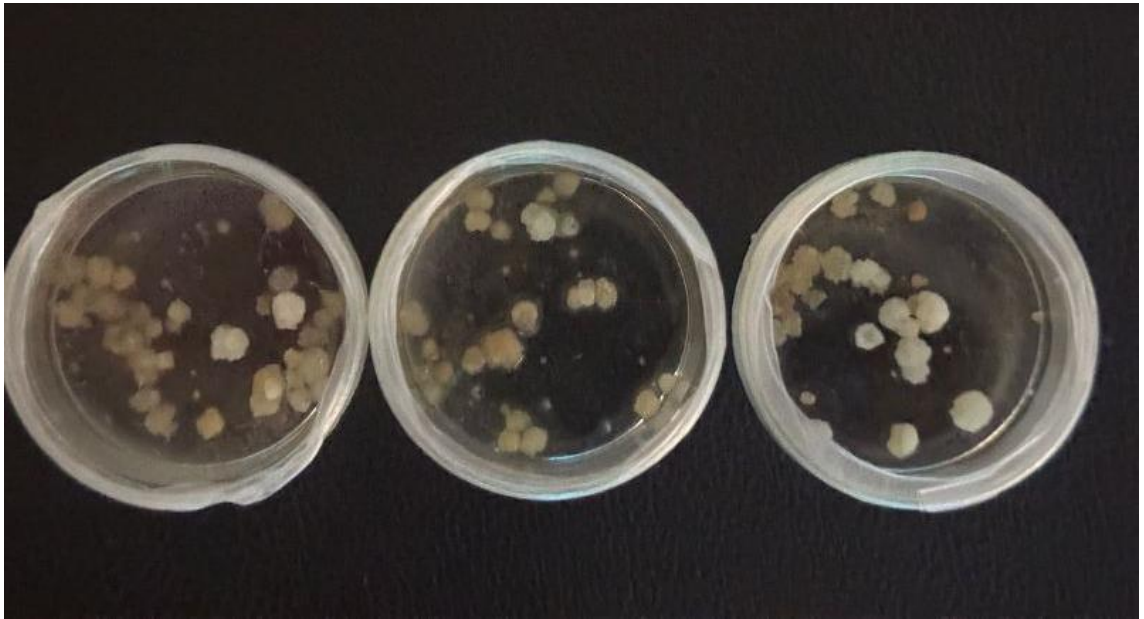
Mikrospor embriyogenezinden elde edilecek başarı üzerine donör bitkinin yetiştirme dönemi ve yetiştirme koşulları, mikrosporların gelişim aşaması, ön uygulamalar, kültür koşulları, genotip gibi pek çok faktör etkilidir. Birçok bilimsel çalışma, embriyo oluşum verimliliğinin genotip özelliklerinden doğrudan etkilendiğini göstermektedir (Datta 2005; Segui-Simarro ve Nuez 2008). Patlıcanda yürütülen anter ve mikrospor kültürü çalışmalarında, kallus ve embriyo oluşumu ile bitki rejenerasyonunun önemli ölçüde donör genotipin etkisiyle şekillendiği belirlenmiştir. Benzer koşullarda alınan mikrospor örneklerinin, farklı genetik arka planlara göre embriyogenez sürecine verdiği yanıtların çeşitlilik gösterdiği belirlenmiştir (Tuberosa vd. 1987; Karakullukçu ve Abak 1992a; Salas vd. 2011,2012; Corral-Martinez ve Segui-Simarro 2012; Rivas-Sendra vd. 2015). Çeşitli türlerde yapılan araştırmalar, sabit kültür protokollerine rağmen mikrosporların genotipe bağlı olarak farklı tepkiler sergilediğini ortaya koymuştur (Miah vd. 1985; Ferrie vd. 1995b; Hoekstra vd. 1992; Ferrie ve Keller 1995). Denemeler sonucunda, mikrospor kaynaklı kallus oluşum oranlarının genotipe bağlı olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Kullanılan uzun tip patlıcan genotipleri arasında P1, en yüksek kallus oluşumunu gösterirken; P2 genotipi en düşük yanıtı vermiştir. Elde edilen sonuçlar, Rivas-Sendra vd. (2017) ile Salas vd. (2011) tarafından bildirilen verilerle uyumlu olup, mikrospor kültürü başarısında genetik faktörlerin rolünü bir kez daha doğrulamaktadır.

