

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**PATLİCAN (*Solanum melongena* L.) ANTER KÜLTÜRÜNDE BAZI BÜYÜME
DÜZENLEYİCİLERİNİN HAPLOİD BİTKİ REJENERASYONU ÜZERİNE
ETKİSİ**

Vasco Eddie TEAH

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2025

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PATLİCAN (*Solanum melongena* L.) ANTER KÜLTÜRÜNDE BAZI BÜYÜME
DÜZENLEYİCİLERİNİN HAPLOİD BİTKİ REJENERASYONU ÜZERİNE
ETKİSİ**

Vasco Eddie TEAH

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FYL-2025-6808 nolu proje ile desteklenmiştir.

HAZİRAN 2025

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PATLİCAN (*Solanum melongena* L.) ANTER KÜLTÜRÜNDE BAZI BÜYÜME
DÜZENLEYİCİLERİNİN HAPLOİD BİTKİ REJENERASYONU ÜZERİNE
ETKİSİ**

Vasco Eddie TEAH

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 01/07/2025 tarihinde jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Hüseyin UYSAL (Danışman)	{.....}
Prof. Dr. Faik KANTAR	{.....}
Doç. Dr. Emre SEVİNDİK	{.....}

ÖZET

PATLICAN (*Solanum melongena* L.) ANTER KÜLTÜRÜNDE BAZI BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİNİN HAPLOİD BİTKİ REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİSİ

Vasco Eddie TEAH

Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hüseyin UYSAL

Haziran 2025; 45 sayfa

Patlıcan (*Solanum melongena* L.), Solanaceae familyasına ait önemli bir tür olup, vitamin, mineral ve karbonhidrat açısından zengin, ekonomik değeri yüksek bir sebzedir. Bitkinin kromozom sayısı $2n = 2x = 24$ olup dünyada en çok üretilen sebzeler arasında beşinci sırada yer almaktadır. Türkiye'de patlıcan hem açık tarlalarda hem de seralarda yetiştirilmekte olup, üretimini ve kalitesini sınırlayan birçok problem bulunmaktadır. Türkiye'de önemli bir tarım ürünü olmasına rağmen, patlıcan ıslahı çoğunlukla klasik ıslah yöntemleriyle yapılmaktadır. Bunun başlıca nedeni, klasik ıslah yöntemlerine entegre edilebilecek etkili biyoteknolojik tekniklerin yeterince geliştirilmemiş olmasıdır. Normalde 10-15 yıl gibi uzun bir süreç gerektiren klasik ıslah yöntemleri, uygun biyoteknolojik yöntemlerle desteklendiğinde bu süre 1/3 oranında kısaltılabilmektedir.

Bu çalışmada, haploid embriyo indüksiyonu için verimli bir protokol geliştirmek amacıyla Aydın Siyahı çeşidi kullanılmıştır. Bu amaçla anter kültürü çalışması için farklı konsantrasyonlarda (1, 2, 3, 4, 5 mg/l) BAP, IAA ve GA₃ bitki büyüme düzenleyicileri MS FeNa-EDTA (PhytoTech Labs Katalog No: 5800) besi ortamına eklenmiş ve bu düzenleyicilerin patlıcan anter kültürü üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Anterler kültüre alınmadan önce, en uygun mikrospor gelişim evreleri belirlenmiştir. Uygun evredeki tomurcuklar günlük olarak toplanmış ve +4°C'de 24-36 saat süreyle soğuk ön işlem uygulanmıştır. Hazırlanan çeşitli besi ortamlarının etkinliği; direk rejenerasyon (bitki), sadece kök geliştiren anter, kallus oluşumu, kallustan sürgün oluşumu, sadece kök oluşturan kallus ve kallustan köklü sürgün oluşumu parametreleriyle değerlendirilmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, hormon uygulanmış ortamlarda değişen seviyelerde kallus indüksiyonu olduğunu, en yüksek oranların 5 mg/l GA₃ (%15,2) ve 3 mg/l BAP (%11,8) içeren ortamlarda gözlemlendiğini ortaya koymuştur. IAA ve GA₃ içeren ortamlarda sürgün oluşumu gözlenmezken, 3 mg/l BAP içeren ortamda sürgün oluşumu (%22,04) gözlenmiştir. BAP 3mg/l uygulamasında sürgün rejenerasyonu gerçekleşmiş olsa da, bu yapılar kök oluşturmamıştır. Bununla birlikte, bu çalışmada sunulan anter kallusu ve sürgün sonuçları, bu büyüme düzenleyicilerinin (BAP, IAA ve GA₃) etkilerini ortaya koymasından önemlidir. Bu bulgular, uygulanan hormonların morfogenezini kısmen indüklediğini, ancak Aydın Siyahı çeşidinin düşük androjenik potansiyele sahip olabileceğini veya protokol optimizasyonuna ihtiyaç duyulabileceğini göstermektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: Androgenez, Anter Kùltürù, Haploidi, Hormonlar, Patlıcan, *Solanum melongena* L.

JÜRİ: Doç. Dr. Hüseyin UYSAL

Prof. Dr. Faik KANTAR

Doç. Dr. Emre SEVİNDİK



ABSTRACT

EFFECT OF SOME GROWTH REGULATORS ON HAPLOID PLANT REGENERATION IN EGGPLANT (*Solanum melongena* L.) ANTHER CULTURE

Vasco Eddie TEAH

MSc. Thesis, Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hüseyin UYSAL

June 2025; 45 Pages

Eggplant (*Solanum melongena* L.) is an important species belonging to the Solanaceae family, rich in vitamins, minerals and carbohydrates, and is a vegetable with great economic value. The chromosome number of the plant is $2n = 2x = 24$ and it ranks fifth among the most produced vegetables in the world. Eggplant is grown in both open fields and greenhouses in Türkiye, and there are many problems that limit its production and quality. Although it is an important agricultural product in Türkiye, eggplant breeding is mostly done with classical breeding methods. The main reason for this is that effective biotechnological techniques that can be integrated into classical breeding methods have not been developed sufficiently. Classical breeding methods, which normally require a long process of 10-15 years, can be shortened by 1/3 when supported by appropriate biotechnological methods.

In this study, Aydın Siyahı variety was used to develop an efficient protocol for haploid embryo induction. For this purpose, BAP, IAA and GA₃ plant growth regulators were added to MS FeNa-EDTA (PhytoTech Labs Catalog No: 5800) medium at different concentrations (1, 2, 3, 4, 5 mg/l) for anther culture study and the effects of these regulators on eggplant anther culture were investigated. Before the anthers were cultured, the most suitable microspore development stages were determined. Buds at the appropriate stage were collected daily and cold pretreatment was applied at +4°C for 24–36 h. The effectiveness of the various nutrient media prepared was evaluated on the parameters of direct regeneration (plant), anther that develops only root, callus formation, shoot formation from callus, callus that's develops only root, and rooted shoot formation from callus.

The results obtained from this study revealed that there was callus induction at varying levels in hormone-applied media, with the highest rates observed in media containing 5 mg/l GA₃ (15.2%) and 3 mg/l BAP (11.8%). While no shoot formation was observed in media containing IAA and GA₃, shoot formation was observed in media containing 3 mg/l BAP (22.04%). Although shoot regeneration occurred in 3 mg/l BAP, these structures did not form roots. However, the anther callus and shoot results presented in this study are important in terms of revealing the effects of these growth regulators (BAP, IAA and GA₃). These findings indicate that the applied hormones partially induced morphogenesis, but the Aydın Siyahı variety may have low androgenic potential or protocol optimization may be needed.

KEYWORDS: Androgenesis, Anther Culture, Eggplant, Haploidy, Hormones, *Solanum melongena* L.

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Hüseyin UYSAL

Prof. Dr. Faik KANTAR

Assoc. Prof. Dr. Emre SEVİNDİK



ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, Aydın Siyahı çeşidi kullanılarak patlıcanda (*Solanum melongena* L.) haploid bitki elde etme oranını artırmak amacıyla yürütülmüştür. Bu çalışmanın temel odağı, başta patlıcan olmak üzere *Solanaceae* familyasına ait bitkilerde ıslah çalışmalarını önemli ölçüde hızlandırabilecek DH teknolojilerinin geliştirilmesine yönelik devam eden çabalara katkı sağlamaktır. Farklı hormon uygulamaları altında anter kaynaklı dokuların morfogenetik tepkilerinin incelenmesiyle bu araştırma, androjenez zor çeşitlerde iyileştirmeye yönelik protokol optimizasyonu ve genotipe özgü stratejilere dair önemli bilgiler sunmaktadır. Ayrıca, özellikle yerel çeşitlerde patlıcanda androjenik yanıtların anlaşılması ve iyileştirilmesine yönelik devam eden bilimsel çabalara katkıda bulunmaktadır. Elde edilen bulgular, özellikle kallus ve sürgün oluşumuyla ilgili veriler, mevcut in vitro rejenerasyon tekniklerinin hem olanaklarını hem de sınırlılıklarını vurgulamakta ve genotip-duyarlı protokollere olan ihtiyacı ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar, bitki doku kültürü ve haploid biyoteknoloji alanındaki gelecek araştırmalar için bir temel oluşturabilir.

Ancak, araştırma süreci hem akademik açıdan kazanımlı hem de kişisel olarak zorlayıcı olmuştur. Bilimsel ve teknik zorluklarla karşılaşmam, değerli öğrenme deneyimleri sağladı. Kişisel düzeyde ise, bu tezi hazırlarken yaşadığım güçlükler yalnızca akademik değil, aynı zamanda duygusal boyuttaydı. Araştırmanın en yoğun evresinde babamı kaybetmem, motivasyonumu ve odaklanmamı derinden etkilemiştir. Onun vefatı kalbimde derin bir boşluk bıraktı, ancak aynı zamanda bu tezi onun anısına tamamlama konusunda sessiz bir güç ve kararlılık kaynağı olmuştur. Ayrıca, ailemden uzun süreli ayrılığın yarattığı özlem ve yalnızlıkla başa çıkmak, akademik disiplinin ötesinde bir direnç gerektirdi; ancak bu süreç, azmin ve bağlılığın önemini bir kez daha hatırlatmıştır.

Tüm bu zorluklara rağmen, patlıcan biyoteknolojisine dair bilimsel bilgiye küçük de olsa bir katkı sağlayabilme fırsatına sahip olduğum için minnettarım. Bu tezin, bitki biyoteknolojisi, doku kültürü ve haploid teknolojiler yoluyla bitki ıslahı alanında çalışan gelecekteki araştırmacılar için hem bilimsel bir kaynak hem de kişisel direnç, gelişim ve amaç yolculuğunun bir ifadesi olarak değer taşımasını umuyorum. Ayrıca, bir ölçüde de olsa, patlıcan doku kültürü ve başarısını etkileyen faktörlere dair bilimsel anlayışa katkı sağlamasını temenni ediyorum.

Önce Tanrı, tez çalışmama değerli katkılarından ve çalışmam süresince boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaştığı için danışmanım Doç. Dr. Hüseyin UYSAL'a en içten teşekkürlerimi sunmak isterim. Bana sağladığı destek ve rehberlik, karşılaştığım zorlukların üstesinden gelmemde ve bu çalışmayı tamamlamamda belirleyici bir rol oynadı. Aynı zamanda istatistiksel analizler konusundaki desteklerinden ötürü Doç. Dr. Mehmet TEKİN ve Doç. Dr. Samet ABACI'ya şükranlarımı sunarım. Ayrıca, Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü'nde görev yapan akademik ve idari personele, bilgi ve destekleri için teşekkür ederim.

Yüksek Lisansımı Tarımsal Biyoteknoloji alanında tamamlama fırsatını sağladığı için Türkiye Bursları'na teşekkür ederim. Ayrıca, bu çalışmanın başarılı bir şekilde tamamlanması için gerekli malzemelerin temininde maddi destek sağlayan Akdeniz

Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne şükranlarımı sunarım. Son olarak, sevgili annem Albertha Jordan'a ve kardeşlerime, eğitim sürecim boyunca bana gösterdikleri sarsılmaz destek ve duaları için sonsuz teşekkür ederim. Türkiye'deki eğitim sürecimi unutulmaz bir yaşam deneyimine dönüştüren arkadaşlarıma ve aile üyelerime de teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	7
2.1. Haploidizasyon ve Double Haploid.....	7
2.2. Androjenez ve Anter Kültürü.....	9
2.3. Androjenik Bazlı Anter Kültürünün Başarısını Etkileyen Faktör.....	11
2.3.1. Genotip	11
2.3.2. Mikrosporların ve tomurcukların gelişim aşamaları	12
2.3.3. <i>İn vitro</i> kültür koşulları.....	14
2.3.4. Ön işlem (kültüre uygulanan ön sıcaklık şoku).....	15
2.3.5. Donör bitkilerin fizyolojik durumu ve büyüme koşulları.....	16
2.3.6. Yüzey sterilizasyonu ve anter eksizyonu.....	17
3. MATERYAL VE METOT	18
3.1. Materyal.....	18
3.2. Metot.....	18
3.2.1. Bitki materyallerinin yetiştirilmesi.....	18
3.2.2. Araştırmada kullanılan besi ortamları	19
3.2.3. Tomurcukların uygun dönemlerinin belirlenmesi ve toplanması.....	20
3.2.4. Anterlerin sterilizasyonu.....	21
3.2.5. Kültürel çalışmaları ve bitki rejenerasyonu.....	21
3.2.6. Alınan gözlem, sayım ve ölçümler	21
3.2.7. Verilerin değerlendirilmesi	22
4. BULGULAR	23
4.1. <i>İn Vitro</i> Anter Kültürüne Ait Sonuçlar.....	23
4.2. İstatistiksel Analiz Sonuçları	25
5. TARTIŞMA	27
6. SONUÇ.....	30

7. KAYNAKLAR	31
ÖZGEÇMİŞ	



AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Patlıcan (*Solanum Melongena* L.) Anter Kültüründe Bazi Büyüme Düzenleyicilerinin Haploid Bitki Rejenerasyonu Üzerine Etkisi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

.... /..... / 2025

Vasco Eddie TEAH



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
atm	: Atmosfer
°C	: Santigrad derece
cm	: Santimetre
g	: Gram
g/L	: gram/litre
ha	: Hektar
KJ	: Kilojul
mg	: miligram
mg/L	: miligram/litre
ml	: mililitre
UV	: Ultraviyole

Kisaltmalar

2, 4-D	: Dichlorophenoxy acetic acid
ABA	: Absizik asit
ACC	: 1aminocyclopropane-1-carboxylic acid
AgNO ₃	: Gümüş Nitrat
AVG	: Aminoethoxy-vinyl glycine
BAP	: Benzil amino purin
BGD	: Bitki gelişim düzenleyicisi
DAPI	: 4',6-diamidino-2-phenylindole
DH	: Double haploid

FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
F1	: Birinci nesil evlat
GA ₃	: Giberallik asik
HCl	: Hidroklorik asik
IAA	: İndol-3-asetik asik
MS	: Murashige ve Skoog (1962) besin ortamı
NAA	: Naftalen asetik asit
NaOH	: Sodyum hidroksit
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Dünya Sebze Merkezi germplazm koleksiyonundaki <i>S. melongena</i> genotiplerinin bazı farklı meyve şekilleri, renkleri	2
Şekil 1.2. Dünyadaki en fazla 10 patlıcan üreticisi ilk 10 ülke	4
Şekil 1.3. Türkiye’de bölgelere göre patlıcan üretim alanları	5
Şekil 2.1. (a) Patlıcan çiçek tomurcuklarının gelişme aralığı. (b) Diseksiyon için yapılacak enine ve boyuna kesimlerin 1 ve 2 kesikli çizgilerle işaretlendiği sağlam tomurcuk. (c) Anter birikimini gösteren parçalanmış tomurcuk	13
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan donör bitki genotipinin görüntüleri	18
Şekil 3.2. Anterlerin uygun tomurcuk döneminin belirlenmesi	21
Şekil 4.1. Farklı hormonal uygulamalar altında kallus indüksiyonu	24
Şekil 4.2. Çalışmadan elde edilen kallus görüntüleri	24
Şekil 4.3. Çalışmada kalluslardan elde edilen sürgün görüntüleri	25
Şekil 4.4. Farklı hormon uygulamalarının kallustan sürgün rejenerasyonuna etkisi ...	25
Şekil 4.5. Araştırma kapsamında kaydedilen verilerin SPSS programı ile analizi sonucu elde edilen kallus rejenerasyonlarına ilişkin grafik	26

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Patlıcanda 100-gram başına besin maddeleri ve içerikleri	3
Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan besin ortamının içeriği	19
Çizelge 4.1. Araştırmaya konu besi ortamlarında kültüre alınan anter sayıları elde edilen kallus sayıları, kalluslardan oluşan bitki sayıları ve başarı oranlarına ilişkin	23
Çizelge 4.2. Araştırmada kullanılan besi ortamlarında oluşan çıkan kallus rejenerasyonu ve kalluslardan oluşan bitki rejenerasyonlarının istatistiksel değerlendirmesi	26



1. GİRİŞ

Solanaceae (Patlıcangiller) familyası, önemli tarımsal birçok bitki türünü içermektedir. Ekonomik değere sahip bitkilerin üçüncü büyük grubudur ve kültüre alınmış ekili tür sayısı bakımından en büyük sebze grubunu oluşturmaktadır (Mueller vd., 2005; Şekara vd., 2007; Vorontsova vd., 2013). Solanaceae taksonları çok çeşitli, olup; 100 cins ve yaklaşık 2500-4000 türden oluşur (Olmstead vd., 2008; Knapp ve Peralta, 2016). Solanaceae familyasından *Solanum cinsi* yaklaşık 2300 türden oluşur. Bu sayı Solanaceae familyasının neredeyse yarısını oluşturur ve çoğunlukla dünyanın tropikal ve subtropikal bölgelerinde dağılmıştır (Olmstead vd., 2008; Yang vd., 2023). Yıldırım'a (2020) göre Türkiye'de Solanaceae familyasına ait 12 cins ve 36 tür bilinmektedir.

Patlıcan (*Solanum melongena* L., $2n = 2x = 24$), dünyanın tropikal ve subtropikal bölgelerinde yenilebilir meyveleri için yaygın olarak yetiştirilen ekonomik açıdan önemli bir sebze türüdür (Rotino vd., 2014; Sharma ve Kaushik, 2021). Asya, Amerika, Avrupa ve Akdeniz havzasında yaygın olarak yetiştirilmektedir. Patlıcan, Güney Asya'da, özellikle Pakistan, Hindistan ve Bangladeş'te yaygın olarak brinjal olarak bilinir; Avrupa'da Fransızca bir kelime olan aubergine; ve Amerika'da Gine kabağı olarak isimlendirilmektedir. 'Patlıcan' terimi yalnızca *S. melongena*'ya değil, aynı zamanda her ikisi de Afrika'da yerel öneme sahip olan iki diğer ilgili tür olan Scarlet (*S. aethiopicum* L.) ve gboma'ya (*S. macrocarpon* L.) da atıfta bulunur (Daunay ve Hazra 2012; Rakha vd., 2021). Brezilya ve Karayipler gibi dünyanın bazı bölgelerinde, bu Afrika türleri, özellikle *S. aethiopicum* önemli bir öneme sahiptir (Schippers 2000; Sunseri vd., 2010; Gramazio vd., 2023).

Bitki türlerinin kökeni genellikle arkeolojik kanıtların yanı sıra yabani türlerin veya evcilleştirilmiş formdaki ataların varlığına dayanarak belirlenir. Uzun zaman önce yetiştirilen patlıcan ve yabani akrabalarının evrimsel tarihi ve biyocoğrafyası hakkında çok fazla tartışma yapılmıştır (Aubriot vd., 2018). İlk olarak Afrika, Avrupa ve Asya'da yetiştirildiğine inanılmaktadır (Daunay vd., 2001; Knapp vd., 2004; Boyacı, 2007); ancak, patlıcanın birincil kökeni Asya'nın Hint-Birmanya bölgesi olarak kabul edilirken, Hindistan ve Çin ikincil gen merkezleri olarak kabul edilmektedir (Kalloo, 1993; Meyer vd., 2012). Bununla birlikte, Vavilov (1951), *Solanum melongena*'nın Hint-Çin menşesine özgü olduğunu düşünüyordu.

Tek bir çeşit grubu içerisinde dahi patlıcan, özellikle büyüklük, renk ve şekil gibi meyve özellikleri (Şekil 1.1) ile agronomik özellikler ve farklı ortamlara adaptasyon açısından geniş bir morfolojik çeşitlilik göstermektedir (Cericola vd., 2013; Taher vd., 2017; Chapman, 2020; Kouassi vd., 2020; Ro vd., 2022; Tuzlama vd., 2022). Kültüre alınmış patlıcanlar içindeki çeşitlilik, önemli ölçüde geliştirilmiş modern çeşitlerin geliştirilmesine olanak sağlamış olup patlıcan ıslah programı için büyük ilgi gören değerli bir genetik kaynaktır (Daunay ve Hazra 2012; Gramazio vd., 2023). Ancak, bu yüksek morfolojik çeşitlilik, çoğunlukla birkaç ana gendeki, özellikle meyve özellikleriyle ilişkili olanlardaki genetik çeşitliliğin sonucudur (Daunay vd., 2004; Portis vd., 2015; Toppino vd., 2016; Mangino vd., 2021; Guan vd., 2022), bu da genotipin genel genetik varyasyonunu daraltır (Acquadro vd., 2017; Barchi vd., 2019; Liu vd., 2019).