Mikrospor kaynaklı kallus dokularından bitki gelişimi, *in vitro* rejenerasyon sürecinin en kritik aşamalarından biridir. Bu çalışmada, bazı genotiplerde kallus oluşumu gerçekleşmesine rağmen bitki rejenerasyonunun sınırlı kaldığı, bazı genotiplerde ise kallusların yüksek oranda yeşil bitkilere dönüştüğü gözlemlenmiştir. Bu durum, bitki gelişiminin yalnızca kallus miktarına değil, kallusun farklılaşma potansiyeline de bağlı olduğunu göstermektedir. Literatürde de benzer şekilde, kallus oluşumunun rejenerasyon için bir ön koşul olmakla birlikte, her kallus dokusunun

embriyogeneze veya organogeneze uygun yapıda olmadığı bildirilmiştir (Rivas-Sendra vd. 2017). Ayrıca, genotipin bu süreçte belirleyici olduğu; bazı genotiplerde morfogenetik yanıtın oldukça yüksek olduğu, bazılarında ise kallusların farklılaşmadan dejenerasyona uğradığı vurgulanmaktadır (Ferrie ve Keller 1995; Kasha vd. 2003; Ferrie ve Caswell 2011). Bu çalışmada da, yüksek kallus verimi gösteren P1 genotipinden başarılı şekilde bitki elde edilirken, düşük kallus verimine sahip P2 genotipinde bitki gelişimi sınırlı kalmıştır. Bu bulgular, rejenerasyon sürecinde genetik yapının belirleyici etkisini bir kez daha ortaya koymaktadır. Mikrospor kültürleri sonucunda ilk morfojenik kallus yapıları gözlenmiş (Şekil 4.10) ve kültürün ilerleyen dönemlerinde bu kallusların gelişerek büyüme gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.10. Mikrosporglardan elde edilen P1 genotipine ait kallusların ışık mikroskobu altındaki görüntüsü



Şekil 4.11. Mikrosporgların kültüre alınmasından bir ay sonra P1 genotipinde kallus oluşumu

4.4. Bitki Rejenerasyon Oranı

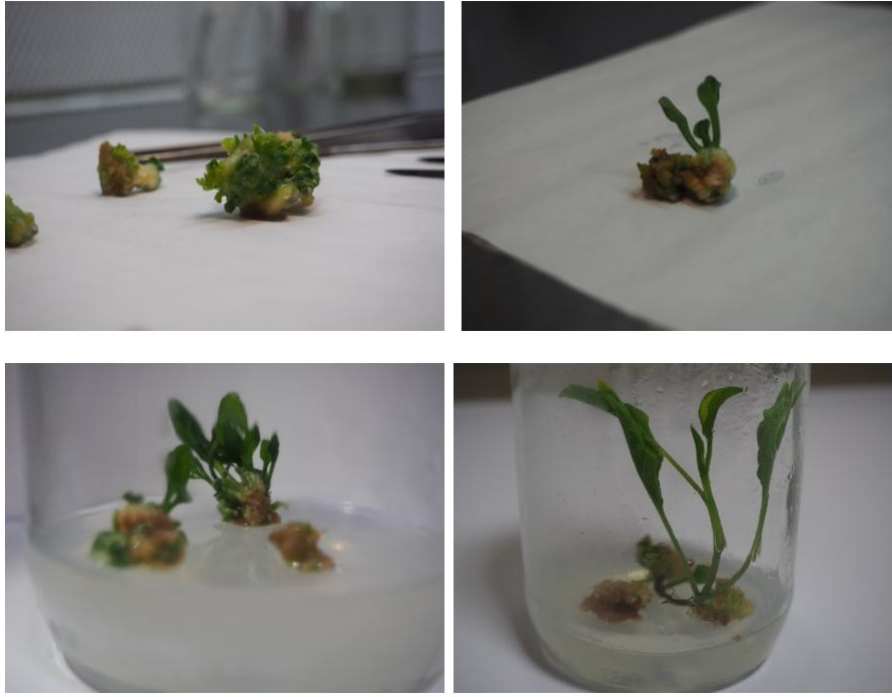
Mikrosporların kültüre alınmasının ardından yaklaşık bir ay içerisinde, her üç genotipte de yalnızca kallus oluşumu gözlemlenmiştir. Bir ay sonunda 1 mm'den büyük kalluslar elde edilmiş ve bu kallusların bitki rejenerasyonunu teşvik etmesi amacıyla, Miyoshi (1996) ile Rivas-Sendra vd. (2015) tarafından önerilen formülasyona sahip M1 ortamına aktarılmıştır. Bu ortam %2 sakkaroz, %0.8 agar, 0.2 mg/L IAA ve 4 mg/L zeatin içermekte olup, kültürler 25°C'de bitki rejenerasyonu gözlenene dek inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 4.12).