Patlıcan çeşitleri erkenci-geççi olmaları, çevre koşullarına uyum sağlamaları, kökeni, şekli, rengi ve diğer özelliklerine göre *S. melongena* L., *S. aethiopicum* L. ve *S. macrocarpon* L. olmak üzere üç botanik varyete altında sınıflandırılmıştır (Günay, 1992; Şekara vd., 2007; Ali vd., 2011). Bununla birlikte, dünyanın birçok yerinde en yaygın olarak yetiştirilen tür olan *S. melongena* L.'nin genellikle dört alt türü olduğu düşünülmektedir. Bu türler arasında *S. melongena* var. *esculentum* Dunal (Nees) – yuvarlak, oval veya yumurta şeklinde meyveler; *S. melongena* var. *serpentinum* Desf. – uzun ince meyveler; *S. melongena* var. *depressum* L. – küçük, minyatür meyveler, cüce ve erken türler; ve *S. melongena* var. *insanum*-yabani formda, dikenli ve küçük meyveler oluşturmaktadır. Ancak bu türler renk, habitus, şekil, verimlilik ve kullanım açısından farklılık göstermektedir (Kalloo, 1993; Güvenç, 2016).



Şekil 1.1. Dünya Sebze Merkezi germplazm koleksiyonundaki *S. melongena* genotiplerinin bazı farklı meyve şekilleri, renkleri (Taher vd., 2017).

Ayrıca, 98 patlıcan genotipinden 58'inin *S. melongena*'ya, 24'ünün *S. aethiopicum*'a ve 16'sının *S. macrocarpon*'a ait olduğu keşfedilmiştir (Şekara vd., 2007; Polignano vd., 2014). Bununla birlikte, bu patlıcan türlerinin tümü, önemli farklılıklarla birlikte belirgin benzerlikler ve farklılıklar göstermektedir (Şekara vd., 2007; Ali vd., 2011).

Günümüzde patlıcan, besin içeriğinin bileşimi ve tıbbi değeri nedeniyle giderek daha iyi tanınmaktadır. Patlıcan, dünyanın en sağlıklı on gıda kaynağından biri olarak tanımlanmıştır ve dünya çapında yetiştirilen en iyi sebze türlerinden biridir (Bliss ve Elstein, 2004; Caguiat ve Hautea, 2014). İyi bir mineral, vitamin, protein, karbonhidrat, yağ vb. kaynağı olarak kabul edilmiştir (Çizelge 1.1) ve besin değeri açısından domatesle karşılaştırılabilir (Kalloo, 1993; Singh ve Kumar, 2007; Scorsatto vd., 2017; Samtiya vd., 2021). Patlıcanın meyve ve yapraklarının kan ve karaciğerdeki kolesterol seviyeleri

üzerinde düşürücü etkisi olduğu tespit edilirken, patlıcan özütü diyabet, astım ve bronşit gibi farklı tedavilerde kullanılmaktadır (Daunay *vd.*, 2007; Kaushik *vd.*, 2017).

Çizelge 1.1. Patlıcanda 100-gram başına besin maddeleri ve içerikleri (Fraikue, 2016; Naeem ve Uğur, 2019; Sharma ve Kaushik, 2021).

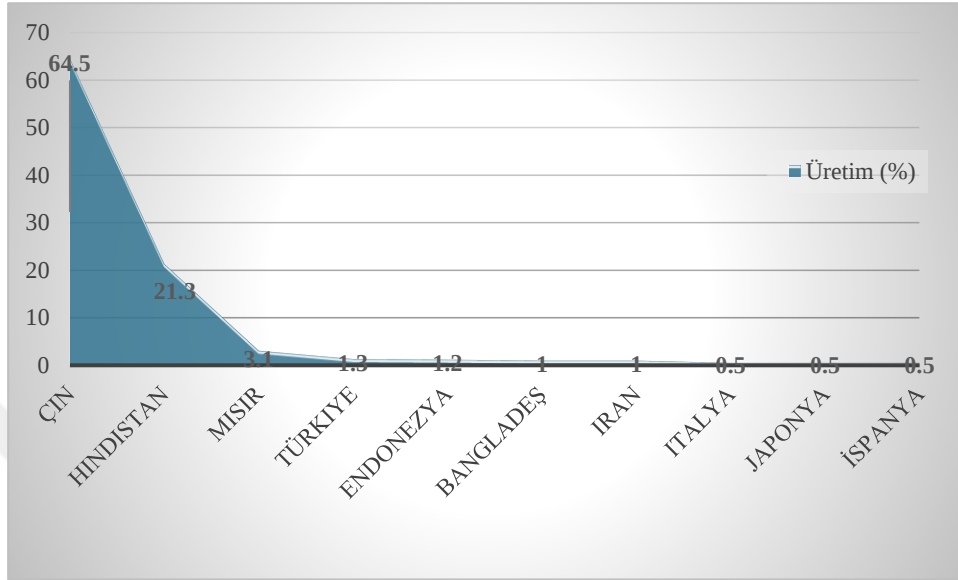
BİLEŞENLER		ÖNERİLEN GÜNLÜK ALIM (%)			
		Mineraller	mg	Vitaminler	mg
Proteinler	(%2) 0,80-1,01 g	Ca	7,4-9,0 (%1)	Vit. A	0,8 (%1)
Karbonhidratlar	(%4) 4,70-5,88 g	Fe	0,20-0,24 (%2)	Vit. B Kompleksi	18-22 (%3-6)
Enerji	(%1) 100-104 KJ	Mg	13,5-14 (%4)	Askorbik Asit	1,8-2,2 (%3)
Şekerler	2,35-3,53 g	Mn	0,20-0,25 (%11)	Vit. E	0,2-0,3 (%2)
Diyet lifi	(%9) 2,80-3,40 g	P	22,5-25 (%3)	Vit. K	2,9-3,5 (%3)
Yağ	0,18-0,20 g	K	129-130 (%5)	Niasin (B3)	0,649 (%4)
		Zn	0,10-0,16 (%2)	Riboflavin (B2)	0,04-0,11 (%3)

Ayrıca patlıcanın, insan sağlığı için faydalı olan antioksidanlar ve daha yüksek konsantrasyonda fenolik asitler gibi sağlığı teşvik eden yüksek biyoaktif bileşikler içerdiği bulunmuştur (Cao *vd.*, 1996; Braga *vd.*, 2016; Blando *vd.*, 2018; Scorsatto *vd.*, 2019). Araştırmalar, antioksidanlar ve fenolikler açısından yüksek yiyecekler yemenin, yaşlanmanın neden olduğu sağlık sorunlarını ve kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve akut solunum yolu enfeksiyonları gibi kronik hastalıkları önleme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (Friedman, 2015; Naeem ve Uğur, 2019). Ayrıca, patlıcan liflerinin mideden toksinleri ve zararlı maddeleri uzaklaştırarak sindirime yardımcı olduğu bulunmuştur ve muhtemelen anemi, ateroskleroz ve yağ dejenerasyonunun tedavisinde kullanılabilir (Siasos *vd.*, 2013; Seraj *vd.*, 2017; Ekweogu *vd.*, 2019).

Patlıcan, içeriğinde bulunan alkaloitler nedeni ile farmakolojik anlamda da biliminsanlarının dikkatini çekmiştir (McGehee *vd.*, 2000). Alkaloitler, tüm patlıcanlarda bulunan toksinlerdir ve bu maddeler yeşil bir renk tonu ve acı bir tat geliştirir, ancak pişirme alkaloitlerin azaltılmasına yardımcı olur (McGehee *vd.*, 2000). Bu nedenle eski çağlardan beri dünyada ilaç üretimi ve alternatif tıpta sıklıkla kullanılmaktadır. Örneğin, yapılan çalışmalar patlıcanın içerdiği yüksek miktarda alkaloit nedeniyle yüzyıllardır geleneksel Çin ve Hint tıbbında kullanıldığını göstermiştir (Daunay ve Janick, 2007; Daunay *vd.*, 2007). Alkaloitler farmasötik öneme sahip olsa da, aşırı seviyelerde olumsuz etkilere sahiptir ve aşırı acılığa neden olabilir.

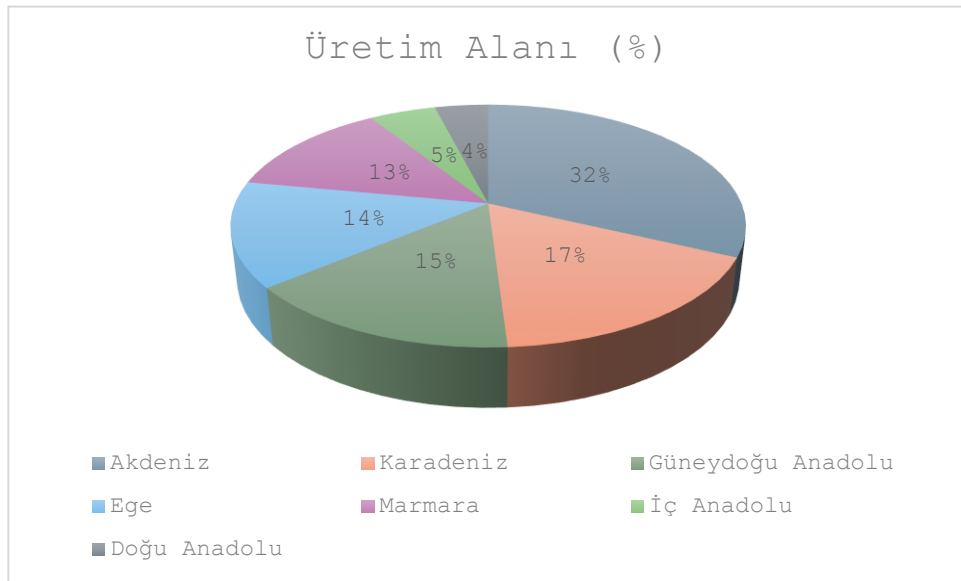
Küresel ölçekte patlıcanın ekonomik değeri ve üretimi önemli ölçüde artmıştır. Patlıcan, Solanaceae familyasında en çok yetiştirilen ve üretilen dördüncü sebze türüdür (Taher *vd.*, 2017; Mir *vd.*, 2021) ve dünya sebze üretiminde beşinci sırada yer almaktadır (FAO 2023). Patlıcanın küresel üretimi son on yılda %25,0 artarak 2012'de 47,3 milyon metrik tondan 2023'de 60,8 milyon metrik tona çıkmıştır (FAO 2023). Patlıcan üretiminin çoğu Asya'dan yapılmakta olup bunu Afrika, Orta Doğu ve Akdeniz havzası takip etmektedir (Gramazio *vd.*, 2023). FAO 2023 istatistiklerine göre, dünyanın toplam

patlıcan üretiminin %94,2'si Asya'da yapılıyor ve Çin 39,2 milyon mt (%64,5) ile en büyük üretici olurken, onu 12,8 milyon mt (%21,3) ile Hindistan takip ediyor. Türkiye, Mısır'dan sonra dünyada dördüncü sırada yer alırken, onu 0.80 (%1,32) milyon mt'luk üretimle Endonezya takip etmektedir (FAO 2023; <http://www.tuik.gov.tr/>) (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Dünyadaki en fazla 10 patlıcan üreticisi ilk 10 ülke (FAO 2023).

Türkiye, Asya'daki coğrafi konumu ve yapısı nedeniyle sebze üretimi açısından önemli merkezlerden biri haline gelmiştir. Toprak yapısındaki çeşitlilik, zengin su kaynakları ve iklim özellikleri nedeniyle geçiş bölgelerinde bile birçok sebze ürününün yetiştirilmesine elverişlidir (Vural, 2019; Yıldırım, 2020). Ancak patlıcan üretimi iklim ve toprak istekleri ve zorlu bakım koşulları nedeniyle her üretici tarafından kolaylıkla tercih edilmemektedir. TÜİK verilerine (2024) göre, 2023 yılında Türkiye'deki toplam sebze üretiminin yaklaşık 1 milyon tonunu patlıcan oluşturmuş olup, toplam üretim içindeki payı %2,6'dır. Akdeniz bölgesi, Türkiye patlıcan üretiminin yaklaşık 1/3'ünü oluşturan patlıcan üretiminin en yüksek olduğu bölgedir (Vural, 2019; Yıldırım, 2020) (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Türkiye’de bölgelere göre patlıcan üretim alanları.

Patlıcan, tropikal iklim bölgesinde çok yıllık bir ürün olarak yetiştirilirken, dünyanın serin iklim bölgelerinde tek yıllık bir ürün olarak yetiştirilir. Türkiye’de açık alanda yaz sebzesi, seralarda ise kış ve sonbahar sebzesi olarak yetiştirilmektedir (Vural, 2019; Yıldırım, 2020). Patlıcanın ekonomik değeri yüksektir ve Türkiye’de daha çok açık alanda yetiştirilir. Ancak 1970’li yılların sonunda sera ve tohum teknolojilerinin kullanılmaya başlanmasından itibaren serada üretime başlanmış ve yıl boyunca üretilen sebzelerden biri haline gelmiştir (Vural *vd.*, 2019). Seracılıkta yerel çeşitlerle başlayan üretim, son yıllarda yerini F1 hibrit tohumlara bırakmıştır.

Günümüzde patlıcan yetiştiriciliğinde hibrit çeşitlerin kullanımı önemli ölçüde artarken, yerel çeşitler azalmış ve bazı yerel çeşitlerin yok olmasına yol açmıştır (Boyacı *vd.*, 2010; Boyacı ve Topçu, 2014; Vural *vd.*, 2019). Seralarda yetiştirilen çeşitlerin verimi F1 hibrit çeşitleri sayesinde artmıştır. Bunun nedeni, özellikle verim açısından standart çeşitlerle karşılaştırıldığında, ekonomik karakter ve değerler açısından önemli bir canlılık sergilemiş olmalarıdır (Sambandam, 1964; Khan *vd.*, 2022).

Bu nedenle patlıcanda ana ıslah yöntemi F1 hibrit tohum ıslahı olmuştur. Hibrit tohum üretimi, ana hat olarak kullanılacak önceki nesil saf, homozigotluk seviyesi yüksek hatlara dayanmaktadır. Saf (homozigot) hatlar için ıslah 6-12 nesil sürmesine ve akrabalı yetiştirme nedeniyle türden türe değişmesine rağmen, bitki ıslahçıları üreme süresini kısaltabilen ve sadece bir veya iki nesilde %100 saf hatlar sağlayabilen haploidizasyon tekniklerini giderek daha fazla benimsemiştir (Ellialtıoğlu *vd.*, 2012; Prigge *vd.*, 2012; Vural *vd.*, 2019; Khan *vd.*, 2022). Bununla birlikte, saf hatların daha hızlı elde edilebilmesi için etkili biyoteknolojik tekniklerin klasik ıslah sistemine entegre edilmesi gerekmektedir. Modern ıslah teknikleri arasında yer alan haploidi teknikleri, özellikle bir veya iki nesilde %100 homozigot saf hatların üretilmesine olanak sağladığı için yetiştiriciler için çok büyük avantajlar sağlayan biyoteknolojik tekniklerden biridir.

Patlıcan haploidi çalışmalarında, haploid bitkiler elde etmek için androjenez teknikleri, özellikle anter kültürü kullanılmıştır. Bu işlem ıslah sürecinde klasik ıslaha karşılaştırıldığında 5-6 yıl gibi bir zaman tasarrufu sağlar. Bu nedenle, bu çalışma patlıcanda anter kültürü yöntemi kullanılarak haploid bitki rejenerasyonu üzerine bazı bitki büyüme düzenleyicilerinin [6-Benzil amino purin (BAP), İndol-3 asetik asit (IAA) ve Giberallik asit (GA_3)] etkilerini araştırmayı ve ortaya koymayı amaçlamaktadır. Geliştirilen protokol ile haploid bitkilerden elde edilen kromozom iki katına çıkarılarak DH bitkileri elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu teknik kullanılarak kısa sürede haploid ve DH bitkiciklerin elde edilme olanakları araştırılmıştır.



2. KAYNAK TARAMASI

Son zamanlarda, biyoteknolojideki ilerlemeler, ıslah programında amaçlara ulaşmak, gereken süreyi kısaltmak ve verimliliği artırmak için güçlü ve değerli bir araç sunmuştur ve ayrıca ekonomik ve ekolojik hedeflere hitap etmektedir (Kashyap *vd.*, 2003). Biyoteknolojide haploid ve double haploid (DH) teknolojisi gibi yöntemler, geleneksel ıslah yöntemlerini hızlandırmak ve tamamlamak için ıslahta yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin F1 melez tohumları üretmek için kullanılması, çiftçiler ve yetiştiriciler için giderek artan bir öneme sahip olması nedeniyle bitki ıslahının en popüler yönlerinden biridir (Ribarits *vd.*, 2009). Yetiştiriciler ve ticari üreticiler, melez canlılığı ve beraberinde getirdiği ıslah geliştirme nedeniyle melez tohum üretmeye daha fazla ilgi duyma eğilimindedir.

2.1. Haploidizasyon ve Double Haploid

Haploid üretiminin genetik ve ıslahdaki etkisi ve önemi uzun zamandır bilinmektedir. Haploidler, gametik kromozom sayısını ($2n$ yerine n) taşıyan bitkilerdir (sporofitler). Bunlar doğada kendiliğinden veya çeşitli indüksiyon teknikleri sonucu ortaya çıkabilen bitkilerdir (Murovec ve Bohanec, 2012). Bununla birlikte, kendiliğinden haploid oluşumunun sıklığı çoğu bitki türünde çok düşüktür ve bunları doğada belirlemek kolay değildir. Sıklık türlere ve hatta genotiplere göre değişmekle birlikte %0,001-0,1 arasındadır (Dumas de Vaulx *vd.*, 1981).

Haploid çalışmaları kavramı ilk olarak 1921 yılında Bergner tarafından *Datura stramonium* L.'de kendiliğinden haploid bitkilerin keşfi ile başlamış ve Blakeslee *vd.* (1922) tarafından rapor edilmiş ve tanımlanmıştır. Ayrıca Kostoff (1929) tarafından *Nicotiana tabacum* x *Nicotiana glauca* türlerinin melezlenmesiyle doğal haploid bitkilerin elde edildiği bildirilmiştir. 2003 itibarıyla, 250'den fazla bitki türünde haploid bitkilerin indüklenmesi ve elde edilmesi için protokoller uygulanmaktadır (Maluszynski *vd.*, 2003). Bununla birlikte, farklı araştırmacılar haploid bitkiler elde etmek için türler arası hibridizasyonun yanı sıra geç tozlaşma, farklı sıcaklık şokları, ışınlanmış polenle tozlaşma, UV ve X-ışınlarını kullanmışlardır (Yeung *vd.*, 1981; Bajaj, 1990; Pierik, 1997). Bugüne kadar patlıcanda haploid üretimle sonuçlanan kendiliğinden partenogenez gözlemlenmemiştir.

Morfolojik özellikler açısından normal diploidlerinden nispeten daha küçük olan haploidler, eşeysel kısırlık nedeniyle tohum üretemezler (Çağlar ve Abak, 1999; Ellitiyeoğlu *vd.*, 2001; Dunwell, 2010; Murovec ve Bohanec, 2012). Bu yüzden, double haploid olabilen yeni haploid bireylerin yapay üretimi, doku kültürü sürecinde kendiliğinden veya kimyasal ajanlar kullanılarak normal ploidi seviyelerini ($2n$) yeniden oluşturabilir. Bu işleme DH veya dihaploidizasyon denir (Ellialtıoğlu *vd.*, 2001). İkinci kromozom seti orijinaliyle aynı olduğundan, bunlar gerçek DH'lerdir ve tüm özellikler için %100 homozigottur. Organizmanın ploidi seviyesine bağlı olarak, bir haploid doku her bir homolog kromozomun birden fazla kopyasına sahip olabilir (Bat *vd.*, 2021).

Günümüzde, haploid bitkilerin değeri ve öneminin yanı sıra doku kültürü laboratuvarlarında onlardan kaynaklanan DH'lerin tamamen homozigotik seviyeleri (%100), modern ıslah programlarında çok sayıda bitki türü için artmaktadır (Nowaczyk

ve Kisiała, 2006; Başay ve Ellialtıoğlu, 2013). Haploidler kendileri çalışmak için yararlı deneysel sistemlerdir ve iki ana nedenden dolayı arzu edilirler; çekinik mutasyonların etkileri, çünkü fenotipleri baskın aleller tarafından maskelenmez ve kromozomlarını kolşisin ile iki katına çıkararak homozigot bireylere dönüştürülebilir (Ellialtıoğlu *vd.*, 2012; Başay ve Ellialtıoğlu, 2013). Bununla birlikte, asıl faydaları, DH hatlarını elde etmek için başlangıç materyali olarak hizmet etmektedir.