Rejenerasyon ortamında gelişim gösteren kalluslar, aynı ortamda bitki elde etmek üzere kültüre alınmıştır. Daha sonra Rivas-Sendra vd. (2015) tarafından bildirildiği üzere elde edilen sürgünlerin köklenmesi amacıyla MS0 ortamına aktarımı gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.13).

Mikrospor kültürü yoluyla elde edilen kallusların bitkiye dönüşüm oranı, P1 ve P3 genotiplerinde pozitif sonuç verirken, P2 genotipinde herhangi bir rejenerasyon gözlenmemiştir. P1 genotipinde kültüre alınan her 100 kallustan 14'ünün sürgün ve kök oluşturarak tam bitkiye dönüştüğü belirlenmiştir. P3 genotipinde ise rejenerasyon oranı %7 olarak belirlenmiş, her 100 kallustan ortalama 7'si bitki oluşturmuştur.



Şekil 4.12. 1 mm ve üzeri büyüklükteki kallusların rejenerasyon ortamına transfer aşaması



Şekil 4.13. Rejenerasyon ortamında gelişen kallusların alt kültüre alınması ve kalluslardan sürgün gelişimi ve elde edilen bitkicikler

Şekil 4.13'te, rejenerasyon ortamında gelişim gösteren kallusların alt kültüre aktarılmasının ardından sürgün oluşumu ve bitkicik gelişimi gözlemlenmektedir. Görselden de anlaşılacağı üzere, bazı kalluslar morfolojik olarak aktif hale gelmiş ve sürgün ile yaprak formasyonları gerçekleştirmiştir. Bu bulgular, mikrospor kaynaklı kallusların organogenesis yoluyla bitki oluşturma potansiyele sahip olduğunu ve uygun hormonal ortam sağlandığında rejeneratif kapasite gösterebildiğini ortaya koymaktadır. Patlıcanda mikrospor kültürü çalışmalarında mikrospordan elde edilen kalluslardan organogenesis yoluyla farklı genotiplerden farklı oranlarda bitki elde edildiği daha önceki çalışmalarda da bildirilmiştir (Corral-Martinez ve Segui-Simarro 2012; Rivas-Sendra vd. 2015; Özdemir Çelik 2019). Bu çalışmada farklı genotiplerde mikrospor kültürü sonucunda elde edilen kalluslardan bitki rejenerasyonun genotipe bağlı olduğunu desteklemektedir.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada, patlıcanda (*Solanum melongena* L.) mikrospor kültürü kullanılarak haploid ve double haploid (DH) bitki elde etme potansiyeli araştırılmıştır. Çalışma kapsamında, farklı meyve tiplerine sahip üç patlıcan genotipi (P1, P2 ve P3) mikrospor kültürüne alınarak kallus oluşumları gözlemlenerek değerlendirilmiştir. Mikrospor kaynaklı kallus dokularından bitki rejenerasyonu başarıyla gerçekleştirilmiş ve genotipler arasındaki farklılıklar açıkça ortaya konmuştur. Bu bulgular, mikrospor kültüründe genetik yapının temel belirleyici bir faktör olduğunu göstermektedir.

Denemeler sonucunda, uzun meyve tipine sahip P1 genotipinde ortalama 77 kallus/petri ile en yüksek kallus oluşumu gözlenmiştir. Aynı meyve tipine sahip fakat düşük performans gösteren P2 genotipinde bu değer 3.17 kallus/petri, oval tipteki P3 genotipinde ise 52.08 kallus/petri olarak kaydedilmiştir. Bu farklılıklar, mikrosporların kallus oluşturma kapasitesinin yalnızca tür içi varyasyondan değil, aynı zamanda genotip düzeyindeki özgün özelliklerden de kaynaklandığını ortaya koymaktadır. P1 genotipinin yüksek kallus verimi göstermesi, bu genotipin DH bitki üretimi açısından potansiyel bir aday olabileceğini düşündürmektedir.

Mikrospor kültürü yoluyla elde edilen kallusların bitkiye dönüşüm oranı, P1 ve P3 genotiplerinde pozitif sonuç verirken, P2 genotipinde herhangi bir rejenerasyon gözlenmemiştir. P1 genotipinde kültüre alınan her 100 kallustan 14 'ünün sürgün ve kök oluşturarak tam bitkiye dönüştüğü belirlenmiştir. P3 genotipinde ise rejenerasyon oranı %7 olarak belirlenmiş, her 100 kallustan ortalama 7'si bitki oluşturmuştur.