DH teknolojisinin önemi daha iyi anlaşılmış ve kullanımı giderek yaygınlaşmıştır. Hibrit tohum üretimi için gerekli olan DH'ler, klasik ıslah prosedüründen çok daha hızlı ve daha ucuz bir şekilde gerçek ıslah (saf) hatlarının üretilmesine olanak sağladığı için ıslah programlarında temel öneme sahiptir (Forster *vd.*, 2007; Seguí-Simarro ve Nuez, 2008; Dunwell, 2010; Germanà, 2011). Dahası, *in vitro* kültürle genlerin stabil kombinasyonlarına sahip homozigot hatların üretimi, geleneksel ıslahın normalde ihtiyaç duyduğu sürenin yarısından daha az olan 2-3 yılda gerçekleştirilebilir (Kalloo, 1993; Bargel ve Arnand 1986).

Ek olarak, DH'lerin tamamen homozigot durumu, onları kromozom haritalarının oluşturulmasını, genetik belirteçlerin haritalandırılmasını, belirteç-özellik ilişkisini, resesif mutasyonların tanımlanmasını ve bağlantı çalışmaları ile rekombinasyon fraksiyonlarının tahminini kolaylaştırmak için yararlı bir araç haline getirir (Forster *vd.*, 2007; Dunwell, 2010; Dwivedi *vd.*, 2015). Kolaylığına rağmen, DH teknolojisi hala çok düşüktür ve ekonomik açıdan önemli bir dizi üründe iyi uygulanmamıştır. İyi örnekler Solanaceae familyasına ait bitkilerde de iyi örnekler yer almaktadır (Seguí-Simarro *vd.*, 2011). Solanaceae familyası içinde, yalnızca tütünde yeterli ilerleme kaydedilmiş olup, bu türün mikrospor embriyogenezisi için bir model sistem olarak değerlendirilmesine olanak sağlanmıştır.

Haploidi indüksiyonu açısından patlıcan, direnç açısından domates ile tütün arasında görünmektedir (Seguí-Simarro *vd.*, 2011). Patlıcan mikrosporunun anter içerisinde embriyonik yola doğru sapmasını indüklemek mümkündür, böylece sonunda haploid veya DH bitkilerine dönüşecek bir haploid veya DH embriyosu üretilebilir (Corral-Martínez ve Seguí-Simarro, 2010; Seguí-Simarro *vd.*, 2011). Bazı durumlarda patlıcanda DH bitkileri elde edilmiş olsa da sonuçlar tütünün gösterdiği verimlilik ve üretkenlikten hala çok uzaktır. *Solanaceae* familyasındaki türler arasında belirli bir genetik yakınlığa rağmen, haploid üretimi açısından türler arasında önemli bir fark vardır (Seguí-Simarro *vd.*, 2011).

Yapılan çalışmalar ve araştırmalar sonucunda *in vitro* tekniklerin haploid ve DH bitkileri elde etmenin daha etkili, verimli ve başarılı yolları olduğu belirlenmiştir. Bu teknikler arasında androjenez (anter, mikrospor ve dökülen mikrospor kültürü), jinogenez (ovül ve yumurtalık kültürü) ve embriyo kurtarma yer almaktadır. Haploid embriyo uyarımı, 37 familyanın 90 cinsine ait yaklaşık 250 farklı türde *in vitro* koşullar altında gerçekleştirilmiştir (Pierik, 1997). Bu teknikler arasında anter kültürü, uygulanabilirliği (pratikliği) ve kullanım kolaylığı nedeniyle patlıcan için en çok tercih edilen yöntemdir.

2.2. Androjenez ve Anter Kültürü

Günümüzde patlıcan ıslahında biyoteknoloji ve haploidi tekniklerinin önemi daha iyi anlaşılmaktadır. *In vitro* koşulda olgunlaşmamış erkek gametofitten sporofit oluşumu olan androjenez, '*Solanaceae*, *Tahıllar* ve *Brassica*' gibi birçok bitki türünde haploid ve DH üretiminin en yaygın kullanılan yöntemidir (Ferrie ve Caswell, 2011; Shariatpanahi ve Ahmadi, 2016; Ahmadi vd., 2018). Bu yöntemde prensip, polen hücrelerinin gamet haline gelmesinin durdurulması ve çeşitli bitki uyaranları yardımıyla haploid bir bitkiye dönüşmesi için uygun bir ortama sokulmasıdır (Daunay vd., 2001; Arı, 2006; Vural vd., 2019). Bu sayede başlangıçtaki heterozigot materyalden homozigot materyal elde etmek için gereken süre azaltılabilir (Daunay vd., 2001).

Son 40 yıl, patlıcanlardaki androjenez, mikrospordan türetilmiş embriyo veya embriyojenik kallulardan haploid ve DH bitkileri üretmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Dumas de Vaulx ve Chambonnet, 1982; Rotino, 1996; Seguí-Simarro vd., 2011). Bununla birlikte, bu yaklaşım, F1 melezlerinin DH hatlarının hızlı bir şekilde üretilmesinin yanı sıra deneysel çalışmalar ve araştırmalar için hem özel hem de ticari düzeylerde optimize edilmiş ve yaygın olarak uygulanmıştır (Salas vd., 2011). Patlıcan ıslah çalışmalarında, haploid ve DH üretimi için en yaygın kullanılan androjenez tekniği anter kültür tekniğidir. Bu teknik, pratik uygulanabilirliği ve kullanım kolaylığı nedeniyle idealdir (Salas vd., 2011; Salas vd., 2012; Vural ve Arı, 2020; Calabuig-Serna vd., 2021).

Kültürlenmiş anterlerdeki olgunlaşmamış mikrospordan bitkiciklerin geliştirilmesi olan anter kültürü, bir gen havuzundan yeni saf (homozigot) hatlar üretmek söz konusu olduğunda, klasik ıslahın sınırlamalarının üstesinden gelmek için ıslahçılar için çok büyük bir değere sahiptir (Dunwell, 2010; Germanà, 2011; Seguí-Simarro vd., 2011; Calabuig-Serna vd., 2021). Resesif mutasyonların tespit edilmesine ve F1 melez canlılığının elde edilmesine yardımcı bir tekniktir (Alpsoy ve Şeniz, 2007).

Anter kültürü ile yapılan haploid çalışmaları çoğunlukla androjenik haploid ve DH bitkisi elde etmek amacıyla kültür patlıcanı (*S. melongena*) ile yapılmaktadır (Rotino, 1996). Seçilmiş patlıcan genotiplerinde anter kültürü yoluyla anterden türetilmiş embriyoların ve embriyonik kalluların *in vitro* indüksiyon tekniği, bitkilerin mikrospordan doğrudan embriyogenez veya kallustan rejenerasyon yoluyla üretilmesi için en kullanışlı ve en uygun tekniktir (Raina ve Iyer 1973; Research Group of Haploid Breeding, 1978; Dumas de Vaulx ve Chambonnet, 1982; Karakullukçu ve Abak 1992; Rotino, 2016; Thriveni vd., 2020). Bu teknik, doğrudan ve dolaylı embriyogenez yoluyla mikrospordan bitkilerin oluşumunu indüklemek için sürekli olarak kullanılmıştır.

Bu tekniğin temeli, "mikro-gametogenez" adı verilen bir süreçte olgun polen tanelerine dönüşmek üzere başlangıçta programlanmış mikrosporları almayı içerir; ancak, mikrosporların önceden belirlenmiş gelişim yolu, haploid veya DH bitkilerinin ortaya çıkmasına neden olan spesifik stres uygulamasıyla embriyonik duruma doğru saptırılabilir (Shariatpanahi vd., 2006; Shariatpanahi ve Ahmadi, 2016). Bu teknik, tek bir nesilde tamamen homozigot hatların hızlı bir şekilde üretilmesi ve böylece geleneksel yetiştirme programlarında çok sayıda kendi kendine tozlaşma döngüsünden kaçınılması için muazzam bir potansiyel sunar (Ellialtıoğlu vd., 2006; Dunwell, 2010).

Bu tekniğin diğer *in vitro* haploid teknikler arasındaki ana avantajı, uygulanmasının daha kolay ve hızlı olması ve anterde haploid bitkilerin elde edilebileceği binlerce mikrospor bulunmasıdır (Seguí-Simarro *vd.*, 2021). Bununla birlikte, diğer androjenez yöntemlerine kıyasla en önemli sınırlama, mikrosporların anter duvarları veya filament parçalarıyla birlikte kültürlenmesi gerçeğinden kaynaklanmaktadır. Anter duvarları (çoğunlukla tapetal tabaka) mikrosporları koruyabilecek veya büyümelerini teşvik edebilecek moleküller salgılayabilir, ancak aynı zamanda anter dokularının nekrozlanmasında olduğu gibi inhibitör ve hatta toksik bileşikler de salgılayabilir. Her durumda, bu salgılama etkisi kontrol edilemez ve kültür koşullarının sıkı bir şekilde kontrol edilmesini zorlaştırır. Ayrıca, büyüme düzenleyicilerine maruz kaldıklarında, bu duvarlar *in vitro* olarak çoğalabilir ve kallus üretebilir (Bal *vd.*, 2009; Seguí-Simarro *vd.*, 2021).

Anter kültürü, bitki ıslahı amaçları için verimliliği yeterli olan ilk keşfedilen haploid indükleme tekniğiydi (Maluszynski *vd.*, 2003). 1953 yılında Tulecke, *Ginkgo biloba* bitkisi üzerine yaptığı çalışmada ilk kez haploid uyarımı bildirmiştir. Guha ve Maheshwari (1964) de *Datura inoxia*'nın anter kültürlerinden mikrospor türevli haploid embriyo elde ettiklerini bildirmiştir. Bourgin ve Nitsch, 1967 yılında anter kültürü tekniğini kullanarak *Nicotiana tabacum* (tütün) türünden ilk haploid bitkiyi elde etmişlerdir. Ayrıca, 1970 yılında Kasha ve Kao, *Hordeum vulgare*'den (arpa) melezleyerek ilk maternal haploid bitkiyi elde etmişlerdir. İzole mikrospor kültürü geliştirilmiş bir alternatif olmasına rağmen, patlıcan mikrospor kültürü çalışmaları için henüz etkili bir protokol geliştirilmemiştir (Seguí-Simarro, 2016; Vural *vd.*, 2019).

Bugüne kadar patlıcan üzerinde yapılan çalışmalarda anter kültür tekniği kullanılarak birçok haploid veya kendiliğinden DH bitkisi elde edildiği bildirilmiştir. Ana odak noktası çoğunlukla melez çeşit geliştirmedir (Kumar *vd.*, 2020), çünkü melez canlılığın bir tezahürü olarak patlıcan verimliliği üzerindeki heteroz etkisinin büyüklüğü Kakizaki (1931) tarafından bildirilmiştir. Patlıcan türlerinde ilk haploid bitkiler Raina ve Iyer (1973) tarafından elde edilmiş ve bildirilmiştir. Daha önce kolşisin ile muamele edilen tek çekirdekli polen aşamasında kültürlenmiş anterlerden geliştirilen kallus yoluyla homozigot çift haploid bitkileri rejenere etmişlerdir (Raina ve Iyer, 1973). Daha sonra, 1978'de ilk sağlıklı haploid ve DH bitkicikler Çin Haploid Araştırma Grubu (Haploid Yetiştirme Araştırma Grubu) tarafından geliştirilmiştir.

Bu çalışmaları takiben, patlıcanı anter kültürü yoluyla iyileştirilmesi için bazı çalışmalar yürütülmüştür. Isourad *vd.* (1979); Dumas de Vault ve Chambonnet (1982); Misra *vd.* (1983); Chambonnet (1988); Karakullukçu ve Abak (1992); Kumar *vd.* (2003); Alpsoy ve Şeniz (2007); Salas *vd.* (2011); Başay ve Ellialtıoğlu (2013); ve Rotino, (2016) gibi birkaç araştırmacı anter kültürü tekniğiyle haploid ve DH patlıcanlarını başarıyla üretmişlerdir. Salas *vd.* (2011) embriyo gözlemlenmeden 21,5 kallus/100 anter üreten bir ekili scarlet patlıcanı (*S. aethiopicum*) katılımı de dahil olmak üzere diğer ilgili türlerle karşılaştırarak anter kültürü yoluyla androjenez indüksiyonunu sağlamıştır.

Patlıcan anter kültüründe uygulanan protokollerin temeli Dumas de Vault *vd.* (1981) tarafından geliştirilmiş olup bu protokol bir zamanlar biber anter kültüründe de kullanılmıştır. Dumas de Vault ve Chambonnet (1982) biber anter kültürü protokolüne benzer bir protokol geliştirerek patlıcanda uygulamaya başlamış ve başarılı sonuçlar

bildirmiştir. Bu protokolün başarısı, anterin besin ortamına ilk verildikleri ilk 7-8 gün boyunca karanlık koşullar altında bir yüksek sıcaklıkta (35 ± 2 °C) muamele edilmesine dayanmaktadır. Anter kültürünün erken evrelerinde hem oksin hem de sitokinin kombinasyonu da gereklidir. Bununla birlikte, yüksek bir sıcaklık mikrosporların gametofitik aşamadan sporofitik aşamaya geçişini yönetir. Ayrıca, yüksek sıcaklığın olumlu etkileri daha önce *Brassicaceae* familyası üzerinde yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Hansson 1978; Keller ve Armstrong, 1979).

Çok sayıda bitki türünde yüksek etkinliği ve uygulanabilirliği nedeniyle androjenez, özellikle anter kültür tekniği, ıslah sürecini hızlandırmak ve haploid ve DH'nin ticari sürecini hızlandırmak ve saf hatlar elde etmek için önemli bir yöntem olmaya devam edecektir.

2.3. Androjenik Bazlı Anter Kültürünün Başarısını Etkileyen Faktör

Androjenik bazlı anter kültüründe haploid ve DH'lerin elde edilme oranı, bitki rejenerasyonu ve sağkalımı, düşük embriyo indüksiyon frekansları, albinizm ve genotipe ve mevsime bağlı yanıt gibi çeşitli metodolojik sorunların üstesinden gelebilen güvenilir doku kültürü protokollerinin uygulanmasına bağlıdır (Germanà, 2011). Bununla birlikte, çeşitli çalışmalar embriyojenik yanıtın çok sayıda faktörden etkilendiğine işaret etmiştir. Bunlar arasında genotip, çiçek tomurcuğunun gelişim evreleri ve farklı kültür koşulları en önemlileridir ve birçok türün androjenez dönüşmesini önler. Diğerleri besin ortamının bileşimi, donör bitkilerin büyüme koşullarını, ön işlem uygulaması (kültüre uygulanan ön sıcaklık şoku) ve yüzey sterilizasyonu ve anter eksizyonunu içerir (Arnison *vd.*, 1990; Smykal, 2000; Wang *vd.*, 2000; Datta, 2005).

2.3.1. Genotip

Genotip, polen embriyogenezi üzerinde çalışan çoğu araştırmacı tarafından kabul edildiği gibi önemli bir rol oynamaktadır. Farklı genotipler, aynı tür içinde bile, androjenez farklı yanıt verir (Ferrie ve Möllers, 2011). Bazı genotipler embriyogeneze yüksek kapasite ve yanıt sergilerken, diğerleri tamamen inatçıdır ve bu da bunu genetik olarak düzenlenmiş bir özellik haline getirir (Feribot *vd.*, 1996; Beckert, 1998; Rudolf *vd.*, 1999; Mir *vd.*, 2021). Patlıcanda, androjenik tepkideki varyasyonlar göstermiştir ki, bazı genotipler istisnai sonuçlar gösterirken, diğerleri aynı koşullar altında kültürlenmesine rağmen yanıt verememektedir.

Örneğin Başay ve Ellialtıoğlu (2013), genotiplerin etkisini, mikrospor embriyogeneze yeterliliğini, anter kültürü sırasında stres tepkisini ve melezlerde ebeveyn alellerinin etkileşimini etkileyen doğal çeşitliliğe bağlamıştır. Bununla birlikte, çeşitli androjenez çalışmalarında genotip etkisinin bitkilerin genetiğiyle ilişkili olduğu ve büyüme koşullarının, besin ortamının ve androjenez etkileyen diğer faktörlerin optimize edilmesinin, genotiplerden kaynaklanan androjenetik yanıtı değiştiremeyeceği gösterilmiştir (Mitykó *vd.*, 1995; Bat *vd.*, 2021).

Salas *vd.*, (2011)'nin çalışmasında, birincil gen havuzundan (patlıcan kompleksi) ve ikincil gen havuzundan ortak patlıcan ve ilgili materyallerin on iki (12) farklı katılımı incelenmiştir. Sadece yaygın patlıcan (*S. melongena*) materyallerinin mikrospor

embriyogenezine yanıt verdiği bildirilmiştir. Yabani akrabalar ve hatta ortak patlıcan malzemeleriyle olan haçları bile herhangi bir yanıt göstermemiştir. Mikrospor embriyogenezini doğada meydana gelmediğinden ve yabani türler evrimleri sırasında bu özellik için daha verimli hale gelmek üzere seçilmediğinden bu şaşırtıcı değildir (Mir *vd.*, 2021).

Buna ek olarak, Başay ve Ellialtıoğlu (2013) Türkiye'de bir çalışma yapmış ve kullandıkları genotiplerden üçünün anter kültürüne cevap vermediğini bildirmişlerdir. Bhattacharya *vd.* (2019), patlıcanda 6 genotip ve 6 besiyerinin bir kombinasyonu ile anter kültürü çalışmasında iki besiyerinden %0,34 ile %9,27 arasında değişen androjenik bir yanıt elde etmişlerdir. Genotip bazında ise 6 genotipin beşinde %2,29 ile %7,40 arasında değişen androjenez oranı belirlenmiştir. Bazı genotiplerde başarı elde edilememsi androjenezin evrensel kabulünü engelleyebileceği ve bitki ıslahçıları tarafından kabulünü sınırlayabileceği bildirilmiştir (Seguí-Simarro *vd.*, 2011).

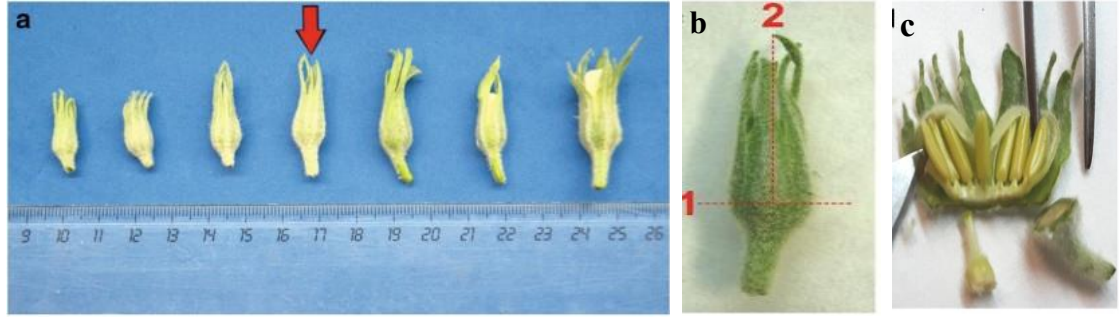
Ayrıca, Karakullukçu'nun (1991) çalışmasında, incelenen 13 patlıcan genotipinden sadece dört (4) genotip, embriyo ve haploid bitki üreten iki genotip ile androjenik yanıt gösterirken, iki genotip sadece embriyoid oluşturmuştur. Vural ve Arı (2020), ilkbahar mevsiminde embriyo ve *in vitro* bitkicik verimi üzerindeki genotipik etkinin anlamlı olmamasına rağmen, genotipin etkisinin sonbaharda anlamlı olduğunu bildirmiştir. Doksöz (2015) de aynı koşullarda yetiştirilen 5 donör bitkinin 3'ünden androjenik yanıt gözlenmediğini ve iki genotipte %1,3 ile %9,4 arasında değişen androjenik yanıt gözlemlendiğini bildirmiştir.

Androjenik bazlı anter kültürünün başarısı ağırlıklı olarak donör materyalin genotipine bağlıdır. Bununla birlikte, Foroughi-Wehr ve Wenzel'in (1993) çalışmasında olduğu gibi, seleksiyon ve ıslah yoluyla doku kültürü yeteneği için genetik tabanı genişletebilir. Ayrıca, düşük veya yetersiz embriyojenik yanıt, ıslah programlarında androjenezin kullanımını sınırlayabilir. Bu nedenle, genotiplerin embriyojenik yanıtlarının belirlenmesi, bu yaklaşımın ıslah çalışmalarında kullanılması için ileriye doğru atılmış bir adımdır.

2.3.2. Mikrosporların ve tomurcukların gelişim aşamaları

Androjenez temelli anter kültürünün başarısını etkileyen bir diğer önemli faktör ise mikrosporların ve tomurcukların gelişim aşamalarıdır. Embriyogenez veya mikrosporu indüklemek için en uygun aşamalar tipik olarak geç vakuollü mikrospor veya ilk polen mitozu dönemidir (Karakullukçu, 1991; Reynolds, 1997; Touraev *vd.*, 2001; Seguí-Simarro ve Nuez, 2008; Seguí-Simarro *vd.*, 2011; Salas *vd.*, 2012; García-Fortea *vd.*, 2020) (Şekil 2.1). Bununla birlikte, tek bir tomurcuk içindeki anter boyutu ve mikrospor gelişimindeki değişkenlik nedeniyle kesin aşamayı belirlemek zor olabilir (Mir *vd.*, 2021).

Patlıcanda yapılan çalışmalarda, kültüre hazır olmanın bir göstergesi olarak belirli tomurcuk boyutları ve anter rengi (yeşilimsi sarı) belirlemiştir (Karakullukçu, 1991; Ellialtıoğlu *vd.*, 2012; Vural *vd.*, 2019). Doğru aşamanın seçilmesi kritik öneme sahiptir, çünkü gelişimi çok erken veya çok geç olan mikrosporlar sıklıkla kültüre yanıt vermez veya nekrotik hale gelir (Chambonnet, 1985; Karakullukçu, 1991).



Şekil 1.1. (a) Patlıcan çiçek tomurcuklarının gelişme aralığı. (b) Diseksiyon için yapılacak enine ve boyuna kesimlerin 1 ve 2 kesikli çizgilerle işaretlendiği sağlam tomurcuk. (c) Anter birikimini gösteren parçalanmış tomurcuk. Kaynak: (Calabuig-Serna *vd.*, 2021).

Ayrıca, bir anterdeki tüm mikrosporlar genellikle aynı aşamada değildir. Bunun yerine, aynı anter içinde farklı aşamalar bir arada bulunur. Örneğin, Salas *vd.* (2012), patlıcandaki mikrosporun gelişim aşamaları hakkında ayrıntılı bir çalışma yürütmüş ve vakuollü mikrosporların ve genç biselüler polen aşamalarının izole mikrospor kültürü için en duyarlı olmasına rağmen, anter kültürü için en iyi seçenekler olmadığını bildirmiştir. Patlıcan anterlerinin olağandışı kalınlığı nedeniyle, anter kültürü için çoğunlukla genç ve orta mikrosporlar içeren genç anterlerin kullanılmasını önermişlerdir. Ayrıca, mikrosporların aşamaları türe, genotiplere ve hatta donör bitkilerin büyüme koşullarına göre değişebilir (Raghavan, 1988; Ferrie ve Keller, 1995; Ferrie ve Keller, 1997).

Karakullukçu'nun (1991) çalışmasında uygun ve elverişli mikrospor evresi ve tomurcuk morfolojisini belirlemek için 4 farklı patlıcan genotipi kullanılmıştır. Öncelikle tomurcuklar morfolojik özelliklerine göre 8 farklı gruba ayrılmış, bu tomurcukların mikrospor gelişime evreleri parafin ve asetokarmin yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Beşinci ve altıncı gruptaki anterlerin anter kültürüne en duyarlı aşama olduğu ve bu tomurcuklardaki taç yaprak seviyesinin çanak yaprakların birleştiği yerde olduğu ve ilk polen mitozundan hemen önceki dönemde anter renginin yeşilden yeşilimsi sarıya doğru değiştiği bildirilmiştir (Karakullukçu ve Abak 1993).

Bununla birlikte, mikrospor gelişimi için en duyarlı aşamaların belirlemek için, asetokarmin (Nitsch, 1981; Sharma ve Sharma, 1972) ve Feulgen (Darlington ve La Cour 1963) gibi yöntemler kullanılabilir. Laboratuvar altyapısı mevcutsa kullanılacak en hızlı, en kolay ve en güvenilir boyama yöntemi DNA nükleer boya DAPI'dir (4',6-diamidino-2-phenylindole) (Vergne *vd.*, 1987; Arı ve Büyükalaca, 2010).

Anter kültüründe ilgili yapılan diğer çalışmalarda, tomurcuk yapısına dayalı morfolojik gözlemler ve markörler, anterin uygun gelişim aşamasında tespit edilmesini kolaylaştırmıştır (Vural, 2019). Mesela Arı *vd.*, (2016) dökülen mikrospor kültürlerindeki mikrosporların uygun aşamasını ve farklı aşamalardaki 64 süs biberi genotipinin androjenez yanıtlarını belirlemek için DAPI yöntemini kullanmışlardır. Tomurcuk morfolojisini belirlemek için iki farklı genotipe ait tomurcuklar kullanılmıştır. Sepal

uzunluk oranının her iki genotipte de etkili bir markör olarak başarıyla kullanılabileceği bildirilmiştir.

2.3.3. *In vitro* kültür koşulları

In vitro kültür, embriyojenik yanıtın başarısını etkilemede de çok önemli bir rol oynar. Stres uygulamaları, özellikle ısı şokları, embriyogenezi başlatmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Dumas de Vault ve Chambonnet, 1982; Ellialtıoğlu ve Tıprıdamaz 1999; Alpsoy ve Şeniz, 2007; Salas *vd.*, 2011; Seguí-Simarro *vd.*, 2011). Bununla birlikte, kültür ortamında kullanılacak bitki ve eksplantın türüne bağlı olarak, 24-35°C'de inkübasyon ve günde 14 saat boyunca yaklaşık 2,000-10,000 lüks şiddetinde ışığa maruz bırakma yaygın olarak kullanılmaktadır (Reinert ve Bajaj, 1978; Gönülşen, 1987). Patlıcan için ilk 8 gün karanlıkta 35°C'ye başlangıç maruziyeti optimal kabul edilir ve sonrasında 4 gün boyunca 25±2°C'de 16 saat ışık ve 8 saat karanlıktan oluşan bir fotoperiyot tercih edilir (Dumas de Vault ve Chambonnet, 1982; Alpsoy ve Şeniz, 2007; Vural *vd.*, 2019). Bazı çalışmalar ayrıca kültürlenmiş anterin embriyolar oluşana kadar karanlıkta tutulmasını önermiştir (Germanà, 2011).

Normal şartlar altında mikrosporlar, döngüsünü tamamlamak için iki mitoz geçirir; ancak, androjenez döngüsüne girmesi gereken mikrosporlar, döngüsünü tamamlamak için tekrarlanan bölünme yaşamak zorunda kalacaktır. Bu tekrarlanan bölünmelerin kesintisiz gerçekleşmesi ve embriyo oluşumunu desteklemesi için mikrosporları indüklemek üzere kültür ortamına belirli oranlarda birkaç bileşen eklenmelidir (Vural *vd.*, 2019). Bu bileşenler arasında makro ve mikro elementler, amino asitler, vitaminler, enerji kaynağı olarak karbonhidratlar, BGD'ler, gümüş nitrat veya aktif kömür gibi katkı maddeleri, katılaştırıcı maddeler ve hindistan cevizi sütü bulunur (Gémes Juhász *vd.*, 2006). Ek olarak, besin ortamının (katı, bifazik veya sıvı) nasıl hazırlanacağı ve ortamın pH'ı gibi faktörler de dikkate alınmalıdır.

Anter kültür çalışmalarında karbonhidrat kaynağı olarak genellikle sakkaroz kullanılmasına rağmen maltozun sakarozdan daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir (Raquin, 1983). Örneğin, Vural ve Arı (2020) maltoz, gümüş nitrat ve aktif kömürün üçlü bir kombinasyonunu incelemiş ve orijinal ortama kıyasla embriyo veriminde 3,9 kat artış (320 embriyo ve 200 bitkicik/100 anter'e kadar üretimi) bildirmiştir. Scott *vd.* (1995) da arpa üzerinde yaptıkları çalışmada maltoz kullanılan kültür ortamındaki embriyojenik yanıtın sükroz ve glikoz kullanılan kültür ortamlarına göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bunun nedeni, sükroz metabolizmasının besin ortamındaki mikrosporlarla hızla değişmesi ve hücrelerde etanol birikimi nedeniyle hücrelerin ölümüne yol açabilmesidir. Maltoz besin ortamında yavaş salındığı için hücrelerin kullanabilecekleri kadar oksijene sahip olmalarını sağlar.

Ek olarak, gümüş nitrat (AgNO₃) (etilen antagonisti), glutamin gibi amino asitler, aktif kömür, kazein, prolin, biotin, inositol, hindistan cevizi suyu ve polivinilpirolidon gibi diğer maddelerin besin ortamına eklenmesinin anter kültürü çalışmalarında başarı oranını artırdığı bildirilmiştir (Reinert ve Bajaj, 1978; Powell, 1990; Paksoy *vd.*, 1995; Hatipoğlu, 1999; Achar, 2002). Bajaj (1977) bazal ortamı %2 aktif kömürü ile takviye ederek duyarlı tütün anterlerinde %41'den %91'e bir artış elde etmiştir. Thomas (2008)

da aktif kömürün kültür ortamında gelişen mikrosporlarla salgılanan toksik ve fenolik bileşikler adsorbe ederek hasarı önlediğini bildirmiştir.

Gümüş nitrat (AgNO_3) ise etilen biyosentezinde rol oynayan laminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) sentezini bloke ederek etilen inhibitörü aminoethoxy-vinyl glycine (AVG) gibi davranır (Heidstra *vd.*, 1997). Büyükalaca *vd.* (2004) tarafından anter kültürü çalışmasında biberde farklı oranlarda embriyo oluşumu ve verimi üzerine AgNO_3 'ün etkisini incelenmiştir. En yüksek embriyo veriminin AgNO_3 'ün 15 mg/l'de eklendiği besin ortamında gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Birkaç model türü, örneğin Solanaceae'nin çoğu üyesi besin ortamına oksin eklenmesini gerektirmese de ve basit ortamlarda indüksiyon meydana gelse de, oksinler, sitokinin veya bir kombinasyonu gibi büyüme düzenleyicilerinin varlığı, özellikle dirençli olanlar olmak üzere bitki türlerinin çoğunda indüklenmiş mikrospor embriyo üretimi için çok önemlidir (Maheshwari *vd.*, 1982). Bu büyüme düzenleyicileri, mikrospor embriyogenezinde gametofitik gelişimi sporofitik gelişime yönlendirmek için zorunludur (Corral-Martínez ve Seguí-Simarro, 2014). Kültür ortamında, ortamın pH'ı genellikle otoklavlamadan önce 5,7-5,9'a ayarlanır. Anter kültür ortamları genellikle agar eklenerek katılaştırılır, ancak nişasta (patates, buğday, mısır veya arpa nişastası), gelrit, agaroz ve fikor gibi diğer katılaştırıcı maddelerin de yararlı etkileri bildirilmiştir (Germanà *vd.*, 2005).

Ek olarak, kültür ortamındaki atmosferin bileşimi çok fazla ilgi odağı olmamıştır, ancak tütün üzerindeki deneyler bunun önemini göstermiştir (Dunwell, 1979). Kültürün yoğunluğu (yani, kültür kabının hacmi başına veya ortamın birim hacmi başına ekilen anterlerin sayısı) ve besiyerine eksplantın yerleştirilme şeklinin de anter kültüründe kritik olduğu bulunmuştur (Sopory ve Munshi, 1996). Daha önceki çalışmalar tütündeki anter yöneliminin etkisini incelemiştir (Sunderland ve Dunwell, 1972; Misoo *vd.*, 1981), *Datura innoxia* (Sopory ve Maheshwari, 1976), pirinç (Yangn ve Zhou, 1979) ve arpa (Shannon *vd.*, 1985) ve embriyogenezde hayati bir rol oynadığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte bu uygulamalar, mikrosporu farklı bir gelişim yoluna doğru değişmeye zorlayan bir stres ajanının uygulanması ile karakterize edilir (Shariatpanahi *vd.*, 2006).

2.3.4. Ön işlem (kültüre uygulanan ön sıcaklık şoku)

Birçok bitki genotipinde, eksize edilen çiçek tomurcuğuna sıcak veya soğuk stresi uygulamak gibi fiziksel ve kimyasal ön işlemler, verimli polenlerin gelişimini önleyebilen embriyogenez/sporofitik yolu tetiklemede esastır (Germanà, 2011). Yüksek sıcaklık, yüksek nem, soğutma, su stresi, santrifüjleme, sakaroz ve azot açlığı, etanol, yüksek ortam pH'ı, elektrostimülasyon, düşük atmosfer basıncı, UV ve CO_2 gibi farklı ön işlemler ve bitki büyüme düzenleyicileri embriyogenezisi teşvik etmede kullanılmaktadır (Shariatpanahi *vd.*, 2006). Örneğin, ilk 8 gün boyunca karanlıkta 35°C gibi yüksek sıcaklıktaki ön işlemler patlıcan anter kültürü için özellikle etkilidir (Dumas de Vaulx ve Chambonnet, 1982). Bu uygulamalar mikrosporların doğal gametofitik yollarından embriyojenik bir yola yönlendirmeye yardımcı olur.

Örneğin, Karakullukçu ve Abak (1992) patlıcanda farklı sıcaklık şoklarının etkilerini araştırmış ve sıcaklık şokunun anter kültürünün başarısını etkileyen birçok

faktörden biri olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarında, kültüre alınan anterler ilk 8 gün 25, 30 ve 35°C'de karanlıkta, sonraki 4 gün ise 16 saat ışık ve 8 saat karanlıkta tutulmuşlardır. Tüm çeşitlerde sıcaklık ve süre arttıkça embriyogenez oranlarının arttığı bildirilmiştir. Ancak diğer uygulamalara göre ilk 8 gün karanlıkta 35°C'de tutulan anterlerde en yüksek embriyogenez oranı gözlenmiştir.

Buna ek olarak, Alpsoy 1994 ve 1995 yıllarında yaptığı anter kültürü çalışmasında ön şok uygulaması yapılmadan kültüre alınan anterlerin hiçbirinden embriyo elde edilememiştir. 1996-1998 yıllarında yaptığı bir başka deneyde ise karanlıkta 35°C'de 8 gün boyunca kültüre edilen anterlerden embriyo ve haploid bitki oluşumunu elde etmiştir. Karanlıkta kültüre uygulanan yüksek sıcaklığın anter kültürünün başarısını olumlu yönde etkilediğini bildirmiştir. Özellikle 35°C'de karanlıkta 8 gün boyunca uygulanan yüksek sıcaklık şoklarının birçok bitki genotipinde embriyogenez ve bitki rejenerasyonunu teşvik etmede olumlu etki gösterdiği birçok çalışmada gösterilmiştir. Dunwell *vd.*, (1983) tarafından da üç ilkbahar kolza çeşidi (*Brassica napus ssp. oleifera*) arasında en yüksek verimin, 35°C'de 3 gün boyunca muamele edilen *Duplo* çeşidinin anterlerinden elde edildiği bildirilmiştir.

Bazı çalışmalar ayrıca düşük sıcaklıkların (1°C -10°C) uygulamalarının farklı bitki genotiplerinde sporofitik bölünmeyi başlatabileceğini göstermiştir (Germanà, 2011). Örneğin, 3-5 gün boyunca 4°C'lik soğuk ön işlem birçok bitkinin anter kültüründe rutin olarak kullanılmıştır ve etkisi de genotipe bağlıdır (Powell, 1988; Osolnik *et al.*, 1993). Bununla birlikte, Bajaj (1983) düşük sıcaklık uygulamasının androjenizdeki embriyojenik artışı dolaylı olarak etkileyebileceğini ve bunun nedeninin düşük sıcaklığın mikrospor canlılığını uzun süre koruyarak polen gelişimini engellemesi ve anter ve mikrospor yaşlanmasında gecikmeye neden olabileceğini bildirmiştir. Bu protokollerin belirli genotipler için optimize edilmesi, başarı oranını daha da artırabilir.

2.3.5. Donör bitkilerin fizyolojik durumu ve büyüme koşulları

Donör bitkilerin fizyolojik durumu ve büyüme koşulları, androjenik-anter kültürünün başarısı üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olabilir. Bitkinin fizyolojik durumu, çevresel koşullar, yetiştirme uygulamaları (sulama ve gübreleme) ve donör bitkilerin yaşı gibi faktörler mikrospor gelişimini ve canlılığını etkiler (Vural *vd.*, 2019). Mevsimsel değişiklikler özellikle önemlidir, çünkü bir mevsimde toplanan anterler diğerinde toplananlardan daha iyi performans gösterebilir.

Örneğin, ılık ve nemli koşullarda yetiştirilen patlıcan donör bitkileri, daha az elverişli iklim koşullarında yetiştirilenlere kıyasla genellikle daha yüksek embriyogenez oranları verir. Bu faktörler polen tanelerinin sayısını (Heberle-Bors, 1985), endojen hormon seviyelerini ve anter dokularının beslenme durumunu etkiler (Dunwell, 1976; Sunderland ve Dunwell, 1977). Yetiştirme ortamının koşulları uygun değilse, donör genotipinin androjenik yanıtı yüksek olsa bile başarı şansı azalır (Vural *vd.*, 2019).

Özel sıcaklık şokları hariç, bitkilerin *in vitro* anter kültürü sırasında uygulanan iklim koşulları, o bitkinin yetiştirilmesi için gerekli olan çevre koşullarıyla tutarlı olmalıdır (Dunwell ve Cornish, 1985; Vural *vd.*, 2019). Donör bitkilerin optimum çevre koşulları bitki türlerine göre değişmekle birlikte, büyüme mevsimi boyunca sıcaklık,

günlük aydınlatma miktarı ve bitkiye ulaşan ışık yoğunluğu oranı, ortamdaki CO₂ miktarı, bitkinin gübrenmesi, sulama ve diğer kültürel uygulamalar gibi çeşitli parametrelerin doğru zamanda ve doğru miktarda karşılanmalıdır (Ellialtıoğlu *vd.*, 2001). Ayrıca mikrosporların gelişmeleri sırasında strese girmelerini önlemek için kimyasal uygulamaları anter kültüründen en az 2-3 hafta önce durdurulmalıdır (Alpsoy, 1999; Nitsch, 1981; Alpsoy ve Şeniz, 2007).

Ancak patlıcan yetiştiriciliği için uygun çevre koşulları, sıcaklığın gece 15–20°C, gündüz 21–30°C olduğu, aydınlatma süresinin ve ışık yoğunluğunun yüksek olduğu yerler olarak belirtilmiştir (Çetinkaya, 2009). Aynı bitki genotipi ile yapılan çalışmalardan aynı sonuçların alınamaması donör bitkinin büyüme döneminin ne kadar önemli olduğunun bir göstergesidir. Bazı genotipler farklı çevre koşullarında farklı tepkiler gösterebilmektedir. Örneğin, Dumas de Vaulx ve Chambonnet (1982) tarafından yapılan bir çalışmada Dourga patlıcan genotipinin yüksek embriyo ve haploid bitkiler oluşturmada başarılı olduğu gösterilmiş, ancak *Tuberosa vd.* (1987) ile *Rotino vd.* (1987) tarafından yapılan çalışmalarda aynı genotipten elde edilen embriyolarda düşük başarı oranı gözlenmiştir. Karakullukçu (1991) da Doğarga patlıcan genotipi ile ilgili yaptığı çalışmada embriyo oluşumuna gözlenmediğini bildirmiştir.

Ek olarak Başay *vd.* (2011) Türkiye'de patlıcan androjenezi çalışmalarında en çok odaklanılan genotiplerden biri olan Aydın Siyahı ile bir çalışma yapılmış ve sadece kallus oluşumu elde edilmiştir (%12,7). Aynı genotiple Ankara ve Yalova lokasyonlarında başarı elde edilememiş olması, donör bitki büyümesinin çevresel yetiştirme koşullarından etkilendiğini göstermektedir. Vural (2019) tarafından yapılan bir anter kültürü çalışmasında ilkbahar ve sonbahar mevsimi karşılaştırılmış ve ilginç bir şekilde sonbaharda yetiştirilen anterlerin performansları çok daha başarılı sonuçlar vermiştir. Türler arasında farklılık gösteriyor gibi görünen optimal yetiştirme koşullarına rağmen, donör bitkilerin yetiştirildiği sıcaklığın kültür tepkisi üzerindeki etkisi, arpa (Foroughi-Wehr ve Mix, 1979), yağlı tohum kolza (Keller ve Stringham, 1978; Dunwell ve Cornish, 1985), şalgam (Keller *vd.*, 1983) ve buğday (Lazar *vd.*, 1984) gibi bitkilede ortaya konmuştur.

2.3.6. Yüzey sterilizasyonu ve anter eksizyonu

Anter eksizyondan önce yüzey kirleticilerinin (bakteri ve mantarlar) sterilizasyon yoluyla uzaklaştırılması gerekir. Kirletici içermeyen anterler elde etmek için birçok sterilizasyon protokolü bildirilmiş ve bunların çoğu bitkilerinde DH üretiminde kullanılabilir (Maluszynski *vd.*, 2003). Uygun sterilizasyon teknikleri ve eksizyon sırasında dikkatli kullanım, mikrospor gelişimini engelleyebilen somatik doku aşırı büyümesi riskini en aza indirir (Reinert ve Bajaj, 1978). Ön işlemden sonra, çiçek tomurcukları 30 saniye veya 1 dakika boyunca %70 etil alkole daldırılarak ve ardından birkaç damla Tween 20 içeren bir sodyum hipoklorit çözeltisine (suda yaklaşık %1,5 aktif klor) 10-15 dakika daldırılarak yüzey sterilizasyonuna tabi tutulur ve steril damıtılmış suyla 3-5 kez durulanır. Daha sonra, anterler filamentlerden aseptik olarak dikkatlice çıkarılmalı ve kültürlenmiş ortama yerleştirilmelidir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada bitki materyalleri olarak Aydın Siyahı patlıcan çeşidi kullanılmıştır. Uygun büyüklükteki ve aşamadaki çiçek tomurcukları toplanmış ve anter kültüründen önce +4°C'de 24-36 saat arasında muhafaza edilmiştir. Daha önceden yapılan çalışmalar anter kültürü öncesi anterlerin belirli bir süre soğukla muamele edilmesi mikrosporların rejenerasyon oranını önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir. Düşük sıcaklıklarda anterlerdeki mikrosporların çoğunu gelişimi ilk mitoz safhasında nişasta oluşumunun bloke edilmesi neticesinde durmaktadır. Nişasta ise anter kültüründe başarıyı olumsuz yönde etkilemektedir (Hatipoğlu, 2012). Bu durumda düşük sıcaklıkta belli bir süre muhafaza anter kültüründe başarı oranını arttırmaktadır. Kullanılan genotipin bazı fotoğrafları Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan donör bitki genotipinin görüntüleri.