Androjenik yanıtın genotip etkisine bağlılığı, yalnızca bu çalışmada değil, literatürde yer alan pek çok araştırmada da açıkça belirtilmiştir. Örneğin, DH36 patlıcan hattı 267.36 kallus/ml değeriyle yüksek androjenik kapasiteye sahip model bir genotip olarak tanımlanırken; Bandera genotipinde %65.1 embriyo oluşumu ve 237.5 embriyo/100 anter gibi yüksek DH verimlilik değerlerine ulaşılmıştır. Bu örnekler, genotipin mikrospor kültürü başarısında ne denli belirleyici olduğunu göstermektedir.

Bu nedenle, son yıllarda yapılan çalışmalarda yüksek androjenik yanıt veren genotiplerle, düşük veya yanıt vermeyen genotiplerin melezlenmesi yoluna başvurulmaktadır. Böylece genetik varyasyondan yararlanılarak mikrospor kültürüne daha iyi yanıt verecek hatların geliştirilmesi hedeflenmektedir. Böylelikle, genotip kaynaklı kısıtlamaların aşılması ve yöntemin farklı genetik altyapılarda yaygın şekilde uygulanabilir hâle gelmesi mümkün olabilmektedir. Diğer taraftan, her bitki türü için yüksek androjenik yanıt gösteren bir "model genotip" in belirlenmesi de önerilen bir başka stratejidir. Bu tür genotiplerin belirlenmesi, hem protokollerin standardizasyonunu kolaylaştırmakta hem de yeni çalışmalar için referans materyal oluşturma açısından önemli bir zemin hazırlamaktadır. Özellikle patlıcanda, genetik temeli güçlü ve mikrospor kültürüne yüksek yanıt gösteren genotiplerin seçilmesi, DH teknolojisinin daha etkin ve verimli biçimde kullanılmasına olanak sağlayacaktır.

F₁ hibritlerde yapılan çalışmalar da melezlemenin androjenik başarı üzerindeki olumlu etkilerini ortaya koymuştur. Uygun anne-baba kombinasyonlarıyla elde edilen hibrit bireylerde embriyo oluşum oranlarının anlamlı biçimde artış gösterdiği bildirilmiştir. Bu bulgular, genetik çeşitliliğin mikrospor kültürü başarısını

artırabileceğini ve yeni, yüksek yanıtı hatların geliştirilebilmesi açısından melezleme çalışmalarının önemli bir araç olabileceğini desteklemektedir.

Bu değerlendirmeler ışığında, çalışmamızda yüksek kallus verimi sergileyen P1 genotipinin, patlıcanda DH teknolojisinin geliştirilmesi ve model genotip arayışları açısından değerlendirilebilecek güçlü bir aday olabileceği düşünülmektedir. Literatürdeki bulgularla birlikte ele alındığında, genotip seçiminin mikrospor kültürü protokollerinin başarısı üzerindeki belirleyici rolü net bir biçimde ortaya çıkmaktadır.

Islah programlarında üstün özelliklere sahip standart ve hibrit çeşitlerin geliştirilmesi için DH tekniğiyle elde edilen homozigot genotiplerin kullanımı önemli avantajlar sunmaktadır. Mikrospor kaynaklı embriyolardan başarılı bitki rejenerasyonu ise, patlıcan dahil olmak üzere birçok kültür bitkisinde sürecin en kritik aşamasını oluşturmaktadır. Bu aşamadaki başarıyı doğrudan etkileyen en önemli unsur, donör bitkinin genetik yapısıdır. Nitekim, önceki çalışmalar gibi bu çalışmada da genotipin mikrospor kültürü etkinliği üzerindeki etkisi doğrulanmış; belirli genotipler için özelleştirilmiş protokollerin geliştirilmesi gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

DH teknolojisi, patlıcanda klasik ıslah programlarını hızlandıran, seleksiyon süresini kısaltan ve sabit hatların elde edilmesini sağlayan güvenilir bir yöntemdir. Bu teknoloji, özellikle genetik temeli güçlü genotiplerle uygulandığında, ıslah sürecine önemli katkılar sağlayabilmektedir.