3.2. Metot

3.2.1. Bitki materyallerinin yetiştirilmesi

Bu çalışmada kullanılan Aydın Siyahı patlıcan çeşidi Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi seralarında yetiştirilmiştir. Patlıcan tohumları, fide eldesi amacıyla 2024 yılı Eylül ayında ticari saksı toprağı içeren viollere ekilmiştir. Çiçeklenme periyodunu yeterli bir süreye yayılması amacıyla ekim, 15'er gün arayla en az 2 set halinde gerçekleştirilmiştir. Her sette 20 adet tohum ekimi yapılmıştır. Fideler ekim sonrası 5-6 cm boya ulaştıklarında ½ bahçe toprağı ve ½ yanmış ahır gübresi içeren 3 inç büyüklüğündeki saksılara her saksıda 1 bitki olacak şekilde aktarılmıştır. Ekim sonrası bitkilerin sulama ve diğer bakım işlemleri bitkilerin ihtiyaçları doğrultusunda günlük düzenli olarak gerçekleştirilmiştir. Bu süre içerisinde bitkilere inhibitör, insektisit, fungusit, kimyasal gübreleme gibi hiçbir kimyasal uygulama yapılmamıştır.

Patlıcanlar donör bitkiler olarak yetiştirildiği için üzerlerinde meyve oluşmasına izin verilmemiştir. İlk çiçek ve uygun tomurcuk aşamasını geçen tüm çiçekler ve tomurcuklar bitkiden uzaklaştırılmıştır.

3.2.2. Araştırmada kullanılan besi ortamları

Bu araştırmada, patlıcan (*S. melongena L.*) anter kültüründe bazı bitki büyüme düzenleyicilerinin haploid bitki rejenerasyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Araştırmada temel besi ortamı olarak MS FeNa-EDTA (PhytoTech Labs Katalok No: 5800) içeren besi ortamı (Çizelge 3.1) kullanılmıştır. Bu ortama 1, 2, 3, 4, 5 mg/l konsantrasyonlarında 6-Benzil amino purin (BAP), İndol-3 asetik asit (IAA) ve Giberallik asit (GA₃) hormonları eklenerek besi ortamı modifiye edilmiştir. Kontrol olarak ise hormon eklenmemiş MS ortamı kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan besin ortamının içeriği.

Kimyasal Madde	MS PhytoTech Labs Katalok No: 5800 (mg.l ⁻¹)
NH ₄ NO ₃	1650
B(OH) ₃	6,2
CaCl ₂ , Anhydrous	332,2
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
FeNaEDTA	36,7
MgSO ₄ , Anhydrous	180,7
MnSO ₄ .H ₂ O	16,9
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
KI	0,83
KNO ₃	1900
KH ₂ PO ₄	170
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
Glycin (Free Base)	2,0
myo-Inositol	100
Nicotinic Asit	0,5
Pyridoxine.HCl	0,5
Thiamin.HCl	0,1
Sukroz*	30 000
Agar*	6 000
pH**	5,8

*Hazır besi ortamı içerisinde olmayıp sonradan ilave edilmiştir.

**pH, metre yardımıyla 1 N Hidroklorik Asit (HCl) veya 1 N Sodyum hidroksit (NaOH) kullanılarak ayarlanmıştır.

Bu çalışmada kullanılan besi ortamı toz halde karışım olarak temin edilmiştir. Besi ortamının hazırlanması sırasında, 1 litre için besi ortamının protokolünde belirtilen toz besi ortamı (4,41 g) miktarı 800 ml distile su içinde çözülmüş sonra üzerine 30 g sükröz ilave edilip ve çözülmüştür. Sonrasında ise daha önceden uygun çözeltide (1 N NaOH) çözdürülmüş olan BAP (6-Benzil amino purin) ve IAA (İndol-3-asetik asit) hormonları ile suda çözdürülmüş olan GA₃ (Giberallik asit) hormonları belirlenen miktarlarda ilave edilmiştir. Sonrasında besi ortamının hacmi 1000 ml'ye tamamlanmış ve pH 5,8'e ayarlanmıştır. Belirtilen oranda agar ilave edilmiş ve besi ortamı otoklavda

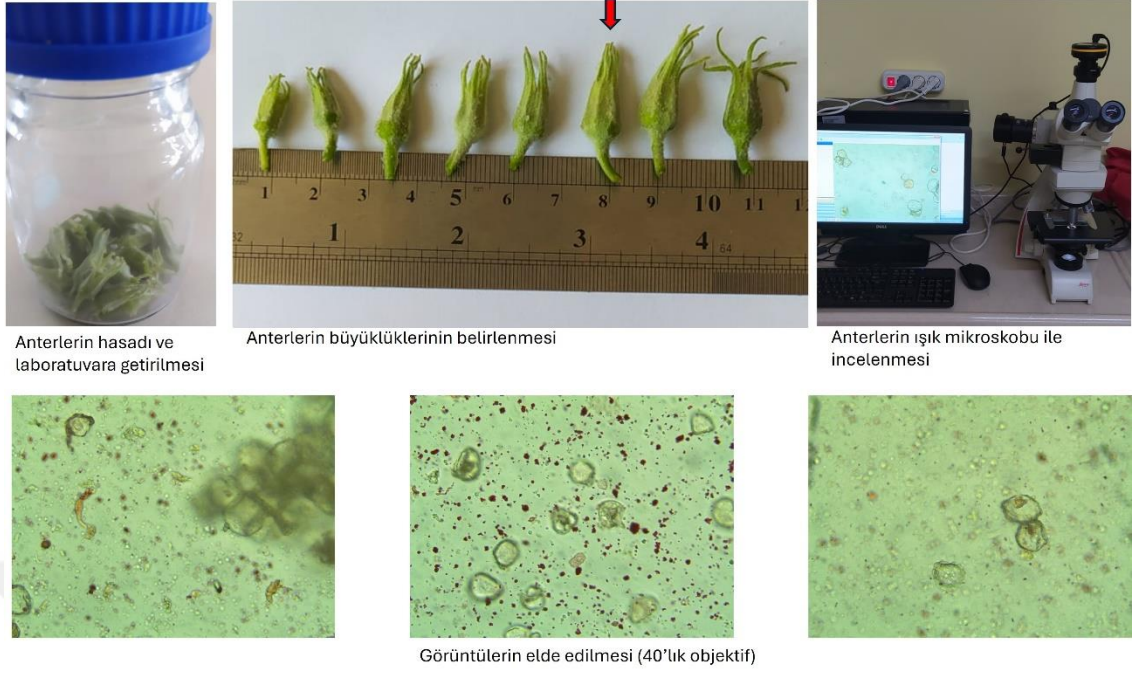
121°C'de, 1 atm basınçta 20 dakika süreyle sterilizasyona tabi tutulmuştur. Otoklav sonrasında, besi ortamının yaklaşık 50°C'ye kadar soğumasına izin verilmiş ve ardından petri kabı başına 25 ml olacak şekilde 9 cm çapında steril petri kaplarına dökülmüş ve biyogüvenlik kabiniinde katılaşmaya bırakılmıştır. Katılaşan besi ortamları streç film ile sarılmış ve kullanılabileceği kadar oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Hazır halde bekletilen besi ortamları en fazla bir ay tutulmuştur. Mümkün olduğunca taze besi ortamı kullanılmış olup bir ayı geçen besi ortamları imha edilmiş ve kullanılmamıştır.

3.2.3. Tomurcukların uygun dönemlerinin belirlenmesi ve toplanması

Daha önce belirtildiği gibi, androjenezin başarısı kültür için uygun mikrospor gelişim aşamasında tomurcukların toplanmasıyla belirlenir. Gelişimin uygun aşamasında kültürlenmedikçe mikrospordan embriyojenik indüksiyon olmayacaktır. Farklı patlıcan androjenez çalışmalarında, erken veya geç aşamalarda kültürlenmiş mikrosporda ilerleme kaydedilmediği ve ayrıca kültürün ilk günlerinden itibaren nekroz oluştuğu bildirilmiştir (Chambonnet, 1985; Karakullukçu, 1991). Karakullukçu (1991) dört farklı patlıcan genotipinde uygun mikrospor aşamasını belirlemek için yapmış olduğu bir çalışmada anter kültürü için uygun aşamalarındaki tomurcukların morfolojik görünümünü çanak ve taç yaprakları eşit seviyede olacak şekilde belirlemiştir.

Patlıcandaki bu göstergelere ek olarak, anter rengi de uygun aşamadaki tomurcuklar için belirleyici bir özellik olabilir. Sadece tomurcuk morfolojilerine dayanan tomurcuk seçiminin bitkilerin yaşlanması doğrultusunda yanlış olabileceği düşünüldüğünde, anterlerin rengine bakılması da önerilmektedir. Patlıcan anter kültürü için doğru aşamadaki anterlerin renginin yeşilimsi sarı olması gerektiği, sarı ve koyu sarı anterlerin geç aşamada, sarımsı yeşil anterlerin ise erken aşamada olduğu belirtilmektedir (Ellialtıoğlu vd., 2012). Karakullukçu (1991) tarafından belirlenen bu kriterler ve fenotipik belirteçler, Türkiye'de patlıcanda yapılan tüm androjenez çalışmalarının tomurcuk seçim aşamasının temelini oluşturmaktadır.

Anter kültür çalışması için uygun büyüklükteki anterleri tespit etmek amacıyla farklı büyüklükteki anterler her bir popülasyon için ayrı ayrı olacak şekilde bitkiden koparılıp alınmış ve laboratuvara getirilmiştir. Anterlerin incelenmesinde kullanılacak boyama çözeltisi 55 ml saf su içerisine 45 ml glasiyal asetik asit ilave edilip kaynatılmış ve sonra bu karışıma 1 g karmin ilave edilmiş manyetik karıştırıcı üzerinde bir müddet karıştırıldıktan sonra filtre kağıdından geçirilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir. Patlıcan bitkilerinden alınan farklı büyüklükteki tomurcuklar bistüri yardımıyla kesilmiş ve anterler çıkarılarak lam üzerine yerleştirilmiştir. Anterin üzerine hazırlanan asetokarminden 1 damla damlatıldıktan sonra bistürinin ucu ile ezilmiş ve üstü lamelle kapatılarak ışık mikroskobu altında incelenmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Anterlerin uygun tomurcuk döneminin belirlenmesi.

3.2.4. Anterlerin sterilizasyonu

Uygun büyüklükteki anterleri ve uygun evrede mikrosporlar içeren çiçek tomurcukları toplanmış ve anter kültüründen önce $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 24-36 saat arasında buzdolabında muhafaza edilmiştir. Tomurcuklar kültür için laboratuvara getirildiğinde, tomurcukların kontaminasyonunu önlemek için biyogüvenlik kabini içindeki bir kavanoza aktarılmış ve anterler kültürlenmeden önce sterilizasyon gerçekleştirilmiştir. Sterilizasyon amacıyla çiçek tomurcukları önce %70'lik etil alkol ile 30 saniye sonra %20'lik ticari çamaşır suyu (ACE) çözeltisi ile 10 dakika sterilize edilmiş ve steril distile su ile 3-5 kez durulanmıştır.

3.2.5. Kültürel çalışmaları ve bitki rejenerasyonu

Anter kültürlenirken her 2 çiçek tomurcuğundan anterler petri kabına dikilmiş ve bir tomurcuktaki anter sayısına bağlı olarak, bir petri kabında 10-13 anter kültüre alınmıştır. Kültüre alınan anterlerden sadece sürgünler geliştiren, ancak kök gelişimi göstermeyen bitkiler anter/kalluslardan ayrılarak köklendirilmek amacıyla 0,5 mg/l BAP + 0,1 mg/l IAA içeren besiyerine aktarılmıştır.

3.2.6. Alınan gözlem, sayım ve ölçümler

Bu araştırma kapsamında kültüre alınan anterlerden aşağıdaki gözlem ve ölçümler alınmıştır/yapılmıştır:

- i. Elde edilen kallus sayısı: Kültüre alınan anterlerden elde edilen kalluslar gün aşırı sayılmış ve kaydedilmiştir.

- ii. Kalluslardan elde edilen sürgün sayısı: Oluşan kalluslardan elde edilen sürgünler gün aşırı sayılmış ve kaydedilmiştir.
- iii. Köklenen sürgün sayısı: Kalluslardan gelişen ve anterlerden direk gelişen ayrı olmak üzere elde edilen sürgünlerden kök oluşturanların sayısı gün aşırı sayılarak ayrı gelişen sürgün sayıları belirlenmiştir.

3.2.7. Verilerin değerlendirilmesi

Araştırmadan elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde Microsoft Excell paket programı kullanılmış olup grafikler yine aynı programın grafik oluşturma nodülü ile oluşturulmuştur. Elde edilen sonuçlar hem “SPSS 27.0” hem de “R İstatistik” Programı kullanılarak Nonparametrik-Kruskal-Wallis analizi ile değerlendirilmiştir.



4. BULGULAR

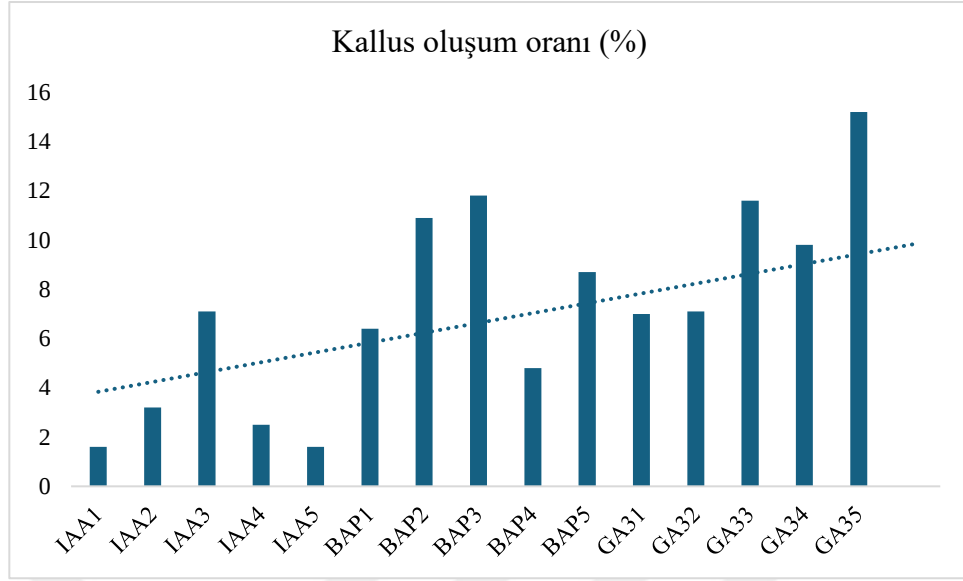
4.1. *In Vitro* Anter Kültürüne Ait Sonuçlar

Araştırmada kullanılan üç büyüme düzenleyicisinin (BAP, IAA ve GA₃) androjenetik potansiyeli, farklı konsantrasyonlardan oluşan modifiye edilmiş MS (PhytoTech Labs Katalok No: 5800) ortamlarında değişen sayıda anterin kültürlenmesiyle değerlendirilmiştir. Hormon içermeyen yalın besi ortamı kontrol olarak kullanılmış ve modifiye edilmiş besin ortamları, IAA, BAP ve GA₃ hormonlarının 1, 2, 3, 4, 5 mg/l'lik konsantrasyonlarında desteklenmiştir. Bu hormonların Patlıcanda *in vitro* anter kültürü üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu ortamlarda kültüre alınan anter sayıları ve başarı oranlarına ilişkin veriler Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Araştırmaya konu besi ortamlarında kültüre alınan anter sayıları elde edilen kallus sayıları, kalluslardan oluşan bitki sayıları ve başarı oranlarına ilişkin.

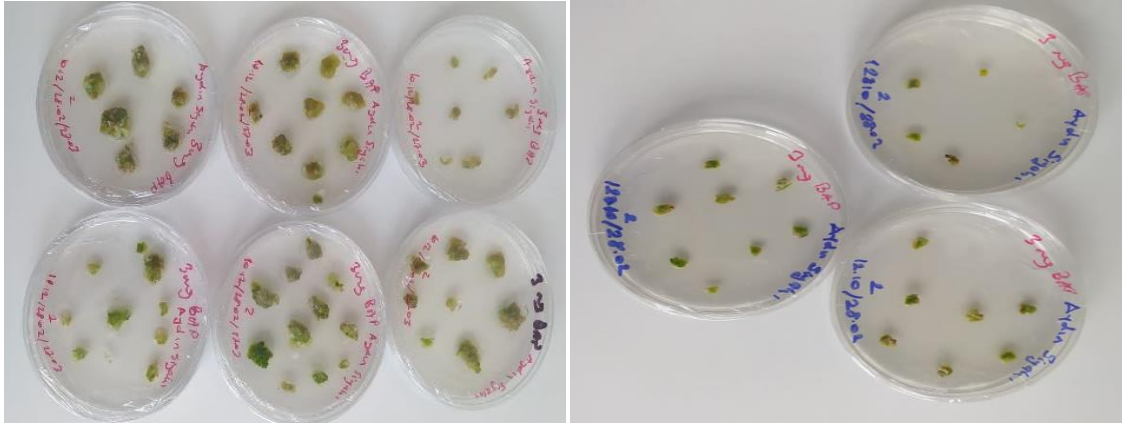
Besi Yeri/Uygulama (Mg/l)	Kültüre Edilmiş Anter Sayısı	Kallus Oluşumu		Kallustan Sürgün Oluşumu	
		Sayı	%	Sayı	%
1 mg/l IAA	126	2	1,6	0	0,0
2 mg/l IAA	126	4	3,2	0	0,0
3 mg/l IAA	127	9	7,1	0	0,0
4 mg/l IAA	120	3	2,5	0	0,0
5 mg/l IAA	125	2	1,6	0	0,0
1 mg/l BAP	125	8	6,4	0	0,0
2 mg/l BAP	128	14	10,9	0	0,0
3 mg/l BAP	127	15	11,8	28	22,04
4 mg/l BAP	125	6	4,8	0	0,0
5 mg/l BAP	126	11	8,7	0	0,0
1 mg/l GA ₃	128	9	7,0	0	0,0
2 mg/l GA ₃	127	9	7,1	0	0,0
3 mg/l GA ₃	129	15	11,6	0	0,0
4 mg/l GA ₃	123	12	9,8	0	0,0
5 mg/l GA ₃	125	19	15,2	0	0,0
0 MS	124	0	0,0	0	0,0
Toplam	2011	138	109,3	28	22,04

Çizelge 4.1'in incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi ; araştırma süresince toplam 2011 anter kültüre alınmıştır. Ancak araştırmaya konu hiçbir besi ortamında doğrudan bitki rejenerasyonu elde edilememiştir.



Şekil 4.1. Farklı hormonal uygulamalar altında kallus indüksiyonu.

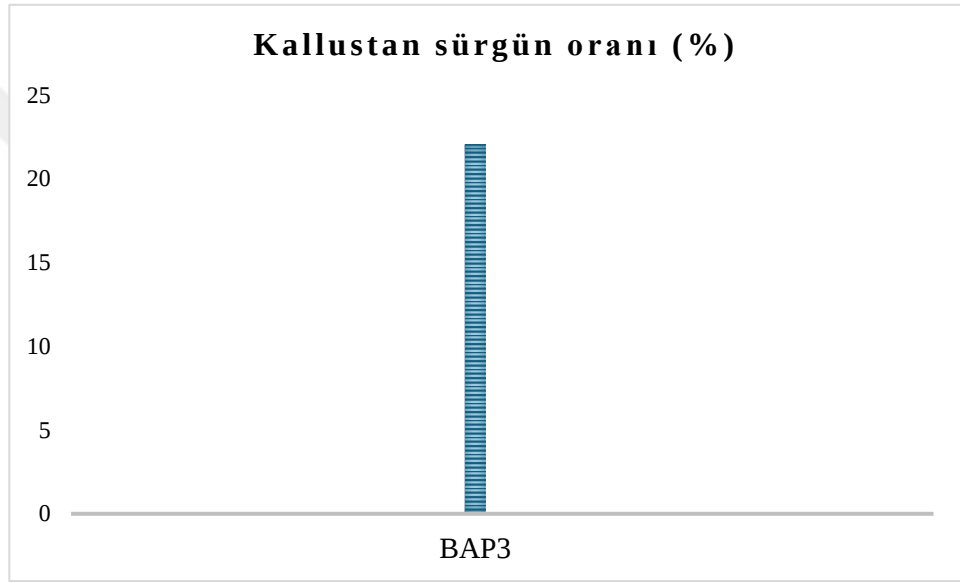
Kontrol ortamı hariç, değişen konsantrasyonlarda hormon uygulanmış tüm ortamlarda belirli miktarda kallus oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.1). En düşük kallus indüksiyonu miktarı 1 mg/l ve 5 mg/l'de IAA'da %1,6 oranında tespit edilirken, en yüksek kallus indüksiyonu 5 mg/l'de %15,2 oranıyla GA₃'te, ardından 3 mg/l'de %11,8 oranıyla BAP içeren ortamda tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kalluslardan sürgün rejenerasyonu (%22,04) yalnızca 3 mg/l BAP ortamında kültüre alınan anterlerde gözlenmiştir (Şekil 4.4). Ek olarak, MS0 kontrol ortamında doğrudan bitki rejenerasyonu, embriyo gelişimi veya kök oluşumu ile ilgili hiçbir rejenerasyon gözlenmemiştir ve bu da bitkisel hormonların morfojenetik indüksiyondaki kritik rolünü yeniden doğrulamış oldu.



Şekil 4.2. Çalışmadan elde edilen kallus görüntüleri.



Şekil 4.3. Çalışmada kalluslardan elde edilen sürgün görüntüleri.



Şekil 4.4. Farklı hormon uygulamalarının kallustan sürgün rejenerasyonuna etkisi.

Çalışma kapsamında elde edilen bitkiciklerde henüz köklenme tespit edilmemiş olup dolayısıyla kromozom sayımı da gerçekleştirilememiştir.

4.2. İstatissel Analiz Sonuçları

Araştırma sonucunda kaydedilen veriler e uygulanan istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.2 ve Şekil 4.4’de verilmiştir.

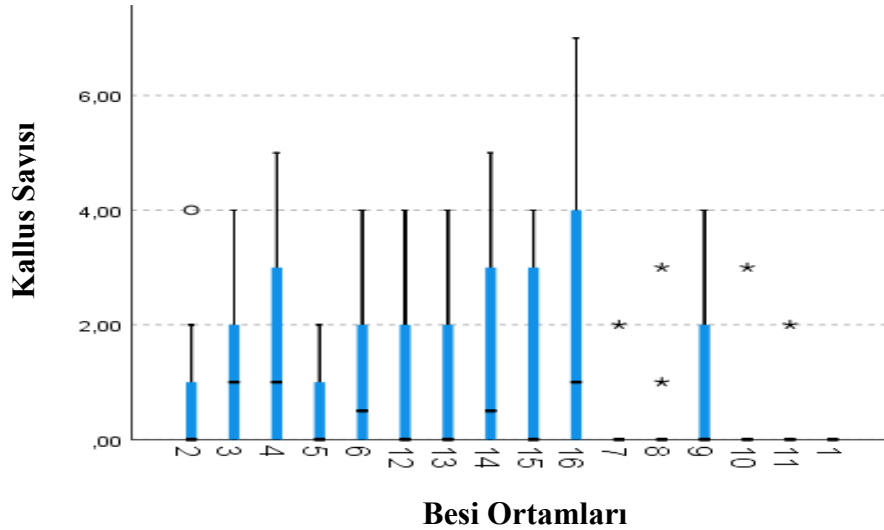
Çizelge 4.2. Araştırmada kullanılan besi ortamlarında oluşan kallus rejenerasyonu ve kalluslardan oluşan bitki rejenerasyonlarının istatistiksel değerlendirmesi.

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Ortalama	Minimum	Maksimum	P-değeri
Kallus Sayısı	15	0,863	0,0	7,00	0,0537
Bitki Sayısı	15	0,202	0,0	28,00	0,4514

P<0.05

Çizelge 4.2’de farklı besi ortamı uygulamaları altında kallus ve bitki rejenerasyonuna ait ortalama, maksimum, minimum, serbestlik derecesi ve P-değerleri verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, kallus rejenerasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($P=0,0537$), ancak bu değer marjinal anlamlılık sınırına yaklaşmıştır. Kalluslardan oluşan bitki rejenerasyonu ise daha yüksek değişkenlik göstermiş ve istatistiksel olarak anlamsız ($P=0,4514$), bu da genel rejenerasyon veriminin düşük olduğunu doğrulamaktadır.

Independent-Samples Kruskal-Wallis Test



Şekil 4.5. Araştırma kapsamında kaydedilen verilerin SPSS programı ile analizi sonucu elde edilen kallus rejenerasyonlarına ilişkin grafik (Besi Ortamları sırasıyla 1=MS0, 2-6=BAP, 7-11=IAA, 12-16=GA₃).

BAP (2-6) ve GA₃ (12-16) uygulamaları, IAA’ya (7-11) ve kontrol (1) göre daha fazla kallus oluşturmuş, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamış. Bu yüzden hem “SPSS” hem de “R istatistik” paket programları ile yapılan analizlere göre araştırmaya konu besi ortamlarının kallus oluşumu ve kallustan bitki rejenerasyonu üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

Bu araştırmada, MS besi ortamına ilave edilen farklı konsantrasyonlardaki (1, 2, 3, 4, 5 mg/l) BAP, IAA ve GA₃'in Aydın Siyahı patlıcan çeşidinde anter kültürü yoluyla haploid bitki rejenerasyonu üzerindeki etkisini incelemiştir. Çalışmanın bulguları, Aydın Siyahı çeşidine ait anterlerin BAP, IAA ve GA₃ hormonlarına farklı şekilde tepki verdiğini ortaya koymuştur. Kontrol grubu hariç, tüm hormon konsantrasyonlarında kallus oluşumu gözlemlenmiştir. En yüksek kallus oluşum oranı (%15,2) 5 mg/l GA₃ uygulanmış besi ortamında kaydedilmiş ve bunu 3 mg/l BAP (%11,8) ilave edilmiş besi ortamı takip etmiştir.

Ancak, sürgün rejenerasyonu (%22,04) yalnızca 3 mg/l BAP içeren ortamda elde edilmiştir. BAP 3mg/l uygulamasında sürgün rejenerasyonu gerçekleşmiş olsa da, bu yapılar kök oluşturmamıştır. Ne yazık ki, ploidi düzeyini doğrulamak veya analiz etmek için kromozom sayımı yapılamamıştır. Bu nedenle, bu rejenerantların androjenik kökenli değil, somatik yapıda olma ihtimali bulunmaktadır. Embriyonik özelliklerin (örn. Bipolar yapılar veya embriyoid benzeri yapılar) yokluğu da bu şüpheyi destekler niteliktedir. Diğer çalışmalarda da, stres optimizasyonu veya anti-nekrotik katkı maddelerinin kullanılmaması durumunda sürgünlerin geliştiği ancak haploid olmadığı benzer zorluklar tespit edilmiştir (Seguí-Simarro ve Nuez, 2008). Bu bulgular, genotipe özgü dirençliliği ve patlıcan anter kültüründe sitokin-oksijen dengesinin kritik rolünü vurgulamaktadır.

Anter kültüründeki başarı, büyük ölçüde anterlerin alındığı bitkilerin genotipine bağlıdır. Kallus, sürgün, kök ve hatta haploid embriyo oluşum oranı türler arasında ve aynı tür içerisindeki genotipler arasında farklılık göstermektedir. Şimdiye kadar incelenen bu türde, anterlerin kültür tekniğine verdiği yanıtlar açısından hormon uygulanmış ortamlar arasında büyük farklılıklar gözlemlenmiştir. BAP hormonu, IAA ve GA₃ hormonlarına kıyasla daha iyi sonuç vermiştir. BAP ilaveli ortamda kallus ve sürgün oluşumu gözlenirken, IAA ve GA₃ içeren ortamlarda kallus oluşumu olmasına rağmen sürgün oluşumu sağlanamamıştır (Çizelge 4.1).

Daha önce patlıcanda yapılan anter kültürü çalışmalarında kallus elde edilmiş olsa da, sürgün ve haploid embriyo gelişimi ile bitkiye dönüşüm istenilen seviyeye ulaşamamıştır. Ayrıca, genotipler içinde kallus, embriyo ve hatta bitki oluşumundaki varyasyonla ilgili birçok sonuç bulunmaktadır. Ellialtıoğlu *vd.* (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, yaz döneminde yetiştirilen Aydın Siyahı çeşidinden izole edilen anterlerde anter gelişimi ve kallus oluşumu gerçekleşmesine rağmen embriyo ve bitkicik oluşumu sağlanamamıştır. Başay *vd.* (2011) tarafından farklı patlıcan genotipleri kullanılarak yapılan bir başka çalışmada ise Aydın Siyahı çeşidinde embriyo veya bitkicik oluşumu gözlemlenmediği, ancak yaz dönemi için %11,9 ve sonbahar dönemi için %0,8 oranında kallus oluşumu tespit edildiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada kullanılan diğer genotiplerden elde edilen anter kültürlerinde embriyo oluşumu daha yüksek seviyelerde gerçekleşmiştir. Bizim çalışmamızda ise aynı genotipte %15,2 kallus oluşumu ve %22,04 sürgün oluşumu elde edilmiştir.

Bununla birlikte, bulgularımız, Aydın Siyahı genotipini kullanarak farklı sonuçlar bildiren Yücel (2024) ile çelişmektedir. Yücel'in anter kültürü çalışmasında, hormon uygulanmış tüm ortamlarda kallus, haploid embriyo ve bitkicik oluşumu gözlemlenmiştir.

En yüksek kallus (%34,7), embriyo (%54,2), bitki (%36,4) ve DH bitki (27 adet) oluşumu ise 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l kinetin + 120 g/l sukroz ilaveli besi ortamından elde edilmiştir. Çalışmamız ile Yücel (2024) arasındaki bu farklılık, kullanılan yöntem ve hormon konsantrasyonlarındaki farklardan kaynaklanması muhtemeldir. Yücel (2024), Dumas de Vaultx *vd.* (1982) tarafından geliştirilen protokolü, farklı 2,4-D, kinetin ve sukroz konsantrasyonlarıyla modifiye edilmiş kallus ortamını kullanarak uygulamışken, bizim çalışmamızda Murashige ve Skoog (1962) tarafından geliştirilen ve MS FeNa-EDTA (PhytoTech Labs Katalog No: 5800) ortamına farklı konsantrasyonlarda BAP, IAA ve GA₃ ilave edilerek oluşturulan bir protokol kullanılmıştır.

Tüm androjenez çalışmalarında olduğu gibi, genotipik duyarlılık ve etki, patlıcan anter kültüründeki en kritik faktörlerden biri olmaya devam etmektedir. Karakullukçu (1991), Alpsoy ve Şeniz (2007), Salas *vd.* (2011), Ellialtıoğlu *vd.* (2012), Doksöz (2015) ve Vural (2019) dahil olmak üzere günümüze kadar yapılan birçok araştırma, farklı genotipler kullanarak patlıcanın androjenez yanıtını incelemiştir. Bu çalışmalar, standart koşullar altında bile bazı patlıcan çeşitlerinin androjenik indüksiyona zayıf yanıt verdiğini doğrulamıştır. Örneğin, Salas *vd.* (2011) çalışmasında 12 farklı genotipin androjenik tepkileri incelenmiş ve bu genotiplerin 7 tanesinde hiç embriyo oluşmadığı, geri kalan 5 genotipte ise %0,7 ile %60,9 arasında değişen oranlarda embriyo elde edildiği bildirilmiştir.

Bu çalışmada Aydın Siyahı çeşidinde optimize edilmiş hormon uygulamalarına rağmen gözlemlenen sınırlı yanıt, bu genotipin androjenez daha az yatkın olabileceğini veya tam haploid embriyo rejenerasyonu sağlamak için protokol optimizasyonunun daha da geliştirilmesi gerekebileceğini düşündürmektedir. Başay *vd.* (2010) ve Boncukçu ve Geboloğlu (2020) ayrıca, anter kültüründe genotip etkisine ek olarak, donör bitkinin yetiştirme mevsimi ve koşullarının da patlıcanda anter kültürü başarısını etkileyen önemli bir faktör olduğunu belirlemiştir.

Her ne kadar anter gelişimi, androjenez açısından anterin canlılığıyla bağlantılı olduğu için önemli olsa da, bu çalışma göstermiştir ki herhangi bir ortamda anterlerden yüksek kallus rejenerasyonu gözlemlenmesi, o ortamda kallus, sürgün, embriyo ve bitkicik elde edilmesiyle doğrudan ilişkili değildir. Bu çalışmada sunulan kallus ve sürgün gözlem sonuçları, kullanılan üç büyüme düzenleyicisinin etkilerini ortaya koyması açısından önemlidir. Bu nedenle, bu çalışmada en yüksek anter kallusu ve sürgün oluşumunu sağlayan ortam bileşenleri, patlıcanda yapılabilecek anter kültürleri için embriyojenik anter kallusu elde edilmesinde bir rehber olabilir.

Aydın Siyahı çeşidinde yalnızca bu çalışmada değil, farklı besi ortamı kompozisyonlarının denendiği diğer çalışmalarda da tek bir embriyo, kök veya doğrudan bitki oluşumu sağlanamamış olsa da, bu çalışmanın bulguları, önceki çalışmalarda olduğu gibi anter kültüründe genotip etkisinin önemli olduğunu göstermektedir. Ayrıca, tüm bu çalışmaların farklı lokasyonlarda yürütülmüş olması nedeniyle, donör bitkinin 'genotip x çevre' etkileşimi'nin tek başına genotip etkisinden daha etkili bir rol oynadığını söylemek daha gerçekçi bir ifade olabilir. Genel olarak bu sonuçlar, Aydın Siyahı gibi dirençli genotiplerde haploid bitki rejenerasyonu zorluklarına ilişkin mevcut literatürü desteklemektedir. Kültür ortamı bileşiminin ayarlanması, ön işlemlerin

uygulanması veya alternatif genotiplerin araştırılması, gelecekteki çalışmalarda daha iyi sonuçlar elde edilmesini sağlayabilir.



6. SONUÇ

Bu çalışmada, patlıcanda (*S. melongena* L.) haploid bitki elde etme verimliliğini artırmaya yönelik bir protokol geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, anter kültürü çalışması için farklı konsantrasyonlardaki (1, 2, 3, 4, 5 mg/l) BAP, IAA ve GA₃ bitki büyüme düzenleyicileri, MS FeNa-EDTA (PhytoTech Labs Katalog No: 5800) kültür ortamına eklenmiş ve bu düzenleyicilerin patlıcanda anter kültürü üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Uygun gelişim aşamasındaki anter içeren tomurcuklar günlük olarak toplanmış ve kültür öncesinde 24-36 saat buzdolabında +4°C’de saklanmıştır. Ön işlem sonrasında, tomurcuklardan alınan anterler, BAP (1-5 mg/l), IAA (1-5 mg/l) ve GA₃ (1-5 mg/l) içeren besi ortamlarına ekilmiştir. Bulgular, tüm hormon uygulanan ortamların bir dereceye kadar kallus oluşumunu indüklediğini göstermiştir, en yüksek kallus oluşumunun ise 5 mg/l GA₃ ile sağlandığını göstermiştir.

Sürgün oluşumu yalnızca 3 mg/l BAP uygulamasında (%22,04) gözlemlenirken, IAA veya GA₃ uygulamalarında sürgün ya da kök oluşumu gözlenmemiştir. BAP 3 mg/l uygulamasında sürgün rejenerasyonu gerçekleşmiş olsa da, bu yapılar kök oluşturamamıştır. Ne yazık ki, ploidi düzeyini doğrulamak veya analiz etmek için kromozom sayımı yapılamamıştır. Bu nedenle, bu rejenerantların androjenik kökenli değil, somatik yapıda olma ihtimali bulunmaktadır. Embriyonik özelliklerin (örn. Bipolar yapılar veya embriyoid benzeri yapılar) yokluğu da bu şüpheyi destekler niteliktedir. Hormonsuz kontrol ortamında herhangi bir morfojenik aktivite görülmemiş olup, bu durum ekzojen bitki gelişime düzenleyicilerinin (BGD) temel rolünü vurgulamaktadır.

Anter toplama zamanlamasının doğru olmasına ve soğuk ön işlem uygulanmasına rağmen, androjenik bitki gelişimi sağlanamamıştır. Bununla birlikte, bu çalışmada sunulan anter kallusu ve sürgün sonuçları, bu büyüme düzenleyicilerinin (BAP, IAA ve GA₃) etkilerini ortaya koyması açısından önemlidir. Bu bulgular, uygulanan hormonların morfogenez indüksiyonunda kısmen etkili olduğunu, Aydın Siyahı çeşidinin düşük androjenik potansiyele sahip olabileceğini veya tam haploid embriyo rejenerasyonu için protokol optimizasyonuna ihtiyaç duyulabileceğini göstermektedir. Patlıcanda anter kültüründe kallus ve sürgün oluşumunu uyaran özellikle 3 mg/l BAP'ın etkinliği diğer uygulamalara göre ön plana çıkmaktadır.

Ayrıca, ileriki çalışmalarda bu protokol kullanılarak farklı androjenik yanıtlara sahip diğer patlıcan genotipleri değerlendirilmeli ve sonuçlar Aydın Siyahı ile karşılaştırılmalıdır. Soğuk ön işlem uygulanmış olsa da, sıcak şoku veya osmotik stres (örn. mannitol) gibi yöntemlerle kombine edilmesi, Aydın Siyahı çeşidinde androjenik indüksiyonu artırabilir. Bunun yanı sıra, embriyogenez ve köklenmeyi artırdığı diğer çalışmalarda gösterilen 2,4-D, NAA, kinetin, ABA, AgNO₃, aktif karbon ve askorbik asit gibi yeni hormon kombinasyonları veya katkı maddeleri de değerlendirilmelidir.

7. KAYNAKLAR

- Achar, P. N. 2002. A Study of Factors Affecting Embryo Yields from Anther Culture of Cabbage. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 69(2): 183–188.
- Acquadro, A., Barchi, L., Gramazio, P., Portis, E., Vilanova, S., Comino, C., Plazas, M., Prohens, J., and Lanteri, S. 2017. Coding SNPs Analysis Highlights Genetic Relationships and Evolution Pattern in Eggplant Complexes. *PLoS ONE*, 12(7): 1–20.
- Ahmadi, B., Ahmadi, M., and Teixeira da Silva, J. A. 2018. Microspore Embryogenesis in Brassica: Calcium Signaling, Epigenetic Modification, and Programmed Cell Death. *Planta*, 24(6): 1339–1350.
- Ali, Z., Xu, Z. L., Zhang, D. Y., He, X. L., Bahadur, S., and Yi, J. X. 2011. Molecular Diversity Analysis of Eggplant (*Solanum melongena*) Genetic Resources. *Genetics and Molecular Research, GMR*, 10(2): 1141–1155.
- Alpsoy, H. C., and Şeniz, V. 2007. Researches on the *In vitro* Androgenesis and Obtaining Haploid plants in some Eggplant Genotypes. *Acta Horticulturae*, 729(4): 137–141.
- Alpsoy, H.C. 1999. Bazı Patlıcan Genotiplerinde *In Vitro* Androjenezis ve Haploid Bitki Elde Edilmesi Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa, 78 s.
- Alpsoy, H.C. 1994. Bazı Patlıcan Genotiplerinde *In Vitro* Androjenezis ve Haploid Bitki Elde Edilmesi Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa, 78 s.
- Arı, E., Bedir, H., Yildirim, S., and Yildirim, T. 2016. Androgenic Responses of 64 Ornamental Pepper (*Capsicum annuum* L.) Genotypes to Shed-microspore Culture in the Autumn Season. *Turkish Journal of Biology*, 40(3): 706–717.
- Arı, E., ve Büyükalaca, S. 2010. Anemone coronaria var. coccinea’da Androgenesis Çalışmaları için Uygun Çiçek Tomurcuğu Morfolojisinin Tespit Edilmesi. *Araştırma Makalesi/Research Article*, 23(2): 71–78.
- Arı, E. 2006. Türkiye’de Doğal Olarak Yetişen *Anemone coronaria* var. *coccinea*’da *Anter Kültürü Çalışmaları*, 16(4): 1–150.
- Arnison, P. G., Donaldson, P., Ho, L. C. C., and Keller, W. A. 1990. The Influence of Various Physical Parameters on Anther Culture of Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Plant Cell Tissue and Organ*, 20:147–155.
- Aubriot, X., Knapp, S., Syfert, M. M., Pocza, P., and Buerki, S. 2018. Shedding New Light on the Origin and Spread of the Brinjal Eggplant (*Solanum melongena* L.) and its Wild Relatives. *American Journal of Botany*, 105(7): 1175–1187.
- Bajaj, Y. P. S. 1990. *In Vitro* Production of Haploids and their use in Cell Genetics and Plant Breeding. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, 12(3): 3–44.
- Bal, U., Ellialtıoglu, S., and Abak, K. 2009. Induction of Symmetrical Nucleus Division

- and Multi-nucleate Structures in Microspores of Eggplant (*Solanum melongena* L.) Cultured In vitro. *Scientia Agricola*, 66(4): 535–539.
- Barchi, L., Acquadro, A., Alonso, D., Aprea, G., Bassolino, L., Demurtas, O., Ferrante, P., Gramazio, P., Mini, P., Portis, E., Scaglione, D., Toppino, L., Vilanova, S., Díez, M. J., Rotino, G. L., Lanteri, S., Prohens, J., and Giuliano, G. 2019. Single Primer Enrichment Technology (SPET) for High-Throughput Genotyping in Tomato and Eggplant Germplasm. *Frontiers in Plant Science*, 10(8): 1–17.
- Bargel A., and Arnand M. 1986. Progress in Eggplant Breeding use of Haploid Method. *Capsicum Newsletter* 5: 65-66.
- Başay, S., and Ellialtıoğlu, Ş. Ş. 2013. Effect of Genotypical Factors on the Effectiveness of Anther Culture in Eggplant (*Solanum melongena* L.). *Turkish Journal of Biology*, 37(4): 499–505.
- Başay, S., Şeniz, V., and Ellialtıoğlu, Ş. 2011. Obtaining Dihaploid Lines by using Anther Culture in the Different Eggplant Cultivars. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 9(2): 188–190.
- Başay, S., Ellialtıoğlu, Ş., and Şeniz, V. 2010. Haploid Embryo Formation via Anther Culture in Local and Foreign Eggplant Varieties. VIII *Vegetable Agriculture Symposium*, 23-26 June 2010, Van, Turkey. pp. 588-590
- Bat, H., Altındağ, F. N., Yiğit, M. A., Ellialtıoğlu, S., and Comlekcioglu, N. 2021. Ploidy Estimation in Pepper and Eggplant via Stomata Characteristics. *International Journal of Griculture, Forestry and Life Sciences*, 5(2): 11–18.
- Beckert, M. 1998. Genetic Analysis of *In Vitro* Androgenetic Response in Maize. In: Y. Chupeau, M. Caboche, and Y. Henry (Eds.), *Androgenesis and Haploid Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 24–37.
- Bhattacharya, A., Sonone, Y., and Char, B. 2019. Improvement in Tissue Culture-assisted Induction of Double Haploidy in Brinjal (*Solanum melongena* L.). *Journal of Applied Horticulture*, 21(3): 178–181.
- Blakeslee, A. F., Belling, J., Farnham, M. E., and Bergner, A. D. 1922. A Haploid Mutant in the Jimson Weed, “*Datura Stramonium*”. *Science*, 1433(6): 646–647.
- Blando, F., Calabriso, N., Berland, H., Maiorano, G., Gerardi, C., Carluccio, M. A., and Andersen, Ø. M. 2018. Radical Scavenging and Anti-Inflammatory Activities of Representative Anthocyanin Groupings from Pigment-Rich Fruits and Vegetables. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1): 1–15.
- Bliss, R. M., and Elstein, D. 2004. Scientists Get Under Eggplant’s Skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 301(9): 16–18.
- Boncukçu, D. S., and Geboloğlu, N. 2020. Effect of Genotype, Stress Conditions, and Media on Androgenic performance of Eggplant. *Acta Horticulture*, 1285: 185-192.
- Bourgin, J. P., and Nitsch, J. 1967. Obtention de Nicotiana Haploides a Partir D’étamines Cultivées In vitro. *Production of Haploid Nicotiana from Excised Stamens*. 82(9): 376–377.