Bununla birlikte, patlıcanda mikrospor kültürü hâlen tam olarak standartlaştırılamamıştır. Mikrospor evresinin doğru belirlenmesi, ön kültür koşulları, stres uygulamaları ve besi ortamı bileşenleri gibi birçok faktör yöntemin başarısını doğrudan etkilemektedir. Bu nedenle, farklı genotiplerde tekrarlanabilir sonuçlar elde edilebilmesi için uyarlanabilir ve optimize edilmiş protokollerin geliştirilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma patlıcanda mikrospor kültürü yoluyla DH bitki üretimi konusunda yeni veriler sunmakta ve özellikle genotip bazlı yanıt farklılıklarını ortaya koyarak bu alandaki bilgi birikimini zenginleştirmektedir. Elde edilen bulgular, hem kültür protokollerinin iyileştirilmesine hem de ıslah programlarına entegre edilecek uygulamaların geliştirilmesine zemin hazırlamaktadır. Bu yönüyle çalışma, patlıcan ıslahında DH teknolojisinin daha etkin ve rutin şekilde kullanılabilmesine yönelik gelecekteki araştırmalara değerli katkılar sağlayacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Afshari, A., Tajik, H., and Sadeghi, M. 2016. Anticancer activity of eggplant (*Solanum melongena*) extract against human cancer cell lines. *Cancer Research Journal*, 24(3), 89-96.
- Alas, Ö., et al. 2022. A local *Solanum melongena* L. genotype from Türkiye: yield traits, geographical indication importance, and functional properties. *International Journal of Innovative Approaches in Science Research*, 7(4), 91–100.
- Alpsoy, H.C., and Seniz, V. 2007. Researches on the *in vitro* androgenesis and obtaining haploid plants in some eggplant genotypes. *Acta Horti*, 729:137–141.
- Aybak, S. 2005. Patlıcan (*Solanum melongena* L.)'da kendine dölleme ve yabancı dölleme oranları. *Tarım ve Orman Bilimleri Dergisi*, 32(4), 123-127.
- Başay, H. B. ve Ellialtıoğlu, S. 2013. Patlıcan (*Solanum melongena* L.) mikrospor kültüründe melez genotiplerin embriyo üretim kapasitesinin incelenmesi. *Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*, 28(2), 101-108.
- Başay, S., and Ellialtıoğlu, Ş. 2013. Obtaining dihaploid lines by using anther culture in different eggplant cultivars. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 9(2 Pt 1), 188–190.
- Başay, S., Ellialtıoğlu, Ş. ve Şeniz, V. 2010. Yerli ve yabancı patlıcan çeşitlerinde anter kültürü yoluyla haploid embriyo oluşumu. VIII. Sebze Tarımı Sempozyumu, 23-26 Haziran 2010, Van. Bildiri Kitabı ss 588-590.
- Bhat, S. R. and Vasanthi, S. 2008. The various names of eggplant across the world. *International Journal of Vegetation Science*, 29(4), 104-112.
- Binarova, P., Straatman, K., Hause, B., Hause, G., and Van Lammeren, A. 1993. Nuclear DNA synthesis during the induction of embryogenesis in cultured microspores and pollen of *Brassica napus* L. *Theor. Appl. Genet.*, 87: 9-16.
- Chiarini, F., Rodríguez, A., Barboza, G. E., and Bernardello, G. 2010. Karyological studies in South American species of *Solanum* (Solanaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 285(3), 129–138.
- Corral-Martínez, P. and Seguí-Simarro, J. M. 2012. *Solanum melongena* mikrospor kültüründe kullanılan üç farklı ortamın karşılaştırılması. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 110(2), 153-162.
- Corral-Martínez, P. and Seguí-Simarro, J. M. 2014. Microspore culture and androgenesis in *Solanum* species: Perspectives for improving haploid plant production. *In vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 50(1), 33-42.
- Coşkun, Y., Sarı, N., and Abak, K. 2011. *Bitki biyoteknolojisi: Bitki doku kültürü teknikleri ve uygulamaları*. Nobel Yayın Dağıtım.
- Custers, J. B. 2003. Floresan mikroskopi ile mikrospor kültürlerinin değerlendirilmesi. *Journal of Plant Physiology*, 161(4), 345-350.
- Çakır, S. ve Akman, A. 2017. Patlıcanın çeşitli iklim koşullarında meyve özellikleri. *Ziraat Bilimleri Dergisi*, 35(1), 56-64.