- Boyacı, H. F., Topçu, V., ve Abak k. 2010. Burdur Göl Patlıcanı Populasyonlarında Morfolojik Özelliklerde Çeşitlilik. VIII. Sebze Tarımı Sempozyumu, 23-26 Haziran, Van, 260 s.
- Boyacı,, H. F., and Topçu, V. 2014. Development of Eggplant Hybrid Cultivar “BATEM FILIZI” and Determination of Yield Performance. *Araştırma Makalesi/Research Article Derim*, 31(2): 11–22.
- Boyacı, H. F. 2007. Patlıcanlarda Fusarium Solgunluğuna Dayanıklılık Kaynakları ve Dayanıklılığın Kalitimi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 97 s.
- Braga, P. C., Lo Scalzo, R., Dal Sasso, M., Lattuada, N., Greco, V., and Fibiani, M. 2016. Characterization and Antioxidant Activity of Semi-Purified Extracts and Pure Delphinidin-Glycosides from Eggplant Peel (*Solanum melongena* L.). *Journal of Functional Foods*, 20(9): 411–421.
- Büyükalaca, S., Comlekcioglu, N., Abak, K., Ekbic, E., and Kilic, N. 2004. Effects of Silver Nitrate and Donor plant Growing Conditions on Production of Pepper (*Capsicum annuum* L.) Haploid Embryos via Anther Culture. *European Journal of Horticultural Science*, 69(5): 206–209.
- Çağlar, G., ve Abak, K. 1999. Hıyarda (*Cucumis sativus* L.) *In situ* Uyartım Sonucu Elde Edilen Haploid Embriyolardan *In vitro* Haploid Bitki Oluşturma. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23(7): 283–290.
- Çetinkaya, Ş. 2009. Örtüaltı Patlıcan Yetiştiriciliği. BATEM, Antalya, Türkiye. Cilt:104, ss. 7-9.
- Caguiat, X. G. I., and Hautea, D. M. 2014. Genetic Diversity Analysis of eggplant (*Solanum melongena* L.) and Related Wild Species in the Philippines Using Morphological and SSR markers. *Sabrao Journal of Breeding and Genetics*, 46(2): 183–201.
- Calabuig-Serna, A., Porcel, R., Corral-Martí'nez, P., and Seguí-Simarro, J. M. 2021. Anther and Isolated Microspore Culture in Eggplant (*Solanum melongena* L.). In: J. M. Seguí-Simarro (Ed.), *Methods in Molecular Biology*, 2nd ed., Vol. 2. Springer Science+Business Media, LLC, pp. 235-250.
- Cao, G., Sofic, E., and Prior, R. L. 1996. Antioxidant Capacity of Tea and Common Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(11): 3426–3431.
- Cericola, F., Portis, E., Toppino, L., Barchi, L., Acciarri, N., Ciriaci, T., Sala, T., Rotino, G. L., and Lanteri, S. 2013. The Population Structure and Diversity of Eggplant from Asia and the Mediterranean Basin. *PLoS ONE*, 8(9): 1–16.
- Chambonnet, D. 1988. Production of Haploid Eggplant Plants. In: Bulletin Interne de la Station d'Amelioration des Plantes Maraicheres d'Avignon-Montfavet, Paris, pp. 1–10.
- Chambonnet, D. 1985. Culture d'antheres in vitro chez trois Solanacees maraicheres: le piment (*Capsicum annuum* L.), l'aubergine (*Solanum melongena* L.), la tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) et obtention de plantes haploides. Academie de Montpellier, Doktora Tezi, 90 s.

- Chapman, M. A. 2020. Eggplant Breeding and Improvement for Future Climate In: C. Kole (ed.), 1st ed. Springer Nature Switzerland AG, pp. 257-276.
- Corral-Martínez, P., and Seguí-Simarro, J. M. 2010. Improvement in Doubled Haploids Production through *In vitro* Culture of Isolated Eggplant Microspores. In J. Prohens & A. Rodríguez-Burruezo (Eds.), *Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant* (14 Eucarpi). Editorial de la Universitat Politècnica de València, pp. 369-374.
- Corral-Martínez, P., and Seguí-Simarro, J. M. 2014. Refining the Method for Eggplant Microspore Culture: Effect of Abscissic acid, Epibrassinolide, Polyethylene Glycol, Naphthaleneacetic Acid, 6-Benzylaminopurine and Arabinogalactan Proteins. *Euphytica*, 195(3): 369–382.
- Darlington, C. D., and La Cour L. F. 1963. Methoden der Chromosomen Untersuchungen. Stuttgart, Deutschland: Frankische Verlagshandlung, W. Kellerund Ca.
- Datta, S. K. 2005. Androgenic Haploids: Factors Controlling Development and its Application in Crop Improvement. *Curr Sci.*, 89: 1870–1878.
- Daunay, M. C., Aubert, S., Frary, A., Doganlar, S., Lester, R. N., Barendse, G., van der Weerden, G., Hennart, J. W., Haanstra, J., Dauphin, F., and Jullian, E. 2004. Eggplant (*Solanum melongena*) Fruit Colour: Pigments, Measurements and Genetics. *Proceedings of the 12th Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant*, 94(5): 108–116.
- Daunay, M. C., and Hazra, P. 2012. Eggplant. In: K. V. Peter and P. Hazra (Eds.), *Handbook of Vegetables*. Houston, TX: Studium Press, pp. 257–322.
- Daunay, M. C., Laterrot, H., and Janick, J. 2007. Iconography of the Solanaceae from Antiquity to the XVIIth Century: A Rich Source of Information on Genetic Diversity and Uses. *Acta Horticulturae*, 745(6): 59–88.
- Daunay, M. C., Lester, R. N., Gebhardt, C., Hennart, J. W., Jahn, J. W., Frary, A., and Doganlar, S. 2001. Genetic Resources of Eggplant (*Solanum melongena* L.) and Allied species: A New Challenge for Molecular Geneticists and Eggplant Breeders. *Advances in Taxonomy and Utilization*, 24(1): 251–274.
- Doksöz, S. 2015. *In Vitro* Androjenez Yöntemi ile Farklı Patlıcan Genotiplerinde Dihaploid Hatların Elde Edilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, 49 s.
- 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(10): 983–988.
- Dumas de Vaulx, R., Chambonnet, D., and Pochard, E. 1981. Culture *In vitro* D’anthères de Piment (*Capsicum annuum* L.): Amélioration Des Taux D’obtention de Plantes Chez Différents Génotypes par des Traitements à + 35 °C. *Agronomie*, 1(10), 859–864.
- Dunwell, J. M. 1976. A Comparative Study of Environmental and Developmental

- Factors which Influence Embryo Induction and Growth in Cultured Anthers of *Nicotiana tabacum*. *Environmental and Experimental Botany*, 16(2): 109–118.
- Dunwell, J. M. 1979. Anther Culture in *Nicotiana Tabacum*: The Role of the Culture Vessel Atmosphere in Pollen Embryo Induction and Growth. *Journal of Experimental Botany*, 30(3): 419–428.
- Dunwell, J. M. 2010. Haploids in Flowering Plants: Origins and Exploitation. *Plant Biotechnology Journal*, 8(4): 377–424.
- Dunwell, J. M., and Cornish, M. 1985. Influence of Preculture Variables on Microspore Embryo Production in *Brassica napus ssp. oleifera* cv. Duplo. *Annals of Botany*, 56(3): 281–289.
- Dunwell, J. M., Cornish, M., De Courcel, A. G. L., and Middlefell-williams, J. E. 1983. Induction and Growth of “Microspore-Derived” Embryos of *Brassica napus ssp. oleifera*. *Journal of Experimental Botany*, 34(12): 1768–1778.
- Dwivedi, S. L., Britt, A. B., Tripathi, L., Sharma, S., Upadhyaya, H. D., and Ortiz, R. 2015. Haploids: Constraints and Opportunities in Plant Breeding. *Biotechnology Advances*, 33(6): 812–829.
- Ekweogu, C. N., Ude, V. C., Nwankpa, P., Emmanuel, O., and Ugbo, E. A. 2019. Ameliorative Effect of Aqueous Leaf Extract of *Solanum Aethiopicum* on Phenylhydrazine - Induced Anaemia and Toxicity in Rats. *Toxicological Research*, 234(6): 1–12.
- Ellialtıoğlu, Ş., Başay, S., ve Kuşvuran, Ş. 2012. Patlıcanda Polen Dimorfizmi ve Anter Kültürü İlişkisinin İncelenmesi. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 5(1): 149–152.
- Ellialtıoğlu, Ş. S., Kaplan, F., and Abak, K. 2001. The Effect of Carrot Extract and Activated Charcoal on the Androgenesis of Pepper. *EUCARPIA*, 12(1): 1–5.
- Ellialtıoğlu, Ş., Başay, S., ve Kuşvuran, Ş. 2006. Anter Kültüründen Elde Edilen Haploid Patlıcanların Katlanması Amacıyla Kullanılan In vitro ve In vivo Kolhisin Uygulamalarının Karşılaştırılması. *ResearchGate*, 1: 1–5.
- Ellialtıoğlu, Ş., ve Tıprıdamaz, R. 1999. Patlıcan Anter Kültüründe Absizik Asit Miktarını Azaltıcı Uygulamaların Androjenetik Embriyo Oluşumuna Etkisi. *Biyoteknoloji (Kökem) Dergisi*, Cilt:24, ss.23-32.
- FAO 2023. FAO Statistics Database Collections. Available online: <http://www.fao.org/faostat> (Accessed April 2025).
- 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., Epp, D. J., and Keller, W. A. 1996. Evaluation of *Brassica rapa* L. Genotypes for Microspore Culture Response and Identification of a Highly Embryogenic Line. *Plant Cell Reports*, 14(8): 580–584.
- Ferrie, A. M. R., and Keller, W. A. 1995. Microspore Culture for Haploid Plant Production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 17(5): 155–164.

- Ferrie, A. M. R., and Keller, W. A. 1997. Production of Haploids in Brassica spp. via Microspore Culture. *Plant Tissue Culture Manual*, 6(3): 1–17.
- Ferrie, A. M. R., and Möllers, C. 2011. Haploids and Doubled Haploids in *Brassica spp.* for Genetic and Genomic Research. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 104(3): 375–386.
- Foroughi-Wehr, B., and Mix, G. 1979. *In vitro* Response of *Hordeum Vulgare* L. Anthers Cultured from Plants Grown Under Different Environments. *Environmental and Experimental Botany*, 19(6): 303–309.
- Foroughi-Wehr, B., and Wenzel, G. 1993. Andro- and Parthenogenesis. In: *Journal of Agricultural Sciences* 4(17), pp. 261–277.
- Forster, B. P., Heberle-Bors, E., Kasha, K. J., and Touraev, A. 2007. The Resurgence of Haploids in Higher Plants. *Trends in Plant Science*, 12(8): 368–375.
- Fraikue, F. B. 2016. Unveiling the Potential Utility of Eggplant: A Review. *Prosiding*, 18(11): 1–12.
- Friedman, M. 2015. Chemistry and Anticarcinogenic Mechanisms of Glycoalkaloids Produced by Eggplants, Potatoes, and Tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23(3): 1–15.
- García-Forteza, E., Lluch-Ruiz, A., Pineda-Chaza, B. J., García-Pérez, A., Bracho-Gil, J. P., Plazas, M., Gramazio, P., Vilanova, S., Moreno, V., and Prohens, J. 2020. A Highly Efficient Organogenesis Protocol Based on Zeatin Riboside for *In vitro* Regeneration of Eggplant. *BMC Plant Biology*, 20(1): 1–16.
- Gémes Juhász, A., Venczel, G., Sági, Z., Gajdos, L., Zatykó, L., Kristóf, Z., and Vági, P. 2006. Production of Doubled Haploid Breeding Lines in Case of Paprika, Spice Paprika, Eggplant, Cucumber, Zucchini and Onion. *Acta Horticulturae*, 725(10): 845–853.
- Germanà, M. A. 2011. Anther Culture for Haploid and Houbled Haploid Production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 104(3): 283–300.
- Germanà, M. A., Chiancone, B., Lain, O., and Testolin, R. 2005. Anther Culture in *Citrus Clementina*: A Way to Regenerate Tri-Haploids. *Australian Journal of Agricultural Research*, 56(8): 839–845.
- Gönülşen, N. 1987. Bitki Doku Kültürleri Yöntemleri ve Uygulama Alanları. Ege Tar. Araştırma Ens. Menemen-İzmir, Yayınları, 78, ss. 140.
- Gramazio, P., Alonso, D., Arrones, A., Villanueva, G., Plazas, M., Toppino, L., Barchi, L., Portis, E., Ferrante, P., Lanteri, S., Rotino, G. L., Giuliano, G., Vilanova, S., and Prohens, J. 2023. Conventional and New Genetic Resources for an Eggplant Breeding Revolution. *Journal of Experimental Botany*, 74(7): 1–21.
- Guan, W., Ke, C., Tang, W., Jiang, J., Xia, J., Xie, X., Yang, M., Duan, C., Wu, W., and Zheng, Y. 2022. Construction of a High-Density Recombination Bin-Based Genetic Map Facilitates High-Resolution Mapping of a Major QTL Underlying Anthocyanin Pigmentation in Eggplant. *International Journal of Molecular*

- Sciences*, 23(18): 1–16.
- Guha, S., and Maheshwari, S. C. 1964. *In vitro* Production of Embryos from Anthers of *Datura*. *Nature*, 204(49): 497.
- Günay A. 1992. Özel Sebze Yetiştiriciliği. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara. Cilt. 4, 6 s.
- Güvenç İ. 2016. Sebzecilik: Temel Bilgiler Muhafaza ve Yetiştiricilik. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Avşar Kampüsü, Kahramanmaraş, 206 s.
- Hansson B. 1978. Temperature Shocks, A Method of Increasing the Frequency of Embryoid Formation in Anther Culture of Swede Rape (*Brassica napus* L.). *Sver. Utsaedsfoeren Tidskr*, 88(3): 141-148.
- Hatipoğlu R. 1999. Bitki Biyoteknolojisi. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü. Genel Yayın, Adana, ss. 1-178.
- Hatipoğlu, R. 2012. Bitki Biyoteknolojisi. Ders Kitabı, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Yayın No:176, Adana.
- Heberle-Bors, E. 1985. *In vitro* Haploid formation from Pollen: A Critical Review. *Theoretical and Applied Genetics*, 71(3): 361–374.
- Heidstra, R., Yang, W. C., Yalcin, Y., Peck, S., Emons, A., Kammen, A., and Bisseling, T. 1997. Ethylene Provides Positional Information on Cortical Cell Division, but is not involved in Nod Factorinduced Root Hair Tip Growth in Rhizobium-Legume Interaction. *Development*, 127: 1781-1787.
- Isourad, G., Raquin, C., and Demarly, Y. 1979. Obtention de Plantes Haploides et Diploides par Culture In Vitro D'Aubergine (*Solanum melongena* L.). *C. R. Acad. Sci.*, Paris, 288: 987-989.
- Kakizaki, Y. 1931. Hybrid Vigor in Eggplants and Its Practical Utilization. *Genetics*, 16(2): 1–25.
- Kaloo, G. 1993. Eggplant (*Solanun melongena* L.). *Genetic Improvement of Vegetable Crops*. Pergamon Press, pp. 587-604.
- Karakullukçu, Ş. 1991. Değişik Patlıcan Genotiplerinde *In vitro* Androgenesis ve Haploid Bitki Oluşumunu Uyarıcı Bazı Etmenler Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara. 120 s
- Karakullukçu Ş., ve Abak K. 1992. Bazı Patlıcan Çeşitlerinin Anter Kültürüne Tepkileri. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yıllığı, Cilt:42, ss. 7-12.
- Karakullukçu Ş, ve Abak K 1993. Patlıcanda Anter Kültürü Üzerinde Araştırmalar: I. Elverişli Tomurcuk Gelişim Döneminin Belirlenmesi. *Doğa TU Agri. Forestry*, 17: 801–810.
- Kasha K. J., and Kao K. N. 1970. High Frequency Haploid Production in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Nature*, 225: 874–876.
- 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(7): 1–25.
- Kaushik, P., Gramazio, P., Vilanova, S., Raigón, M. D., Prohens, J., and Plazas, M. 2017. Phenolics Content, Fruit Flesh Colour and Browning in Cultivated Eggplant, Wild Relatives and Interspecific Hybrids and Implications for Fruit Quality Breeding. *Food Research International*, 102(9): 1–47.
- Keller, W. A., and Armstrong, K. C. 1979. Stimulation of Embryogenesis and Haploid Production in *Brassica campestris* Anther Cultures by Elevated Temperature Treatments. *Theoretical and Applied Genetics*, 55(2): 65–67.
- Keller, W. A., Armstrong, K. C., and de la Roche, A. I. 1983. The Production and Utilization of Microspore-Derived Haploids in *Brassica* Crops. *Plant Cell Culture in Crop Improvement*, 23(8): 169–183.
- Keller, W. A., and Stringham, G. R. 1978. Production and Utilization of Microspore Derived Plants. In: Thorpe, T. A. (Ed.), *Frontiers of Plant Tissue Culture*. Calgary University Press, Calgary, pp. 113–122.
- Khan, M. R., Matsuyama, T., Nakamura, I., Ureshino, K., Arita, T., Iwayoshi, M., Ogura-Tsujita, Y., and Isshiki, S. 2022. Production of Doubled Haploid through Anther Culture of the Male-Fertile Lines in the CMS System of Eggplant with the Cytoplasm of *Solanum grandifolium*. *Environmental Control in Biology*, 60(3): 187–190.
- Knapp, S., Bohs, L., Nee, M., and Spooner, D. M. 2004. Solanaceae - A Model for Linking Genomics with Biodiversity. *Comparative and Functional Genomics*, 5(3): 285–291.
- Knapp, S., and Peralta, I. E. 2016. The Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and its Botanical Relatives. *Natural History Museum*, 15(12): 1–19.
- Kostoff, D. 1929. An Androgenic *Nicotiana* Haploid. 23(5): 640–642.
- Kouassi, A. B., Kouassi, K. B. A., Sylla, Z., Plazas, M., Fonseca, R. M., Kouassi, A., Fonseca, H., N’guetta, A. S. P., and Prohens, J. 2020. Genetic Parameters of Drought Tolerance for Agromorphological Traits in Eggplant, Wild Relatives, and Interspecific Hybrids. *Crop Science*, 61(1): 1–14.
- Kumar, A., Sharma, V., Jain, B. T., and Kaushik, P. 2020. Heterosis Breeding in Eggplant (*Solanum melongena* L.): Gains and Provocations. *Plants*, 9(3): 1–18.
- Kumar, S., Singh, M., and Mathews, A. 2003. In vitro Induction of Haploid in Eggplant (*Solanum melongena* L.). *Plant Genetic and Breeding*, 22(1): 146–150.
- Lazar, M. D., Schaeffer, G. W., and Baenziger, P. S. 1984. Cultivar and Cultivar x Environment Effects on the Development of Callus and Polyhaploid Plants from Anther Cultures of Wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 67(7): 273–277.
- Liu, W., Qian, Z., Zhang, J., Yang, J., Wu, M., Barchi, L., Zhao, H., Sun, H., Cui, Y., and Wen, C. 2019. Impact of Fruit Shape Selection on Genetic Structure and Diversity Uncovered from Genome-Wide Perfect SNPs Genotyping in Eggplant.

- Molecular Breeding*, 39(11): 1–13.
- Maheshwari, S. C., Rashid, A., and Tyagi, A. K. 1982. Haploids from Pollen Grains- Restrospect and Prospect. *American Journal of Botany*, 69(5): 865-879.
- Maluszynski, M., Kasha, K. J., and Szarejko, I. 2003. Published Doubled Haploid Protocols in Plant Species. *Doubled Haploid Production in Crop Plants*, 67(9): 309–335.
- Mangino, G., Vilanova, S., Plazas, M., Prohens, J., and Gramazio, P. 2021. Fruit Shape Morphometric Analysis and QTL Detection in a Set of Eggplant Introgression Lines. *Scientia Horticulturae*, 282(10): 1–14.
- McGehee, D. S., Krasowski, M. D., Fung, D. L., Wilson, B., Gronert, G. A., and Moss, J. 2000. Cholinesterase Inhibition by Potato Glycoalkaloids Slows Mivacurium Metabolism. *Anesthesiology*, 93(2): 510–519.
- Meyer, R. S., Karol, K. G., Little, D. P., Nee, M. H., and Litt, A. 2012. Phylogeographic Relationships Among Asian Eggplants and New Perspectives on Eggplant Domestication. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63(3): 685–701.
- Mir, R., Calabuig-Serna, A., and Seguí-Simarro, J. M. 2021. Doubled Haploids in Eggplant. *Biology*, 10(7): 1–16.
- Misoo, S., Yokota, F., and Matsubayashi, M. 1981. Effects of Inoculation- ways of Anthers on the Pollen Mitosis and Plantlet Formation in Tobacco Anther Culture. *Rep. Soc. Crop Sci. Breed Kinki*, 26: 44–48.
- Misra, N. R., Varghese, T. M., Maherchandani, N., and Jain, R. K. 1983. Studies on Induction and Differentiation of Androgenic Callus of Solanum Melongena L. *Plant Cell Culture in Crop Improvement*, pp. 465–468.
- Mitykó, J., Andrásfalvy, A., Csilléry, G., and Fári, M. 1995. Anther Culture Response in Different Genotypes and F1 Hybrids of Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Breeding*, 114(1): 78–80.
- Mueller, L. A., Solow, T. H., Taylor, N., Skwarecki, B., Buels, R., Binns, J., Lin, C., Wright, M. H., Ahrens, R., Wang, Y., Herbst, E. V., Keyder, E. R., Menda, N., Zamir, D., and Tanksley, S. D. 2005. The SOL Genomics Network. A Comparative Resource for *Solanaceae* Biology and Beyond. *Plant Physiology*, 138(3): 1310–1317.
- Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plant*, 15:473-497.
- Murovec, J., and Bohanec, B. 2012. Haploids and Doubled Haploids in Plant Breeding. *IntechOpen*, 32(1): 87–106.
- Naeem, M. Y., and Ugur, S. 2019. Nutritional Content and Health Benefits of Eggplant. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(3): 31–36.
- Nitsch, C. 1981. Production of Isogenic Lines: Basic Technical Aspects of Androgenesis. In: Thorpe TA (Ed.), *Plant Tissue Culture Methods and Applications in Agriculture*. Academic Press, New York, pp. 241–252.

- Nowaczyk, P., and Kisiała, A. 2006. Effect of Selected Factors on the Effectiveness of *Capsicum annuum* L. Anther Culture. *Journal of Applied Genetics*, 47(2): 113–117.
- Olmstead, R. G., Bohs, L., Migid, H. A., Santiago-Valentin, E., Garcia, V. F., and Collier, S. M. 2008. A Molecular Phylogeny of the Solanaceae. *Taxon*, 57(4): 1159–1181.
- Osolnik, B., Bohanec, B., and Jelaska, S. 1993. Stimulation of Androgenesis in White Cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) Anthers by Low Temperature and Anther Dissection. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 32(7): 241–246.
- Paksoy, M., Ellialtıoğlu, Ş., Sari, N., and Abak, K. 1995. Factors Effecting *In Vitro* Culture of the Anthers of some Brassica Species. Turkish Journal of Botany, Turkey.
- Pierik, R. L. M. 1997. *In Vitro* Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 344.
- Polignano, G., Ugenti, P., Bisignano, V., and Gatta, C. Della. 2014. Genetic Divergence Analysis in Eggplant (*Solanum melongena* L.) and Allied Species. *Genet Resour Crop Evol*, 57(2): 171–181.
- Portis, E., Cericola, F., Barchi, L., Toppino, L., Acciarri, N., Pulcini, L., Sala, T., Lanteri, S., and Rotino, G. L. 2015. Association Mapping for Fruit, Plant and Leaf Morphology Traits in Eggplant. *PLoS ONE*, 10(8): 1–23.
- Powell, W. 1988. The Influence of Genotype and Temperature Pretreatment on Anther Culture Response in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 297(12): 291–297.
- Powell, W. 1990. Environmental and Genetical Aspects of Pollen Embryogenesis. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, 12(5): 45–65.
- Prigge, V., Schipprack, W., Mahuku, G., Atlin, G. N., and Melchinger, A. E. 2012. Development of *In vivo* Haploid Inducers for Tropical Maize Breeding Programs. *Euphytica*, 185(3): 481–490.
- Raghavan, V. 1988. Embryogenesis in Angiosperms: A Developmental and Experimental Study. *Folia Geobotanica ET Phytotaxonomica*, 23(5): 144–155.
- Raina S. K., and Iyer R. D. 1973. Differentiation of Diploid Plants from Pollen Callus in Anther Cultures of *Solanum melongena* L. *Z Pflanzenzucht*, 70: 275–280.
- Rakha, M., Prohens, J., Taher, D., Wu, T., and Solberg, S. O. 2021. Eggplant (*S. melongena*, *S. aethiopocum* and *S. macrocarpon*) Breeding. In: J. M. Al-Khayri, S. M. Jain, and D. V Johnson (Eds.), *Advances in Plant Breeding Strategies: Vegetable Crops*: Springer Nature Switzerland AG, pp. 163-203.
- Raquin, C. 1983. Utilization of Different Sugars as Carbon Source for *In vitro* Anther Culture of Petunia. *Zeitschrift Für Pflanzenphysiologie*, 111(5): 453–457.
- Reinert, J. P., and Bajaj, P. S. 1978. Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue, and Organ Culture. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, pp. 508–510.

- Research Group of Haploid Breeding. 1978. Induction of Haploid Plants of *Solanum Melongena* L. Proceedings of the “Symposium on Plant Tissue Culture”, *Sci. Press, Peking*, pp. 227–232.
- Reynolds, T. L. 1997. Pollen Embryogenesis. *Plant Molecular Biology*, 33(1): 1–10.
- Ribarits, A., Ank, M., Li, S., Resch, T., Fiers, M., Heberle-Bors, E., Liu, C.-M., and Touraev, A. 2009. Combination of Reversible Male Sterility and Doubled Haploid Production by Targeted Inactivation of Cytoplasmic Glutamine Synthetase in Developing Anthers and Pollen. *Journal of Plant Biotechnology*, 5(1): 483–494.
- Ro, N., Haile, M., Kim, B., Cho, G. T., Lee, J., Lee, Y. J., and Hyun, D. Y. 2022. Genome-Wide Association Study for Agro-Morphological Traits in Eggplant Core Collection. *Plants*, 19(11): 1–21.
- Rotino, G. L., Falavigna, A., and Restaino, F. 1987. Production of Anther-Derived Plantlets of Eggplant. *Capsicum Newsletter*, 6: 89–90.
- Rotino, G. L. 1996. Haploidy in Eggplant. In: S. M. Jain, S. K. Sopory and R. E. Veilleux (Eds.), *In Vitro* production in Higher Plants, Vol. 3. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 115–141.
- Rotino, G. L. 2016. Anther Culture in Eggplant (*Solanum melongena* L.). In: M. A. Germana and M. Lambardi (eds), *In Vitro* Embryogenesis in Higher Plants, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 1359. Springer Science+Business Media, New York, pp.453–466.
- Rotino, G. L., Sala, T., and Toppino, L. 2014. Eggplant. In: A. Pratap and J. Kumar (eds.), *Alien Gene Transfer in Crop Plants*, Vol. 2. Springer Science+Business Media, LLC, pp. 381–403.
- Rudolf, K., Bohanec, B., and Hansen, M. 1999. Microspore Culture of White Cabbage, *Brassica oleracea* var. capitata L.: Genetic Improvement of Non-Responsive Cultivars and Effect of Genome Doubling. agents. *Plant Breeding*, 118(2): 237–241.
- Salas, P., Prohens, J., and Seguí-Simarro, J. M. 2011. Evaluation of Androgenic Competence through Anther Culture in Common Eggplant and Related Species. *Euphytica*, 182(4): 261–274.
- Salas, P., Rivas-Sendra, A., Prohens, J., and Seguí-Simarro, J. M. 2012. Influence of the Stage for Anther Excision and Heterostyly in Embryogenesis Induction from Eggplant Anther Cultures. *Euphytica*, 184(2): 235–250.
- Salinier, J., Lefebvre, V., Besombes, D., Burck, H., Causse, M., Daunay, M., Dogimont, C., Goussopoulos, J., Gros, C., Maisonneuve, B., Mcleod, L., Tobal, F., and Stevens, R. 2022. The INRAE Centre for Vegetable Germplasm: Geographically and Phenotypically Diverse Collections and Their Use in Genetics and Plant Breeding. *Plants*, 347(11): 1–19.
- Sambandam, C. N. 1964. Natural Cross Pollination in Eggplant (*Solanum melongena*). *Economic Botany*, 18(2): 128–131.

- Samtiya, M., Aluko, R. E., Dhewa, T., and Moreno-Rojas, J. M. 2021. Potential Health Benefits of Plant Food-Derived Bioactive Components: An Overview. *Foods*, 10(4): 1–25.
- Schippers, R. R. 2000. African Indigenous Vegetables: An Overview of the Cultivated Species. Natural Resources Institute/ACP-EU Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation, Chatham, UK.
- Scorsatto, M., Pimentel, A. de C., da Silva, A. J. R., Sabally, K., Rosa, G., and de Oliveira, G. M. M. 2017. Assessment of Bioactive Compounds, Physicochemical Composition, and *In vitro* Antioxidant Activity of Eggplant Flour. *International Journal of Cardiovascular Sciences*, 30(3): 235–242.
- Scorsatto, M., Rosa, G., Raggio Luiz, R., da Rocha Pinheiro Mulder, A., Junger Teodoro, A., and Moraes de Oliveira, G. M. 2019. Effect of Eggplant Flour (*Solanum melongena* L.) Associated with Hypoenergetic Diet on Antioxidant Status in Overweight Women - A Randomised Clinical Trial. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(6): 1–8.
- Scott, P., Lyne, R. L., and Rees, T. 1995. Metabolism of Maltose and Sucrose by Microspores Isolated from Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Planta*, 197(3): 435–441.
- Seguí-Simarro, J. M. 2016. Androgenesis in *Solanaceae*. In: M. A. Germanà and M. Lambardi (Eds.), *In Vitro Embryogenesis in Higher Plants, Methods in Molecular Biology*, Vol. 1359. Springer Science+Business Media, New York, pp.453-466.
- Seguí-Simarro, J. M., Corral-Martínez, P., Parra-Vega, V., and González-García, B. 2011. Androgenesis in Recalcitrant Solanaceous crops. *Plant Cell Reports*, 30(5): 765–778.
- Seguí-Simarro, J. M., Jacquier, N. M. A., and Widiez, T. 2021. Overview of *In vitro* and *In vivo* Doubled Haploid Technologies. *Double Haploid Technology*, Vol. 2287, pp.3-22.
- Seguí-Simarro, J. M., and Nuez, F. 2008. Pathways to Doubled Haploidy: Chromosome Doubling During Androgenesis. *Cytogenetic and Genome Research*, 120(4): 358–369.
- Sekara, A., Cebula, S., and Kunicki, E. 2007. Cultivated Eggplants – Origin , Breeding Objectives and Genetic Resources, A Review. *Folia Horticulturae*, 19(1): 97–114.
- Shannon, P. R. M., Nicholson, A. E., Dunwell, J. M., and Davies, D. R. 1985. Effect of Anther Orientation on Microspore-Callus Production in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 4(3): 271–280.
- Shariatpanahi, M. E., and Ahmadi, B. 2016. Isolated Microspore Culture and Its Applications in Plant Breeding and Genetics. *Plant Tissue Culture: Propagation, Conservation and Crop Improvement*, 21(10): 487–506.
- Shariatpanahi, M. E., Bal, U., Heberle-bors, E., and Touraev, A. 2006. Stresses Applied for the Reprogramming of Plant Microspores Towards *In vitro* Embryogenesis. *Physiologia Plantarum*, 127(7): 519–534.

- Sharma, M., and Kaushik, P. 2021. Biochemical Composition of Eggplant Fruits: A Review. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(15): 1–13.
- Sharma, A. K., and Sharma, M. 1972. Chromosome Techniques: Theory and Practice. Butterworths/University Park Press, London/Baltimore.
- Siasos, G., Tousoulis, D., Tsigkou, V., Kokkou, E., Oikonomou, E., Vavuranakis, M., Basdra, E. K., Papavassiliou, A. G., and Stefanadis, C. 2013. Flavonoids in Atherosclerosis: An Overview of their Mechanisms of Action. *Current Medicinal Chemistry*, 20(21): 2641–2660.
- Singh, M., and Kumar, R. 2007. Eggplant (*solanum melongena* L.). Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement: *Vegetable Crops*, 3(4): 473–488.
- Smykal, P. 2000. Pollen Embryogenesis-The Stress Mediated Switch from Gametophytic to Sporophytic Development. Current Status and Future Prospects. *Biol. Plant*, 43: 481–489.
- Sopory, S. K., and Maheshwari, S. C. 1976. Morphogenetic Potentialities of Haploid and Diploid Vegetative Parts of *Datura innoxia*. *Zeitschrift Für Pflanzenphysiologie*, 77(3): 274–277.
- Sopory, S. K., and Munshi, M. 1996. Anther culture. 1(4): 145–176.
- Sunderland, N., and Dunwell, J. M. 1977. Anther and Pollen Culture. In: Street H. E. (Ed.), Plant Tissue and Cell Culture. Oxford, Blackwell, pp. 223–265.
- Sunderland, N., and Dunwell, J. M. 1972. Conditions for Embryoid Formation in *Nicotiana* Pollen. *Ann Rep John Innes Institute*, 62: 60–61.
- Sunderland, N., and Roberts, M. 1979. Cold-pretreatment of Excised Flower Buds in Float Culture of Tobacco Anthers. *Annals of Botany*, 43(4): 405–414.
- Sunseri, F., Polignano, G. B., Alba, V., Lotti, C., Bisignano, V., Mennella, G., D' Alessandro, A., Bacchi, M., Riccardi, P., Fiore, M. C., and Ricciardi, L. 2010. Genetic Diversity and Characterization of African Eggplant Germplasm Collection. *African Journal Plant Science*, 4(7): 231–241.
- Taher, D., Solberg, S. Ø., Prohens, J., Chou, Y., Rakha, M., and Wu, T. 2017. World Vegetable Center Eggplant Collection: Origin, Composition, Seed Dissemination and Utilization in Breeding. *Frontiers in Plant Science*, 8(8): 1–12.
- Thomas, T. D. 2008. The Role of Activated Charcoal in Plant Tissue Culture. *Biotechnology Advances*, 26(6): 618–631.
- Thriveni, V., Sharma, D., Singh, J., Jha, Z., Sukla, N., and Saxena, R. 2020. The Effect of Cold Preculture, Media and Incubation Temperatures on Callus Induction via Anther Culture in Brinjal (*Solanum melongena* L.). *International Journal of Chemical Studies*, 8(6): 2717–2722.
- Toppino, L., Barchi, L., Lo Scalzo, R., Palazzolo, E., Francese, G., Fibiani, M., D'alessandro, A., Papa, V., Laudicina, V. A., Sabatino, L., Pulcini, L., Sala, T., Acciarri, N., Portis, E., Lanteri, S., Mennella, G., and Rotino, G. L. 2016. Mapping

- Quantitative Trait Loci Affecting Biochemical and Morphological Fruit Properties in Eggplant (*Solanum melongena* L.). *Frontiers in Plant Science*, 7(3): 1–16.
- Touraev, A., Prosser, M., and Heberle-bors, E. 2001. The Microspore : A Haploid Multipurpose Cell. *Advances in Botanical Research*, 35(9): 54–94.
- Tuberosa, R., Sanguineti, M. C., and Conti, S. 1987. Anther Culture of Eggplant (*Solanum melongena* L.) Lines and Hybrids. *Genet. Agr.*, 41: 267–274.
- Tulecke, W. R. 1953. A Tissue Derived from the Pollen of Ginkgo biloba. *Science*, 117(5): 599–600.
- TÜİK. 2024. Bitki Üretim İstatistikleri. Türkiye İstatistik Kurumu, <https://biruni.tuik.gov.tr/media/?kn=92&locale=tr> [Son erişim tarihi: 26.04.2025].
- Vavilov, N. I. 1951. The Origin, Variation, Immunity and Breeding of Cultivated Plants. Translated by K. Start. Waltham, MA: Chronica Botanica.
- Vergne, P., Delvallee, I., and Dumas, C. 1987. Rapid Assessment of Microspore and Pollen Development Stage in Wheat and Maize using DAPI and Membrane Permeabilization. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 62(5): 299–304.
- Vorontsova, M. S., Stern, S., Bohs, L., and Knapp, S. 2013. African Spiny *Solanum* (subgenus leptostemonum, solanaceae): A Thorny Phylogenetic Tangle. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 173(3): 176–193.
- Vural, G. E. 2019. Patlıcanda (*Solanum melongena* L.) Haploid Bitki Elde Etme Amacıyla Anter ve Shed-Mikrospor Kültürlerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 96 s.
- Vural, G. E., and Ari, E. 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(2): 1–14.
- Vural, G. E., Ari, E., Zengin, S., and Ellialtıoglu, S. S. 2019. Development of Androgenesis Studies on Eggplant (*Solanum melongena* L.) in Turkey from Past to Present. *IntechOpen*, 12(6): 1–26.
- Wang, M., Van Bergen, S., and Van Duijn, B. 2000. Insights into a Key Developmental Switch and its Importance for Efficient Plant Breeding. *Plant Physiology*, 124: 523–530.
- Yang, Q., Li, Y., Cai, L., Gan, G., Wang, P., Li, W., Li, W., Jiang, Y., Li, D., Wang, M., Xiong, C., Chen, R., and Wang, Y. 2023. Characteristics, Comparative Analysis, and Phylogenetic Relationships of Chloroplast Genomes of Cultivars and Wild Relatives of Eggplant (*Solanum melongena*). *Current Issues in Molecular Biology*, 45(4): 2832–2846.
- Yangn, H. Y., and Zhou, C. 1979. Experimental Research on the Two Pathways of Pollen Development in *Oryza sativa*. *Acta Bot Sin*, 21: 345–351.
- Yeung, E. C., and Stasolla, C. 2000. Somatic Embryogenesis-Apical Meristem and Embryo Conversion. *Korean Journal of Plant Tissue Culture*, 27(4): 299–308.

Yıldırım, Ş. 2020. Investivation of Sources of Eggplant (*Solanum melongena*) Resistant to *Lygus* Several Species. Master's Thesis, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 32 s.



ÖZGEÇMİŞ

Vasco Eddie TEAH

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans (2022-2025)	Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye
Lisans (2016-2021)	Cuttington Üniversitesi, Ziraat Faküesi, Bitki ve Toprak Bilimi Anabilim Dalı, Bong İlçesi, Liberya

MESLEKİ GÖREVLER

Yardımcı Araştırmacı (2021-2022)	Merkez Tarım Araştırma Enstitüsü, Bong İlçesi, Liberya
Sayım Görevlisi (2021)	Tarım Bakanlığı, Liberya