- Da Silva Lauxen, M., Kaltchuk-Santos, E., Hu, C. Y., Callegari-Jacques, S. M., and Bodanese-Zanettini, M. H. 2003. Association between floral bud size and developmental stage in soybean microspores. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46(4), 515–520.
- Datta, S. K. 2005. Androgenic haploids: Factors controlling development and its application in crop improvement. *Current Science*, 89(11), 1870–1878.
- Daunay, M. C., and Hazra, P. 2012. *Eggplant*. In P. Hazra and K. V. Peter (Eds.), *Handbook of Vegetables* (pp. 257–322). Studium Press, Houston, TX, USA.
- Dumas de Vaulx, R. and Chambonnet, D. 1982. Culture *in vitro* d'anthères d'aubergine (*Solanum melongena* L.): stimulation de la production de plantes au moyen de traitements à 35°C associés à de faibles teneurs en substances de croissance. *Agronomie*, 2: 983-988.
- Dunwell, J. M. 2010. Microspore culture and the production of haploid and double haploid plants. *Plant Biotechnology Journal*, 8(1), 99-106.
- Ellialtıoğlu, Ş., Başay, S. ve Kuşvuran, Ş. 2012. Patlıcanda polen dimorfizmi ve anter kültürü ilişkisinin incelenmesi. *TABAD*, 5: 149–152.
- Ellialtıoğlu, S., Mityko, H. ve Yücel, H. 2001. Patlıcanda mikrospor kültürü ve androjenesis. *Acta Horticulturae*, 450, 95-102.
- Ellialtıoğlu, Ş., Başay, S., and Kuşvuran, Ş. 2012. Investigations on the pollen dimorphism and its relationship with anther culture in eggplant. *Research Journal of Agricultural Sciences*, 5(1), 149–152.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2024. *FAOSTAT: Eggplant production statistics*. <https://www.fao.org/faostat/>
- Ferrie, A. M. R., and Caswell, K. L. 2011. Isolated microspore culture techniques and recent progress for haploid and doubled haploid plant production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 104(3), 301–309.
- Ferrie, A. M. R., and Keller, W. A. 1995. Development of protocols for microspore culture in *Brassica napus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 42, 183–188.
- Ferrie, A. M. R., Keller, W. A., Arnison, P. G., and Beversdorf, W. D. 1995. Anther culture of *Brassica napus* L.: The significance of the bud length to the stage of microspore development. *Plant Cell Reports*, 14, 6–12.
- Froding, D. G. 2004. History and classification of the Solanaceae. *Annual Review of Plant Biology*, 55(1), 7-33.
- Frary, A., and Doganlar, S. 2007. *Fruit shape and other domestication traits in eggplant*. *Journal of Genetics* (as cited in broader reviews on economic importance).
- Gebhardt, C. 2016. The historical role of species from the Solanaceae plant family in genetic research. *Theoretical and Applied Genetics*, 129, 2281–2294.
- Hedges, S., and Lister, R. 2007. Patlıcanın morfolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkiler. *Tropical Agriculture Journal*, 11(2), 45-56.
- Hoekstra, S., van Zijderveld, M. H., and Heidekamp, F. 1992. Microspore culture of

- Hordeum vulgare* L.: The effect of density and osmolality. *Plant Cell Reports*, 11, 396–400.
- Hoagland, D. R., and Arnon, D. I. 1950. *The water-culture method for growing plants without soil* (2nd ed., Circular 347). California Agricultural Experiment Station.
- Im, S. H., Park, D. H., and Jung, S. M. 2016. The pharmacological properties of eggplant (*Solanum melongena*). *Journal of Medicinal Plants*, 33(5), 210-221.
- Indrianto, A., Pagalla, D. B., Maryani, M., and Semiarti, E. 2020. Induction of microspore embryogenesis of eggplant (*Solanum melongena* L.) ‘Gelatik’. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 5(2), 124–131.
- Islam, S.M.S. and Tuteja, N. 2012. Enhancement of androgenesis by abiotic stress and other pretreatments in major crop species. *Plant Sci.* 182: 134-144.
- Kasha, K. J., Maluszynski, M., and Szarejko, I. 2003. Doubled haploids and transgenic plants. In M. Maluszynski, K. J. Kasha, B. P. Forster, and I. Szarejko (Eds.), *Doubled Haploid Production in Crop Plants* (pp. 1–5). Springer.
- Kasperbauer, M. J., and Wilson, J. A. 1979. Association between bud/anther size and microspore developmental stage in soybean and other species. *HortScience*, 14, 929–930.
- Karakullukçu, M., and Abak, K. 1992a. Response of four eggplant (*Solanum melongena* L.) genotypes (“Halep Karası”, “Adana Topağı”, “Birecik Yerlisi”, “Black Beauty”) to anther culture for haploid plant production.
- Karakullukçu, T., and Abak, K. 1993a. Mikrospor kültüründe tomurcukların gelişim aşamalarının belirlenmesi. *Acta Horticulturae*, 301, 53-61.
- Karakullukçu, T., and Abak, K. 1993b. Patlıcanda (*Solanum melongena* L.) anter kültürü üzerine bir araştırma II. Şeker ve büyüme düzenleyicilerinin etkileri. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8(1), 115–124.
- Kaloo, G. 1988. Eggplant (*Solanum melongena* L.). In G. Kaloo (Ed.), *Genetic Improvement of Vegetable Crops* (Vol. III, pp. 587–604). Pergamon Press.
- Kaloo, G. 1993. Eggplant (*Solanum melongena* L.). In G. Kaloo (Ed.), *Genetic Improvement of Vegetable Crops* (pp. 587–604). Pergamon Press.
- Kashyap, V., Kumar, S. V., Collonnier, C., Fusari, F., Haicour, R., Rotino, G. L., Sihachakr, D., and Rajam, M. V. 2003. *Biotechnology of eggplant*. *Scientia Horticulturae*, 97(1), 1–25.
- Lantos, C., Juhasz, A.G., Somogyi, G., Otvos, K., Vagi, P., Mihály, R., Kristof, Z., Somogyi, N. and Pauk, J. 2009. Improvement of isolated microspore culture of pepper (*Capsicum annuum* L.) via co-culture with ovary tissues of pepper or wheat. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 97: 285–293.
- Lantos, C., Lehocski-Krsjak, S., and Pauk, J. 2022. Induction of *in vitro* androgenesis in anther culture of recalcitrant einkorn (*Triticum monococcum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 150(2), 417-426.
- Lichter, R. 1982. Mikrospor kültürü için NLN ortamının optimizasyonu. *Plant Physiology*, 30(5), 1375-1382.

- Lo Scalzo, R., et al. 2016. *Title on antioxidant and phenolic composition of eggplant* (review context on economic importance).
- Maraschin, S. F., de Priester, W., Spaink, H. P., and Wang, M. 2005b. Androgenic switch: an example of plant embryogenesis from the male gametophyte perspective. *Journal of Experimental Botany*, 56(417), 1711–1726.
- Miah, M. A. T., Miyoshi, K., and Moriya, H. 1985. Effects of bud size and culture medium on the induction of androgenesis in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 54(4), 466–473.
- Miyoshi, S. 1996. The effect of pre-treatment and culture conditions on microspore culture in *Solanum melongena* L. *Journal of Plant Physiology*, 43(1), 53–58.
- Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497.
- Naeem, M. Y., and Ugur, S. 2019. Nutritional content and health benefits of eggplant. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7(Sp. 3), 31–36.
- Nitsch, J. P. 1972. Haploid plants from pollen. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*, 67, 3–18.
- Olmedilla, A. 2010. Microspore embryogenesis. In E. C. Pua and M. R. Davey (Eds.), *Plant developmental biology – biotechnological perspectives: Volume 2* (pp. 17–36). Springer-Verlag.
- Özdemir, B. 2012. *The effects of ovary co-culture system to induce haploid embryo formation on eggplant (Solanum melongena L.) microspore culture* [Master's thesis, Akdeniz University]. Akdeniz University, Institute of Natural and Applied Sciences.
- Özdemir Çelik, B., and Onus, A. N. 2019. *Effect of genotype on microspore culture of eggplant (Solanum melongena L.)*. *Acta Horticulturae*, 1282, 567–573.
- Parra-Vega, V., Seguí-Simarro, J. M., and Nuez, F. 2012. Stress treatments and in vitro culture conditions influence microspore embryogenesis and growth of callus from anther walls of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 112(3), 353–360.
- Plazas, M., Andújar, I., Vilanova, S., Hurtado, M., Gramazio, P., Herraiz, F. J., and Prohens, J. 2013. *Breeding for chlorogenic acid content in eggplant: Interest and prospects*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(1), 26–35.
- Raghavan, V. 1986. *Embryogenesis in Angiosperms: A developmental and experimental study*. Cambridge University Press.
- Reynolds, T. L. 1997. Pollen embryogenesis. *Plant Molecular Biology*, 33(1), 1–10.
- Rivas-Sendra, A., Corral-Martínez, P., Camacho-Fernández, C., and Seguí-Simarro, J. M. 2015. *Improved regeneration of eggplant doubled haploids from microspore-derived calli through organogenesis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 122(3), 759–765.
- Rivas-Sendra, A., Seguí-Simarro, J. M. and Yau, Y. 2017. Patlıcan (*Solanum*

- melongena* L.) anter kültüründe embriyojenik yanıtların analizi ve genotipik farklar. *Horticulture Research*, 50(2), 201-208.
- Rotino, G. L., Lo Scalzo, R., Sihachakr, D., and Rizza, F. 1987. Anther culture in eggplant (*Solanum melongena* L.): Influence of genotype and culture conditions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 11(1), 13-27.
- Rotino, G.L. 1996. Haploidy in eggplant. In S.M.Jain, S.K. Sopory, and R.E. Veilleux (Eds.), *In vitro haploid production in higher plants* (Vol. 3, pp. 115-141). Kluwer Academic Publishers.
- Rudolf, K., Reschke, M., and Winkelmann, T. 1999. Genetic variation in anther culture response in *Datura*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 57, 45-51.
- Salas, P., Prohens, J., Seguí-Simarro, J. M., and Plazas, M. 2011. Evaluation of androgenic competence through anther culture in common eggplant and related species. *Euphytica*, 182, 261-274.
- Salas, P., Rivas-Sendra, A., Prohens, J. and Segui-Simarro, J.M. 2012. Influence of the stage for anther excision and heterostyly in embryogenesis induction from eggplant anther cultures. *Euphytica*, 184:235-250.
- Seguí-Simarro, J. M., and Nuez, F. 2005. Anther culture and induction of androgenesis in tomato: a review. *Physiologia Plantarum*, 133(5), 38-44.
- Seguí-Simarro, J. M., and Nuez, F. 2008. How microspores transform into haploid embryos: Changes associated with embryogenesis induction and progression. *Physiologia Plantarum*, 134(1), 1-12.
- Sekara, A., Cebula, S., and Kunicki, E. 2007. *Cultivated eggplants—origin, breeding objectives and genetic resources: a review*. *Folia Horticulturae*, 19(1), 97-114.
- Shariatpanahi ME, Bal U, Heberle-Bors E, Touraev A 2006. Stresses applied for the re-programming of plant microspores towards *in vitro* embryogenesis. *Physiol Plant* 127: 519-534
- Shmykova, E., and Safonov, Y. 2021. Gelişmiş mikrospor kültürü teknikleri ve ısı stresinin bitki gelişimi üzerine etkisi. *Plant Stress Management Journal*, 14(2), 105-113.
- Summers, W. L., Jaramillo, J., and Bailey, T. 1992. Microspore developmental stage and anther length influence the induction of tomato anther callus. *HortScience*, 27(7), 838-840.
- Tajik, H., et al. 2017. Eggplant glycoalkaloids and chlorogenic acid induce apoptosis in leukemia and lung cancer cells. *Food Research International*, 100, 221-227.
- Touraev, A., Pfosser, M. and Heberle-Bors, E. 2001. The microspore: a haploid multipurpose cell. *Adv Bot Res.*, 35:53-109.
- Tuberosa, R., Saccardo, F., and Marani, A. 1987. Anther culture of eggplant (*Solanum melongena* L.): Influence of genotype, season, and culture conditions. *Euphytica*, 36(2), 457-466.
- Tuncer, H. 2010. Bitki doku kültürü ve mikrospor kültüründe kullanılan teknikler. *Botanical Studies*, 48(1), 50-59.

- Türkiye İstatistik Kurumu. 2024. *Bitkisel ürün denge tabloları, sebzeler 2000/'01–2023/'24*.
- Wang, Y., Tang, W., and Xie, Y. 2000. Embryogenesis and plant regeneration from isolated microspores of Chinese cabbage (*Brassica campestris ssp. pekinensis*). *Plant Cell Reports*, 19, 1035–1040.
- Weese, T. L., and Bohs, L. 2010. Phylogenetic relationships within the *Solanum* genus: implications for origin and domestication of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Taxon*, 59(1), 49–56.
- Vural, G. E., and Ari, M. M. 2020. *Triple synergistic effect of maltose, silver nitrate and activated charcoal on high embryo yield of eggplant (Solanum melongena L.) anther cultures*. *Scientia Horticulturae*, 272, Article 109472.
- Zarsky, V., Garrido, D., Yang, H., and Weterings, K. 1992. Expression of *Arabidopsis thaliana* B-type cyclin genes. *Plant Molecular Biology*, 20(6), 1121–1132.

ÖZGEÇMİŞ

Simge YILMAZ

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2022-2025	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2018-2022	Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya