

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

İ. Ercan EKBİÇ

**SAKIZ ENGİNAR ÇEŞİDİNDE MEYDANA GELEN DÖNÜŞÜM ÜZERİNDE
ARAŞTIRMALAR**

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2005

ÖZ

DOKTORA TEZİ

**SAKIZ ENGİRAR ÇEŞİDİNDE MEYDANA GELEN DÖNÜŞÜM
ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR**

İ. Ercan EKBİÇ

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

Danışman I : Prof. Dr. Kazım ABAK

Danışman II : Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA

Yıl: 2005, Sayfa: 87

Jüri: Prof.Dr. Kazım ABAK

Prof.Dr. Saadet BÜYÜKALACA

Prof.Dr. Nebahat SARI

Prof.Dr. Mehmet TOPAKTAŞ

Prof.Dr. Benian ESER

Bu çalışma 2000–2005 yılları arasında Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü deneme alanları ve laboratuvarlarında yürütülmüştür. Çalışmada Sakız enginar çeşidi ile bu çeşidin tek yönlü dönüşümü sonucu oluşmuş Ara tip ve Yerli tip bitkiler arasındaki farklılıklar morfolojik, sitolojik ve moleküler olarak araştırılmıştır.

Elde edilen bulgulara göre Sakız, Ara tip ve Yerli tip bitkilerin ploidi düzeyleri aynı çıkmıştır. Kök ucu kromozom sayımlarına göre her üç tipte de kromozom sayısı bakımından farklılık olmadığı ve bunların diploid olduğu belirlenmiştir. Flow sitometri analizleri de bu bulguları desteklemiştir.

RAPD tekniği ile yapılan moleküler çalışmalarda Sakız, Ara tip ve Yerli tip bitkilerin genetik olarak birbirine çok benzediği ve çok az farklılıkların olduğu gözlenmiştir. Oluşturulan dendogramda üç tip aynı grupta yer almıştır.

GA₃ uygulamaları bitkilerde hem morfolojik özellikler üzerinde etkili olmuş hem de belli bir erkencilik sağlamıştır. Sakız tipinde 12 gün, Ara tip bitkilerde 14-16 gün ve Yerli tip bitkilerde 14 günlük bir erkencilik elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Enginar, *C. scolymus*, kromozom, RAPD, moleküler markır

ABSTRACT

PhD THESIS

STUDIES ON VARIATION OF GLOBE ARTICHOKE cv. SAKIZ

İ. Ercan EKBİÇ

**DEPARTMENT OF HORTICULTURE
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA**

Supervisor I : Prof. Dr. Kazım ABAK

Supervisor II : Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA

Year: 2005, Page: 87

Jury: Prof.Dr. Kazım ABAK

Prof.Dr. Saadet BÜYÜKALACA

Prof.Dr. Nebahat SARI

Prof.Dr. Mehmet TOPAKTAŞ

Prof.Dr. Benian ESER

This study was carried out between 2000-2005 years in laboratories and implementation areas of Çukurova University, Agricultural Faculty, Horticultural Department. In the experiment the differences among Sakiz, Ara and Yerli types (divagated types of Sakiz) were investigated in terms of morphological, cytological and molecular features.

According to the ploidy study results the ploidy levels of Sakiz, Ara type and Yerli type of artichoke were found to be same. Chromosome counting results showed that no differences among all types of cv. Sakiz and these results were supported by flow cytometry analysis.

Molecular studies carried by RAPD technique showed that Sakiz, Ara type and Yerli type plants were observed as closely related in genetically means. These three types took part in the same group of the dendrogram.

GA₃ treatments were found to be effective either on morphological or on earliness characteristics of the plants. It provided 12 days earliness in Sakiz, 14-16 days in Ara type and 14 days in Yerli type plants.

Key Words: Globe artichoke, *C. scolymus*, chromosome, RAPD, molecular marker

TEŞEKKÜR

Danışman hocam sayın Prof. Dr. Kazım ABAK'a tez konumun belirlenmesi ve yürütülmesi aşamalarında bana sağladığı olanaklardan ve her türlü yol gösterici yardımlarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yine tezimin her aşamasında, özellikle laboratuvar çalışmalarında destek sağlayan ve her türlü yardımlarını gördüğüm sayın hocam Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA'ya içtenlikle teşekkür ederim.

Tezimin yürütülmesi sırasındaki fikirlerinden dolayı sayın hocam Prof.Dr. Nebahat SARI'ya teşekkür ederim. Yine özellikle kromozom çalışmalarında bana destek olan ve laboratuvar imkanları sunan sayın hocam Prof.Dr. Mehmet TOPAKTAŞ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Gazi Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi sayın Prof.Dr. Fatma ÜNAL'a kromozom çalışmalarım sırasında sağladığı yardımlardan dolayı çok teşekkür ederim.

Tezimin yürütülmesi ve yazım aşamalarında bana her türlü destekte bulunan Araştırma Görevlisi arkadaşlarımdan Hatice BİLİR, Mehtap YILDIZ, Hatıra TAŞKIN, Songül ÇÖMLEKÇİOĞLU ve ismini saymadığım diğer tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu tezin tamamlanması için bana destek olan çalıştığım kurumum Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne ve bana her zaman destek olan oda arkadaşım Hakan FİDAN'a teşekkür ederim.

Ayrıca, çalışmanın finansal desteğini sağlayan Ç.Ü. Araştırma Fonu yetkililerine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
2.1. Sistematikteki Yeri ve Tarihçesi.....	6
2.2. Botanik Özellikleri.....	8
2.3. Çoğaltılması.....	10
2.4. Erkenciliğin Uyarılması İle İlgili Çalışmalar.....	12
2.5. Bitki Tipi Değişimi ile İlgili Çalışmalar.....	14
2.6. Kromozom İncelemeleri İle İlgili Çalışmalar.....	16
2.7. Moleküler Düzeyde Yapılan Çalışmalar.....	20
3. MATERYAL VE METOT.....	25
3.1. Bitkisel Materyal.....	25
3.2. Metot	28
3.2.1. Arazi çalışmaları.....	28
3.2.1.1. GA ₃ Uygulamaları.....	28
3.2.1.2. Morfolojik Gözlemler.....	29
3.2.1.3. Toprak Altı Gövdesinin Düşük Sıcaklıkta Muhafazası.....	29
3.2.2. Laboratuvar Çalışmaları.....	30
3.2.2.1. İn vitro Kültürü Çalışmaları.....	30
3.2.2.2. Fizyolojik Gözlemler.....	30
3.2.2.3. Sitolojik Gözlemler.....	31
3.2.2.3.(1). Stoma Uzunluğu.....	31
3.2.2.3.(2). Flow Sitometri Analizleri.....	31

3.2.2.3.(3). Kök Ucu Kromozom Sayımları.....	32
3.3. RAPD Analizleri.....	35
3.3.1. DNA İzolasyonu.....	38
3.3.2. RAPD-PCR Çalışmaları.....	40
3.3.3. Elektroforez.....	41
3.3.4. RAPD Bandlarının Değerlendirilmesi.....	41
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	43
4.1. Enginar Parselindeki Tüm Klonlara Ait Gözlem Sonuçları.....	43
4.1.1. Klonlarının Erkencilik Özellikleri.....	45
4.2. Düşük Sıcaklık Uygulamalarının Bitki Tipi Değişimine Etkisi.....	47
4.3. GA ₃ Uygulamalarının Bitkisel Özellikler Üzerine Etkileri.....	49
4.3.1. GA ₃ Uygulamalarının Klorofil Miktarı İle Yaprak Şekli ve Büyüklüğü Üzerindeki Etkileri.....	49
4.3.2. GA ₃ Uygulamalarının Erkencilik Üzerine Etkileri.....	57
4.3.3. GA ₃ Uygulamasının Baş Şekli Üzerindeki Etkileri.....	58
4.4. Laboratuvar Çalışmaları.....	62
4.4.1. İn vitro Kültür Sonuçları.....	62
4.4.2. Katalaz Enzim Aktivitesi.....	63
4.4.3. Ploidi Düzeyi İle İlgili Bulgular.....	64
4.4.3.1. Kromozom Sayımı Sonuçları.....	64
4.4.3.2. Flow Sitometri Analizi Sonuçları.....	67
4.4.3.3. Stoma Uzunluğu İle İlgili Bulgular.....	68
4.4.4. Moleküler Çalışmalar.....	70
4.4.4.1. RAPD PCR analizleri.....	70
4.4.4.2. Genetik Yakınlıklar.....	73
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	77
KAYNAKLAR.....	80
ÖZGEÇMİŞ.....	87

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1. Enginar üretiminin dünyadaki durumu (Anonim, 2003).....	2
Çizelge 3.1. Denemede kullanılan primerler ve baz dizilimleri (Operon).....	36
Çizelge 3.2. DNA izolasyon çözeltileri.....	39
Çizelge 3.3. PCR-RAPD Protokolü.....	41
Çizelge 4.1. 2000-2001 döneminde enginar parsellerindeki bitkilerin yaprak şekillerine göre durumları.....	44
Çizelge 4.2. İlk Baş Oluşumuna Kadar Geçen Süre (gün).....	45
Çizelge 4.3. Enginarın toprakaltı gövdesinin dinlenme döneminde düşük sıcaklıklarda muhafaza edilmesinin geriye dönüşüm üzerindeki etkisi (%).....	49
Çizelge 4.4. Klorofil ölçümü sonuçları (spat değerleri).....	50
Çizelge 4.5. GA ₃ uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) bitkilerde yaprak genişliği ve uzunluğu ölçümüne ait bulgular.....	52
Çizelge 4.6. Uyandırma sulamasından hasada kadar geçen süre.....	57
Çizelge 4.7. GA ₃ uygulanmış ve uygulanmamış Sakız, Yerli ve Ara tip enginar bitkilerine ait morfolojik özellikler.....	58
Çizelge 4.8. GA ₃ uygulamasının enginar başlarının indeks değerleri üzerine etkisi.....	62
Çizelge 4.9. Sakız enginar çeşidi ve varyantlarında katalaz enzim aktiviteleri.....	64
Çizelge 4.10. RAPD markırları ile oluşturulmuş genetik uzaklık katsayıları.....	74

Şekil 2.1. Violet de Provence çeşidinde oluşan değişik bitki tipleri (Pécaut ve Martin, 1993).....	15
Şekil 2.2. Violet de Provence ve Tudela çeşidi ve varyantlarının yaprak ve köklerinde flow sitometri analizi sonuçları (Pécaut ve Martin, 1993).....	19
Şekil 2.3. OPAG12 primerinin oluşturduğu RAPD bantları (Lanteri ve ark., 2001).....	23
Şekil 2.4. OPO17 primerinin oluşturduğu bant profilleri (Sonnante ve ark., 2002)...	24
Şekil 3.1. Denemelerin ana materyali olan Sakız çeşidine ait bir bitkinin genel görünümü.....	27
Şekil 3.2. “Ara Tip” özellikleri taşıyan bir bitkinin genel görünümü.....	27
Şekil 3.3. “Yerli Tip” özellikleri taşıyan bir bitkinin genel görünümü.....	28
Şekil 3.4. Kromozom sayımları için yetiştirilen bitkiler.....	32
Şekil 3.5. Örnek alma aşamasındaki enginar kökleri.....	34
Şekil 3.6. Feulgen ile köklerdeki meristematik bölgenin boyanmasının şematik görünümü.....	35
Şekil 4.1. Enginar toprakaltı gövdelerinin düşük sıcaklık koşullarında muhafaza edilişi.....	47
Şekil 4.2. GA ₃ uygulamasının yaprak rengi üzerindeki etkileri.....	51
Şekil 4.3. GA ₃ uygulamalarının yaprak genişliği üzerine etkisi.....	51
Şekil 4.4. GA ₃ uygulamalarının yaprak uzunluğu üzerine etkileri.....	52
Şekil 4.5. GA ₃ uygulanmamış Sakız bitkisi.....	53
Şekil 4.6. GA ₃ uygulanmış Sakız bitkisi.....	53
Şekil 4.7. GA ₃ uygulanmamış Ara tip bitki.....	54
Şekil 4.8. GA ₃ uygulanmış Ara tip bitki.....	54
Şekil 4.9. GA ₃ uygulanmamış Yerli tip bitki.....	55
Şekil 4.10. GA ₃ uygulanmış Yerli tip bitki.....	55
Şekil 4.11. GA ₃ uygulanmamış, tohumdan yetiştirilmiş enginar bitkisi.....	56
Şekil 4.12. GA ₃ uygulanmış, tohumdan yetiştirilmiş enginar bitkisi.....	56
Şekil 4.13. GA ₃ uygulanmamış Sakız tipi bitkideki baş şekli.....	59

Şekil 4.14. GA ₃ uygulanmış Sakız tipi bitkideki baş şekli.....	59
Şekil 4.15. GA ₃ uygulanmamış Ara tip bitkideki baş şekli.....	60
Şekil 4.16. GA ₃ uygulanmış Ara tip bitkideki baş şekli.....	60
Şekil 4.17. GA ₃ uygulanmamış Yerli tip bitkideki baş şekli.....	61
Şekil 4.18. GA ₃ uygulanmış Yerli tip bitkideki baş şekli.....	61
Şekil 4.19. İn vitro kültüre alınmış ve enfeksiyonlu sürgünler.....	63
Şekil 4.20. Sakız tipi bitkilerin kök uçlarından elde edilen kromozom görüntüleri.....	66
Şekil 4.21. Yerli tip bitkilerin kök uçlarından elde edilen kromozom görüntüleri.....	66
Şekil 4.22. Flow sitometri sonuçlarına ait bir görüntü.....	68
Şekil 4.23. Sakız tipi bitkilerin brakte yapraklarındaki stomalara ait bir görüntü.....	69
Şekil 4.24. Yerli tip bitkilerin brakte yapraklarındaki stomalara ait bir görüntü.....	69
Şekil 4.25. Enginar genotipleri arasında primer belirleme çalışmasından elde edilen bazı primerlerin Sakız ve Bayrampaşa enginar çeşitleri üzerinde oluşturdukları band profilleri (M: DNA leader).....	71
Şekil 4.26. OPAI10 ve OPAI12 primerlerinin genotiplerde oluşturdukları RAPD band profilleri (M: 1 Kb DNA leader).....	72
Şekil 4.27. OPAK09 ve OPAK11 primerlerinin genotiplerde oluşturdukları RAPD band profilleri (M: 1 Kb DNA leader).....	72
Şekil 4.28. Enginar genotiplerine ait genetik farklılıkların gösterildiği “Average Linkage” metoduna göre oluşturulmuş dendogram	75
Şekil 4.29. RAPD markırları ile elde edilmiş farklıların temel bileşen analizi.....	76

1. GİRİŞ

Tipik bir Batı ve Orta Akdeniz ülkeleri sebzesi olan enginarın (*Cynara scolymus* L.) ilk kültüre alınmasının Batı Akdeniz Havzasında M.S. ilk yüzyılda olduğu bildirilmiştir (Foury, 1987).

Enginar, kapitulum eksen tablası (çiçek tablası) ve yapraklarından çeşitli şekillerde faydalanılan bir bitkidir. Sebze olarak değerlendirilen kısmı, “baş” olarak adlandırılan kapitulum eksen tablası ile brakte yaprakların bir araya gelmesiyle oluşan ve olgun olmayan çiçekleri de içeren organlar topluluğudur. Besin değeri oldukça yüksek olan enginar, içerdiği besin maddelerinin zenginliği bakımından sebze ve meyveler arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Taze enginarın 100 g’ının tüketilmesi ile 86.5 g su, 9.9 g karbonhidrat, 2.8 g protein, 0.2 g yağ, 150 mg vitamin A, 8 mg vitamin C, 310 mg potasyum (K), 69 mg fosfor (P), 51 mg kalsiyum (Ca), 30 mg sodyum (Na) ve 11 mg demir (Fe) besin olarak alınır (Ryder ve ark., 1983).

Genellikle taze ve konserve olarak tüketilen enginar tıbbi etkisinin yüksek olması nedeniyle ilaç sanayiinde de oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Bayraktar, 1981). Enginar, besleyiciliği yanında insan vücudunun fizyolojik faaliyetlerine de etkide bulunur. Vücutta biriken toksik maddelerin nötrleştirilmesine, kalp faaliyetlerinin düzenlenmesine ve kan dolaşımıyla kılcal damar direncine olumlu etkileri vardır. İçerdiği “ciarın” (1,5-dicaffeoyl-guinic acid) karaciğer, safrakesesi ve bağırsakların düzenli çalışmasını sağlar (Messegue, 1973; Ryder ve ark., 1983). Bazı yörelerde yaprakların kaynatılması ile elde edilen suyun içilmesi ve bazı hallerde de başlarının kaynatılarak sularının içilmesi ile böbrek taşlarının düşürülmesinde işe yaradığı söylenmektedir (Macit ve Şalk, 1970). Ayrıca, sarılık tedavisinde vücuttaki ödemin giderilmesinde kullanıldığı belirtilmektedir (Bayraktar, 1981; Abak, 1987; Koçer, 1993). Bunların yanında enginarın, içerdiği krom nedeniyle şeker hastalığı tedavisinde de kullanıldığı bildirilmiştir (Müller ve ark., 1988).

Enginar yetiştiriciliği dünyanın bir çok yerinde yapılmakla birlikte, özellikle Akdeniz ülkelerinde ve bazı Amerika ülkelerinde yoğunluk kazanmaktadır (Çizelge

1.1). Dünyada 121.509 ha alanda yapılan 1.176.840 tonluk üretimde, İtalya 49.898 ha alan ve 388.700 tonluk üretimiyle ilk sırada bulunmakta; Türkiye ise 2.400 ha alan ve 26.000 tonluk enginar üretimiyle onbirinci sırada yer almaktadır (Anonim, 2003).

Çizelge 1.1. Enginar üretiminin dünyadaki durumu (Anonim, 2003)

Ülkeler	Ekiliş Alanı (ha)	Üretim (ton)
İtalya	49.898	388.700
İspanya	18.400	252.900
Arjantin	4.600	86.000
Fransa	12.000	68.000
Mısır	3.500	65.000
ABD	3.300	47.600
Fas	3.210	46.520
Çin	9.000	45.000
Cezayir	3.200	35.000
Yunanistan	3.000	35.000
Türkiye	2.400	26.000
Şili	3.300	25.500
Tunus	2.600	19.200
Dünya	121.509	1.176.840

Ekolojik istekleri bakımından seçici bir bitki olmakla birlikte, enginarın yetiştiriciliği açısından, Akdeniz Havzası içerisinde yer alan Türkiye’de uygun ve geniş alanlar bulunmaktadır. Buna rağmen ülkemize oldukça geç girmiş ve girdiği zamanlardan bu yana kadar da pek fazla yayılım göstermemiştir. Türkiye’de enginar üretimi özellikle Ege ve Marmara bölgelerinde yoğunlaşmıştır. Ancak, Akdeniz bölgesinin erkencilikte önemli olmasından dolayı yetiştiriciliği son yıllarda bu bölgede de yayılım göstermektedir.

Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan başlıca iki enginar çeşidi mevcuttur: “Sakız” ve “Bayrampaşa”. Sakız çeşidi erkenci özelliği nedeniyle taze tüketime yönelik üretilirken, geçici bir çeşit olan Bayrampaşa genellikle sanayiye (konserve) yönelik üretilmektedir (Abak, 1987). Bu iki yaygın üretilen çeşide ek olarak son yıllarda bazı

yabancı hibrit sanayi çeşitlerinin de üretilmeye başlandığı görülmektedir. Yaklaşık 26 bin tonluk (Anonim, 2003) üretimimiz olmasına karşın, enginar da iç pazar talebi ancak karşılanmaktadır ve önemli bir dış satımımız yoktur. Ancak özellikle konserve sanayiine yönelik taleplerde hızlı bir artış görülmektedir. Almanya, İngiltere, Avusturya, İsviçre, Belçika ve Lüksemburg gibi iklimi enginar yetiştiriciliğine uygun olmayan ülkelere az miktarda ihracatımız olmaktadır. Japonya da ithalatçı ülkeler arasında yer almaktadır. Başlıca ihracatçı ülkeler ise Fransa, İtalya, İspanya, Kıbrıs Rum Kesimi, Fas, Tunus, İsrail, Mısır ve Türkiye'dir (Abak, 1987).

Enginar pratikte genellikle vegetatif yolla çoğaltılan bir bitkidir. Köklü veya köksüz dip sürgünleri, üzerinde uyku tomurcukları taşıyan gövde parçaları, yarı uyur sürgün olarak adlandırılan ovuliler çoğaltma materyali olarak kullanılmaktadır (Snyder, 1981).

Generatif üretimlerde, protoandri (erkek çiçeklerin veya erselik çiçek yapısına sahip bitkilerde erkek organların daha dişi çiçek yada dişi organdan daha önce olgunlaşması) göstermesinden dolayı sorunlar ortaya çıkmakta ve tohum verimi düşük olmaktadır. Bunun yanında, heterozigot yapıda olması nedeniyle tohumla çoğaltmada açılımlar ve yabancılaşmalar söz konusudur. Ancak son yıllarda tohumla çoğaltılarak yetiştiriciliği yapılan F1 hibrit çeşitler de geliştirilmiştir (Mauromicale, 1994). Özellikle İtalya, İspanya ve Fransa'da tohumla yetiştiricilik giderek yaygınlık göstermektedir. Türkiye'de de bazı firmalar enginar tohumu getirip çiftçiler ile anlaşmalı enginar üretimi girişimlerinde bulunmaktadırlar. Ancak Türkiye'de tohumla yetiştiriciliği yapılan enginar üretimi özellikle sanayiye yönelik olarak yapılmaktadır.

Sakız enginar çeşidi erkenci özelliğinden dolayı ülkemizde enginar yetiştirilen bölgelerde ayrı bir öneme sahiptir. Ancak erkencilik özelliği iklim koşullarına bağlı olarak bir değişim göstermektedir. Akdeniz Bölgesi Sakız enginarı yetiştiriciliğinde erkencilik bakımından diğer bölgelere göre daha büyük bir potansiyele sahiptir.

Enginar yetiştiriciliği ülkemizde çok yıllık kültürler şeklinde yapılmaktadır. Yıl içindeki verim dağılımı incelendiğinde, verimin çoğunluğunun kış sonu ve ilkbahar aylarında elde edildiği görülmektedir. Bu verimi sonbahar sonu ile kış

aylarına doğru yayarak erkenci enginar yetiştiriciliğini daha da karlı duruma getirmek mümkündür. Ancak erkencilik özelliği olan Sakız çeşidinde ve çoğu erkenci enginar çeşitlerinde daha geç verime yatan ve morfolojik özellikleri itibarı ile farklı tipte olan bitki oluşumları gözlenmektedir. Aynı durum yaygın enginar yetiştiriciliği yapılan İtalya, Fransa ve İspanya gibi Akdeniz havzası ülkelerinde de erkenci enginar yetiştiriciliğini etkileyen önemli bir sorundur. Bu ülkelerde yetiştiriciliği yapılan “Liscio Sardo”, “Masedu”, “Violette de Provence”, “Violette de Corse” ve “Tudela” gibi erkenci özelliğe sahip olan enginar çeşitlerinde de yıldan yıla geççilik özelliği gösteren ve yaprak ve baş şekillerinde değişimlerle kendini gösteren benzer durumlar rapor edilmiştir (Pécaut ve Martin, 1993). Bu değişim oranı plantasyon yaşlandıkça daha da artmaktadır. Erkenci çeşitlerde görülen bu değişimin nedenleri üzerine henüz net bir bilimsel açıklama getirilememiştir.

Literatür incelendiğinde enginar genotiplerinde gözlenen değişim ile ilgili moleküler düzeyde bir çalışmanın yapılmadığı ve enginar genomu ile ilgili moleküler çalışmaların oldukça sınırlı sayıda kaldığı görülmektedir. Yapılan ilk çalışmalar Amerikan enginar çeşitleri arasındaki farklılıkların belirlenmesi amacıyla yönelik olmuştur (Tivang ve ark., 1996). Diğer yandan İtalya’da enginar çeşitleri ve yabani enginarlar (Carduun = devediken) arasındaki farklılıkların belirlenmesinde RAPD yöntemi kullanılmıştır (Sonnante ve ark., 2002). Acquardo ve ark. (2003) enginar genomu için SSRs tekniği ile mikrosatelit markırları geliştirmişlerdir.

Sakız enginar çeşidinde meydana gelen ve Yerli tip olarak adlandırılan bu tip bitkileri yaprak özellikleri bakımından kolaylıkla belirleyerek plantasyondan uzaklaştırmak mümkündür (Eser ve Özen, 1998). Ayrıca, köklü dip sürgünleri ile tek yıllık kültürler şeklinde yetiştiricilik yapmak suretiyle bu tip bitki oranı minimum düzeyde tutulabilir. Bu nedenle Mart-Nisan aylarında dip sürgünü alınıp, köklendirme parsellerinde köklendirildikten sonra, bunlar plantasyonun yenilenmesinde kullanılabilir. Bu yöntem, köklendirme parsellerinde parçalı yapraklı olan bitkileri uzaklaştırma şansımızın olması gibi bir avantajı da beraberinde getirmektedir. Bunun yanında dönüşümü engellemek amacı ile değişik çalışmalar yapılmış ve bunlar arasında GA₃ uygulanmasının kısmen de olsa geriye dönüşümü engellediği ve erkencilik sağladığı belirtilmiştir.

Ancak en yüksek verimin çok yıllık kültürler şeklinde yapılan yetiştiricilikte ve ikinci yıldan itibaren alınıyor olması ve aynı zamanda her yıl yeni plantasyonlar kurma sorunu nedeniyle çok yıllık kültürler şeklinde yapılan yetiştiriciliğin yıllık yetiştiriciliğe göre daha avantajlı olduğu görülmektedir. Buna karşın çok yıllık kültürlerde de Yerli tip bitkiye dönüşüm oranının yıldan yıla artış göstermesi önemli sorunları beraberinde getirmektedir.

Sakız ve diğer erkenci enginar çeşitlerinde önemli bir sorun olan bu değişimin nedenleri hakkında kesin bir yargıya varılamamıştır. Yapılan çalışmalarda genellikle fenotipteki değişim incelenmiş, fenotipte farklı olan bu tip bitkilerin genetik olarak durumları çok ayrıntılı incelenememiştir. Bu konudaki ilk çalışmalar Fransa'da Pécaut ve Martin (1993) yapılmıştır. Türkiye'deki ilk çalışmalar ise Eser ve Özen (1998) tarafından gerçekleştirilmiştir. Türkiye'de Sakız enginar çeşidinde yapılan bu çalışmada özellikle farklı tiplerin ploidi düzeyleri ile fenolik bileşik içerikleri üzerinde durulmuştur. Bunların yanında in vitro çoğaltma, bitki yaşı ve GA₃ uygulamalarının dönüşüm üzerindeki etkileri de çalışmada ele alınmıştır. Ancak çalışmanın sonucunda değişimlerin nedenleri çok net biçimde açıklığa kavuşturulamamıştır.

Yapılan bu çalışmada Sakız enginar çeşidinde gözlenen bu dönüşüm sırasında bitkilerin genetik olarak değişip değişmediği RAPD yöntemiyle, ploidi düzeylerinin farklı olup olmadıkları, kök ucu kromozom sayımları, flow sitometri analizleri ve stoma özellikleri ile incelenmiştir. Ayrıca GA₃ uygulamalarının bitkinin fenotipik ve fizyolojik özellikleri üzerindeki etkileri de araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Sistematikteki Yeri ve Tarihçesi

Kültür enginarı (*Cynara scolymus* L.), marul, şikori ve hindiba gibi birçok türü de kapsayan *Compositae* (=Asteraceae=Bileşik çiçekliler) familyasının bir üyesidir (Ryder ve ark., 1983). Bazı botanikçiler kültür enginarının (*Cynara scolymus*), *Cynara cardunculus*'un değişime uğramasıyla elde edilen bir form olduğu ihtimali üzerinde durmuşlardır. Bunların *Cynara cardunculus*'un önceleri yabani olarak tüketildiğini ve sonra kültüre alınmış olabileceğini ileri sürdükleri belirtilmektedir (Laumonnier, 1964; Ryder ve ark., 1983).

Kültürü yapılan enginar (*Cynara scolymus* L.) ile *Cynara cardunculus* L. (Orta ve Batı Akdeniz havzasında), *Cynara syriaca* Boiss. (Türkiye'nin güneyi, Suriye, Lübnan ve İsrail'de) ve *Cynara sibthropiana* Boiss ve Heldr (Güney Yunanistan ve Ege adalarında) gibi yabani enginarları kapsayan *Cynara* cinsi küçük bir taksonomik grup olarak tanımlanmıştır (Zohary ve Basnizki, 1975). Enginar konusunda otorite sayılan araştırmacılar Foury'nin de yazarları arasında bulunduğu ve enginarın geniş bir kısım olarak içinde yer aldığı bir kitapta bu görüş benimsenmiş ve *Cynara* cinsinde üç tür bulunduğu kabul edilmiştir (Chaux ve Foury, 1994).

Botanikçi Fiori ise yaptığı çalışmaya dayanarak *Cynara* cinsi içerisinde yer alan *Cynara cardunculus* L.'un üç botanik formunun bulunduğunu ileri sürmektedir (Migliori, 1995). Bu üç form;

Cynara cardunculus L. var. *altalis* D.C. (Kültüre alınmış yabani enginar)

Cynara cardunculus L. *Cynara scolymus* L. (Kültür enginarı)

Cynara cardunculus L. var. *silvestris* Lam. (Yabani enginar)

olarak bildirilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada Doğu Akdenizde yaygın yabani bir tür olan *Cynara syriaca* Boiss'ın ıslah çalışmalarındaki önemi ve kültürü yapılan enginarın nereden geldiği konuları üzerinde durulmuştur (Basnizki, 1979). Bu çalışmada *Cynara syriaca* Boiss, *Cynara cardunculus* L. ve *Cynara scolymus* L. arasında

melezlemeler yapılmış ve yüksek oranda hibritler elde edilmiştir. Bu nedenle araştırmacı bu üç türün aslında farklı türler olmadığını ve aynı türün botanik varyeteleri olduğu tezini ortaya atmıştır. Başka bir araştırmacı da *Cynara syrica* Boiss.'nın doğuda, *Cynara cardunculus* L.'un da batıda bulunan yabani form olduğunu belirtmiştir (Janin, 1979).

Enginarın kelime olarak kökeni üzerinde durularak, sözcüğün kaynağının Yunan mitolojisine dayandığı ve Cynara isminin, kül renkli, uzun saçlı, genç ve güzel bir kızın isminden geldiği belirtilmektedir (Eser ve Özen, 1998). Mitolojik öyküye göre bu genç kız, sevgilisi aşk tanrısı Jüpiter tarafından enginar şekline dönüştürülmüştür. Cynara ismi Cenere “Cendre = kül” sözcüğünden gelmektedir. Scolymus terimi ise dikenli, sivri anlamını taşımaktadır ve yine Yunanca'dan gelmektedir.

Enginarın eski Yunanca'daki adı “kinara”dır ve Kıbrıs'ta “angynara”, Türkiye'de “enginar” ve Arnavutluk'ta “anginare” olarak kullanılmaktadır (Migloiri, 1995). Görüldüğü gibi Türkçe adı ile bu ülkelerdeki adları arasında bir benzerlik bulunmaktadır.

Enginar Akdeniz havzası orijinli bir türdür. Esas anavatanının Orta ve Doğu Akdeniz olduğu ve buradan 2000-2500 yıl önce Mısır'a ve daha uzak ülkelere götürüldüğü bildirilmektedir (Ryder ve ark., 1983).

Enginar hakkındaki ilk kayıtlara Romalılar döneminde rastlandığı, kültürü yapılan enginarın büyük bir olasılıkla eski Yunanlılar ve Romalılar zamanında yabani enginarın gelişimi ile ortaya çıktığı ve M.S. birinci yüzyılda yetiştirilmeye başlandığı bildirilmektedir (Ryder ve ark., 1983). Chaux ve Foury (1994)'ye göre bu sebzenin tarımı 16. yüzyıldan itibaren Akdeniz ülkelerine yayılmaya başlamıştır. Enginarın Türkiye'ye gelişi çok daha geç olmuştur ve 1940'lı yıllardan sonra Sakız adasından getirilip, Kemer'deki bahçelerde yetiştirildiği bildirilmektedir (Kütahyalı, 1971).

2.2. Botanik Özellikleri

Gelişmiş bir enginar bitkisi 1 m kadar yüksekliğe sahip olmakta ve toprak yüzeyinde 1.20 m² kadar bir alan kaplamaktadır. Yapraklar toprak üzerinde rozet şeklinde dizilmektedir. Bitkiler, çeşide ve yetiştirme mevsimlerine göre değişmekle birlikte 30-40 kadar yaprak oluşturmaktadır (Choux ve Foury, 1994). Çeşit özelliğine bağlı olarak yaprak şekilleri dilimsiz, az parçalı veya derin parçalı, uzun olup, kenarları düz veya dişli bir yapı göstermektedir. Yaprakların alt yüzeyi gri renkli tüylerle kaplıdır. Rozet şeklinde dizilmiş yaprakların ortasında yer alan büyüme ucunda, hava sıcaklığının uygun hale gelmesiyle (13-17 °C) çiçek sapı oluşmaya başlar ve uzar. Çiçek sapı üzerinde en uçta bir tane (ana baş) onun altında birkaç tane (genellikle iki bazen üç) olmak üzere yan başlar oluşmaktadır (Macit ve Şalk, 1970). Başlar irilik ve şekil bakımından çeşitler arasında farklılık göstermektedir. Abak (1987), enginarda baş şekillerini; uzun, uzun-oval, omuzlu-oval, silindirik, yuvarlak ve basık olmak üzere değişik gruplarda sınıflandırmıştır. Choux ve Foury (1994) ise baş şekillerinin aynı çeşitte bile mevsime ve yetiştirme yerine göre değişebileceğini belirtmekte; Violette de Provence çeşidinde, Güney Fransa'da sonbaharda oluşan başların dar ve uzun-oval, ilkbahardakilerin ise daha geniş olduğunu; aynı çeşidin İspanya'da düzgün ve sıkı silindirik bir görünüm verdiğini, Güney Afrika'nın kuzeyinde ise dağınık brakteler verdiğini ve gevşek bir baş oluşturduğunu belirtmektedir.

Dellacecca ve ark. (1976), enginarları morfolojik özelliklerine göre dört ana grup altında toplamıştır:

Spinosi grubu: Brakteler üzerinde ve yapraklarda uzun dikenleri olan grup

Violetti grubu: Erken ilkbaharda hasat edilen ve başlarda mor renk oluşumları gösteren grup

Romaneschi grubu: Geç ilkbaharda hasat edilen, iri basık yuvarlak başlar oluşturan grup

Catanesi grubu: Geç sonbahardan ilkbahara kadar uzun bir hasat periyoduna sahip olan ve uzun başlar oluşturan grup.

Elia ve Miccolis (1996) ise enginarları erkenciliklerine ve baş özelliklerine göre aşağıdaki gibi sınıflandırmışlardır:

- A grubu: Erkenci çeşitler
- B grubu: Orta erkenci çeşitler
- C grubu: Küçük başlı ve geçici çeşitler
- D grubu: Mor renkli başlar oluşturan geçici çeşitler
- E grubu: İri başlara sahip geçici enginar çeşitleri

Enginar başlarındaki brakte yaprakların renkleri ve uçlarındaki dikenlilik durumu da çeşitlere göre farklılıklar göstermektedir. Brakte yapraklar, uzun ve dar yada daha kısa ve geniş olabildiği gibi uç kısımları da bazı çeşitlerde girintili bazılarında ise sivri ve ovaldir. Bazı çeşitlerde brakteler birbiri üzerine sıkıca kapanmış iken (sıkı baş) bazılarında ise daha gevşektir (Abak, 1987). Bu özelliklerden brakte rengi bir dominant gen, dikenlilik ise eklemeli iki çift gen ile kontrol edilmektedir (Foury, 1979).

Enginar çiçekleri erselik yapıdadır ve çiçek tablası üzerinde 600-1200 adet çiçek bulunmaktadır. Çiçeklerin olgunlaşması tablanın dış kısmından başlayıp merkeze doğru devam etmektedir. Protandri özelliğinden dolayı, enginar yabancı döllen bir bitkidir (Ryder ve ark., 1983). Aynı özellik nedeniyle tohum bağlaması da azdır ve zordur. Çiçekler yalnızca böceklerle tozlanır (Choux ve Foury, 1994).

Enginarın tohumu tetragonal akendir. Kabukları kahverengimtrak ve parlak olan tohumların ortalama ağırlıkları 40-60 mg arasındadır (17-25 adet/g) (Choux ve Foury, 1994).

Enginar bitkisinin toprak altı gövdesi çok yıllıktır. Kök gövdesi üzerindeki uyur gözler sonbaharda ilk yağmurlardan veya sulandıktan sonra uyanıp sürerek ertesi yıl ürün verecek bitkileri meydana getirirler. Enginar geniş ve derin bir kök sistemine sahiptir. Çok iyi toprak koşullarında kökler 120 cm'den daha derine inebilmektedir (Abak, 1987; Foury, 1987).

2.3. Çoğaltılması

Kültüre alındığı ve değişik ülkelere dağıldığı dönemden itibaren enginar hem tohumla hem de vegetatif yöntemle çoğaltılmış; 17. yüzyıldan sonra tohumla çoğaltma tekniği terkedilmiş ve 20. yüzyılın sonlarına kadar vegetatif çoğaltmanın kullanıldığı bir sebze olarak kalmıştır (Choux ve Foury, 1994).

Enginar bitkisi günümüzde de genellikle vegetatif yolla çoğaltılarak yetiştiriciliği yapılan bir sebze türüdür. Bu amaçla toprak altı gövdesi üzerindeki gözlerden süren dip sürgünleri ile üretim yapılabilmektedir. Abak (1987), enginarda sonbahar ve ilkbahar dönemlerinde sürgün alınarak çoğaltma yapılabileceğini belirtmiş ve ilkbahar döneminde alınan dip sürgünlerinin sonbahar dönemindeki sürgünlere göre daha kuvvetli olduğunu ve daha homojen bir gelişim gösterdiğini bildirmiştir. Bunun yanında gözler bitkiden ayrılıp, ayrı bir yerde sürdürülüp köklendirilerek fide haline getirildikten sonra da dikimde kullanılabilir. Yaz aylarında tam veya yarı dinlenme durumunda bulunan yaşlı bitkilerin toprak altı gövdeleri üzerindeki bu gözler veya memeler (ovoli) gövdeye zarar vermeden alınırlar. Enginarın gövde parçaları da çoğaltmada kullanılabilir. Bunun için yaz aylarında dinlenme halindeki enginarların gövdeleri en az 7-8 cm çapında ve uzunlukta olacak şekilde parçalanır ve sonra çoğaltma materyali olarak değerlendirilir. Synder (1981), gövde parçaları ve sürgünler ile çoğaltmanın tatminkâr sonuçlar verdiğini, fakat bu materyallerin yeni elde edilen klonların hızlı çoğaltılmasında yetersiz kaldığını belirtmektedir. Bu nedenle küçük sürgünler yerine olgunlaşmış sürgünlerin kullanılmasının daha doğru olacağı rapor edilmiştir.

Tohumla yetiştiricilik hızlı çoğaltmaya olanak vermesi ve hastalıkların taşınması ile ilgili sorunların çözülmesi bakımından büyük avantajlara sahiptir (Foury ve Martin, 1974). Bunun yanında tek yıllık olarak yapılan ve tohumdan yetiştirilen çeşitler çok yıllık yetiştirilenlere oranla daha verimli ve daha kaliteli olmaktadır (Macua ve ark., 2000). Ancak F1 hibrit çeşitlerin geliştirilmesi oldukça zor bir iştir (Foury, 2000); ayrıca tohumluk üretimi de kolay değildir.

Enginar ıslahının tarihi incelendiğinde, ıslah ve genetik çalışmalarının bazı karakterlerin kalıtımı ile sınırlı kaldığı görülmektedir (Pecaut, 1993). Klonlar arası

melezleme (Foury, 1969; Miller, 1975; Scarascia Mugnozza ve Pacucci, 1976; Tesi, 1976) ve klon içi seleksiyon (Deidda, 1967; Abbate ve Noto, 1981; Pecaut, 1983) yöntemleri kullanılan ıslah programlarında erkencilik, baş kalitesi ve verim gibi karakterler temel amaç olmuştur. 1980’li yıllardan sonra çalışmalar yön değiştirmeye başlamış ve tohumla yetiştirilen çeşitlerin geliştirilmesi amacına yönelik ıslah programlarında yoğunlaşma olmuştur (Cointry ve ark., 2000).

Choux ve Foury (1994), enginarda çeşit geliştirme çalışmalarının 20. yüzyılın başlarına kadar yapılmadığını, bu bitkinin yetiştirildiği birkaç ülkede de 3-6 arasında çeşit bulunduğunu; enginarda yetiştiriciliğin ve üretiminde önemli sıçramalar gösterdiğini 1955-1975 arasında Fransa, İtalya ve İspanya’da çeşit geliştirme çalışmalarının hızlandığını bildirmektedirler.

Tohumla yetiştirilen enginarlardan daha yüksek verim ve daha kaliteli bir örnek başlar elde edilmektedir. İtalya’da yapılan bir çalışmada o zamana kadar F1 hibrit çeşitlerin çok yıllık olarak yetiştirildiğine dair herhangi bir literatürün olmadığı ve araştırmacıların bunu denemeye alarak 4 yıl süreyle yetiştiricilik yaptıkları rapor edilmiştir (Calabrese ve ark., 2000a). Araştırmacılar denemelerinde 7 hibrit çeşit ve kontrol olarak “Viyoletti di Provenza” çeşidini kullanmışlardır. İlk üç yıl süreyle tüm çeşitlerde yıllık ortalama 15 hasat yapılmış, dördüncü yılda hasat sayısı 11’e düşmüştür. Çalışmada N 4053, Orlando, Violetto di Provenza and N 4055 çeşitleri ortalama 205.000 adet/ha baş verirken, H 374 ve H 386 çeşitleri 172.000 adet/ha baş oluşturmıştır. Üretimin dördüncü yılında ise baş veriminde ortalama %22 oranında baş ağırlığında ise ortalama %30 oranında düşüşler meydana gelmiştir.

Tohumla yetiştirilen enginar çeşitlerinde fide yaşı ve fidenin şaşırtma zamanı incelendiğinde, Bucan ve ark. (2000)’nın yaptıkları çalışmaya göre 81 günlük fidelerin 51 günlük fidelere oranla daha yüksek boylu ve daha geniş rozet yapraklar meydana getirdiğini ancak bu farkın şaşırtmadan 7 ay sonra kaybolduğunu görmektediriz.

Tesi ve Lenzi (2000), Teorem enginar çeşidinin tohumlarından seleksiyonla elde ettikleri T3 genotipinin en uygun ekim dikim zamanının belirlenmesi üzerine çalışmışlardır. Araştırmacılar erkencilik ve verimin ekim zamanı ile doğrudan ilgili

olduğunu bildirmişlerdir. En yüksek verim ve kalitenin 15 Temmuz'da tohum ekimi ve bunların 20 Ağustos'ta şaşırtılması ile elde edildiğini bulmuşlardır.

2.4. Erkenciliğin Uyarılması İle İlgili Çalışmalar

Enginarda erkencilik çeşitlerin genetik yapısıyla ilgili olduğu kadar, uyandırma sulaması zamanı ve GA₃ uygulaması ile de yakından ilgilidir. Bununla birlikte erkenci çeşitlerde uyandırma sulamalarının çok erken yapılması ekonomik değeri olmayan başların oluşma oranını da artırmaktadır. Ege bölgesinde Sakız çeşidinde Ağustos'un ilk haftasında yapılan uyandırma sulaması ile atrofik olarak tabir edilen ekonomik değeri olmayan baş oluşumu oranı %15-26 olurken, GA₃ uygulamaları ile bu oran %4-19 oranlarına düşürülmüştür (Koçer ve Eser, 2000). Araştırmacılar kalitesiz baş oluşumunda bitki yaşının da önemli bir rolü olduğunu belirtmişlerdir.

GA₃ uygulaması tomurcuk oluşumunu hızlandırarak erkencilik sağlamaktadır ve bu nedenle enginar yetiştiriciliği yapılan tüm ülkelerde ticari olarak uygulanmaktadır. Bu konu çoğu çalışmanın temel amacı olmuş ve olumlu sonuçlar alınmıştır. GA₃ uygulamalarının enginarda büyüme ucunun dönüşümü için gerekli olan 7°C'nin altındaki 250 saatlik soğuklama ihtiyacının yerini aldığı belirtilmektedir (Mauromicale ve ark., 2000). Araştırmacılar tohum ile yetiştirilen çeşitlerde sonbahar döneminde hasat yapılabilmesi için tohum ekiminin 10 Temmuz'dan geç yapılmaması gerektiğini bildirmişlerdir. İtalyanın güneyinde yaptıkları bu çalışmada geç tohum ekiminin erkencilik üzerine olumsuz etkilerini ele almışlar; bunu gidermek için üç farklı vernalizasyon yöntemi ve 60 ppm tek doz GA₃ uygulaması yapmışlardır. Konrole herhangi bir uygulama yapılmamış, ikinci yöntemde tohumlar 12 gün 4 ± 1 °C'de torf içerisinde tutulmuş, bir diğer uygulamada ise tohumlar 12 gün 4 ± 1 °C torf içerisinde + fideler 25 gün 16s /8s fotoperiyod ve 20°C/7°C gündüz/gece sıcaklık koşullarına sahip büyütme odalarında tutulmuştur. Tohumlara ve fidelere düşük sıcaklık uygulaması erkencilik ve verim üzerinde az miktarda etkili olurken bu etkinlik GA₃ uygulaması ile yükseltilmiştir.

Enginarda giberellin uygulamaları 1970’li yıllardan beri yapılmaktadır. Önce ABD’de başlayan bu uygulamalar daha sonra İsrail’e, İtalya’ya ve Fransa’ya yayılmıştır. Doel ve Martinolli (1976), Mısır, Fransa ve İtalya’da yaptıkları incelemelerde giberellin uygulamalarında en uygun sonucun 10-40 ppm arasındaki dozlardan ve ilk başların hasadından 2-3 ay önce uygulandığı zamandan alındığını belirtmişlerdir.

GA₃ uygulama zamanları ve dozu çeşitlere göre farklılık göstermektedir (De Angelis, 1970). Kaliforniya’da Green Globe enginar çeşidi ile yapılan bir çalışmada uygulama zamanına bakılmaksızın GA₃ erkenciliği artırmış, fakat uygulama kışın veya erken ilkbaharda yapıldığında etkisi farklı olmuş; hasatta 6 ile 8 hafta bir erkencilik elde edilmiştir (Synder ve ark., 1971). Araştırmacılar sonuç olarak tahmin edilen hasat tarihinden 6 hafta önce 25-50 ppm dozda ve 1 kez uygulama yapılmasını önermişlerdir.

Choux ve Foury (1994) de, enginarlarda gibberellin uygulamalarının çeşitlere, ekolojik koşullara ve mevsime göre değişiklikler gösterdiğini belirtmektedirler. Yazarlar, Fransa’nın Akdeniz sahil kesiminde erkenci Violette de Provence çeşidinde ardı ardına iki kez 2-3 mg/bitki dozunda uygulamanın yeterli olduğunu ve 15-20 günlük erkencilik sağladığını; buna karşılık geççi Romanesco ve Blanch Hyerosis gibi çeşitlerde 10 mg/bitki dozunda iki kez uygulama yapmak gerektiğini bildirmektedirler.

Halter ve ark. (2000), Almanya’da tohum ile yetiştirilen Green Globe ve Imperial Star çeşitlerinde GA₃ uygulamalarının erkencilik, verim ve kalite üzerine etkilerini incelemişlerdir. Bitkiler 10, 12 ve 14 haftalık olduğunda 50 ppm dozda 1 kez GA₃ uygulaması yapmışlardır. Denemede Imperial Star çeşidi Green Globe çeşidinden 10 gün daha erkenci bulunurken, uygulama zamanına bağlı olarak GA₃ uygulaması yapılan bitkilerde 10 güne kadar varan erkencilikler sağlanmıştır. Araştırmacılar bitkilere 10 haftalık dönemde iken yapılan uygulamanın en iyi sonucu verdiğini bildirmişlerdir.

İtalya’da yapılan bir çalışmada (Calabrese ve ark., 2000b), 8 adet hibrit enginar çeşidi ve 2 adet vegetatif yolla çoğaltılan enginar çeşidinde GA₃ uygulamalarının erkencilik ve verim üzerine etkileri incelenmiştir. Üç yıl süre ile

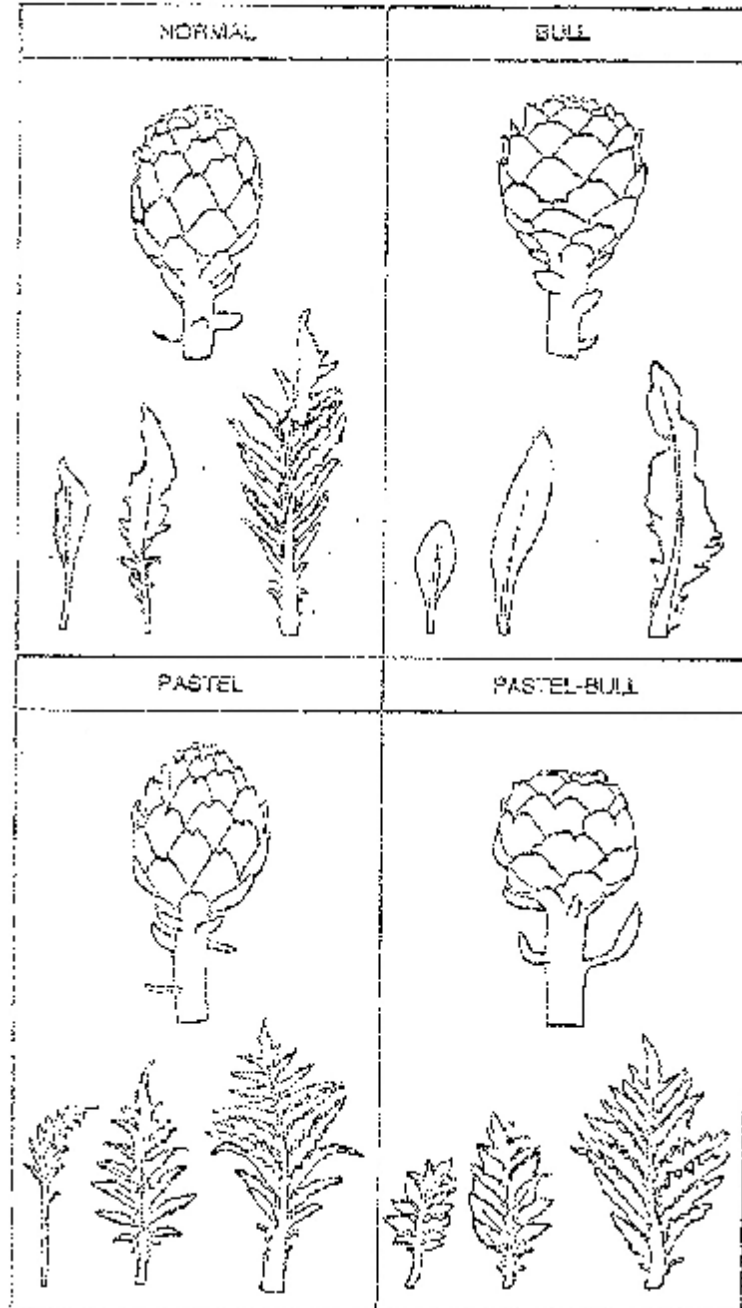
yapılan çalışmanın sonucunda, GA₃ uygulamalarıyla dikimden 97 gün sonra hasat yapabildikleri, çeşitlere göre 220.000 ile 175.000 adet/ha baş alabildikleri ve ortalama baş ağırlığının tüm çeşitlerde 150 g civarında olduğu bildirilmiştir.

Tiantong (2000) tarafından Tayland'da yapılan bir çalışmada 12.5 ve 25 ppm GA₃ dozları ile 1 Kasım, 15 Kasım, 1 Aralık ve 15 Aralık uygulama zamanlarının erkencilik ve verim üzerine etkileri araştırılmıştır. GA₃ uygulanan bitkilerde 12.5 ppm dozu ve 15 Aralık uygulama zamanı hariç diğer uygulamalarda kontrole göre 10 ile 20 gün arasında bir erkencilik elde edilmiştir. En yüksek verim 1.5 kg/bitki ile 15 Aralık'ta 25 ppm GA₃ uygulanan parsellerden alınmış, bunu 1.39 kg/bitki ile 1 Aralık'ta 12.5 ppm GA₃ uygulanan parseller izlemiştir.

2.5. Bitki Tipi Değişimi ile İlgili Çalışmalar

Akdeniz ülkelerinde erkenci özelliğe sahip enginar çeşitlerinin en önemli sorunlarından birisi de bitkilerin morfolojik özelliklerinden bir kısmının dengeli devam edememesi, sabit olmaması yani yıldan yıla farklı oranlarda olmak üzere bitki tiplerinde ortaya çıkan değişimlerdir. Bu konuda çalışan Pécaut ve Martin (1993), denemelerinde Escarot, Violet de Corse, Violet du Gapeau, Violet de Provence, Liscio Sardo, Masedu, Niscemese, Spinoso Sardo, Tudela ve Sakız çeşitlerini kullanmışlar; ancak gözlemlerini daha çok Fransız çeşidi olan Violet de Provence üzerinde yoğunlaştırmışlardır. Erkenci özelliğe sahip bu çeşitte yıldan yıla değişim gösteren 4 farklı tip belirleyen (Şekil 2.1) araştırmacılar, bu tiplerdeki durağanlık durumunu da incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, "Pastel" tipi bitkilerin hiçbirinin normal tipe dönmediği ancak in vitro koşullarda bir kısmının "Pastel-Bull" tipe dönüştüğü gözlenmiştir. "Bull" tipten normal tipe dönüşümün ise daha yaygın olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar bu olayı, Normal tipten "Bull" tipi bitkiye dönüşümde bitkinin tamamen etkilenmediği şeklinde yorumlamışlar; başın bir kısmında yada çiçek sapı ve rozet yaprakların bir kısmında kimerik bir yapının olabileceği şeklinde görüş belirtmişlerdir. Bu koşullarda "Bull" tipteki bir bitkiden hem "Bull" hem de "Normal" tipte sürgün alınabildiği bildirilmiştir. "Pastel-Bull"

tipi bitkilerin ise kararlı bir yapı gösterdiğini ve başka tiplere dönüşmediğini gözlemişlerdir.



Şekil 2.1. Violet de Provence çeşidinde oluşan değişik bitki tipleri (Pécaut ve Martin, 1993)

Türkiye’de yaygın yetiştiriciliği yapılan bir yerel çeşidimiz olan erkenci özelliğe sahip Sakız enginar çeşidi çok yıllık plantasyonlar şeklinde yetiştirilmektedir (Abak, 1987). Plantasyonlarda yıldan yıla bitki yaşına da bağlı olarak yapraklarda parçalılık özelliği olarak kendini gösteren ve bitkilerin daha geç verime gelmesi ile yerli tip diye tabir edilen bitkilere dönüşüm söz konusudur (Koçer, 1993). Bu dönüşüm genelde iki aşamada gerçekleşmekte; önce daha az parçalı formlar ortaya çıkmakta (Ara tip), sonuçta parçalı tip ortaya çıkmaktadır (Yerli tip).

Eser ve Özen (1998), Sakız enginar çeşidinin geriye dönüşümü üzerinde yaptıkları çalışmalarda, bitki yaşının da geriye dönüşüm üzerinde etkili bir faktör olduğunu, Sakız bitkisinin parçalı yapraklı ve geççi özelliğindeki yerli tip olarak adlandırılan bitkilere dönüştüğü gibi, Yerli tipteki bitkilerin de GA₃ uygulaması ile bütün yapraklıya dönüştüğünü ve erkenciliğin tekrar kazandırıldığını; ancak parçalı yapraklı olan ve GA₃ uygulaması ile bütün yapraklı hale gelen bitkilerin bu özelliğini yine koruyamadığını bildirmişlerdir.

Eser ve Özen (2000), bir öncekinin devamı olarak yaptıkları bir başka çalışmada toprak altı gövdesi üzerinde bulunan gözlerin yerlerinin de Sakız enginar çeşidi üzerinde etkili olduğunu belirtmişlerdir. Toprak altı gövdesinin alt kısımlarındaki gözlerden gelişen sürgünlerin genellikle Sakız tipinde sürdüğünü yani yapraklarının bütün olduğunu bildirmişlerdir.

2.6. Kromozom İncelemeleri İle İlgili Çalışmalar

Mendel’den başlayarak bitki genomları üzerinde 150 yılı aşkın süredir çalışılmaktadır (Zoshchuk ve ark., 2003). Genomu belirlemek amacıyla günümüze kadar yapılan kromozom inceleme çalışmaları dünya üzerinde yaşayan bitki türlerinin yaklaşık %25’inde gerçekleştirilebilmiştir. Bilinen en az sayıda kromozoma sahip bitki türleri *Asterasea* familyasından olan *Haplopapus gracilis*, *Brachychome dichromosomatica* ile tek çeneklilerden *Zingeria biebersteiniana* (2n = 4)’dır. Genomu küçük olan *Z. biebersteiniana* (2n = 4), Arabidopsis (2n = 2x = 10) ve çeltik (2n = 2x = 20) gibi bitki türleri her zaman genom çalışmalarında model olarak kullanılmışlardır. Yirminci yüzyılın ilk çeyreğinden sonra bitkilerdeki kromozom

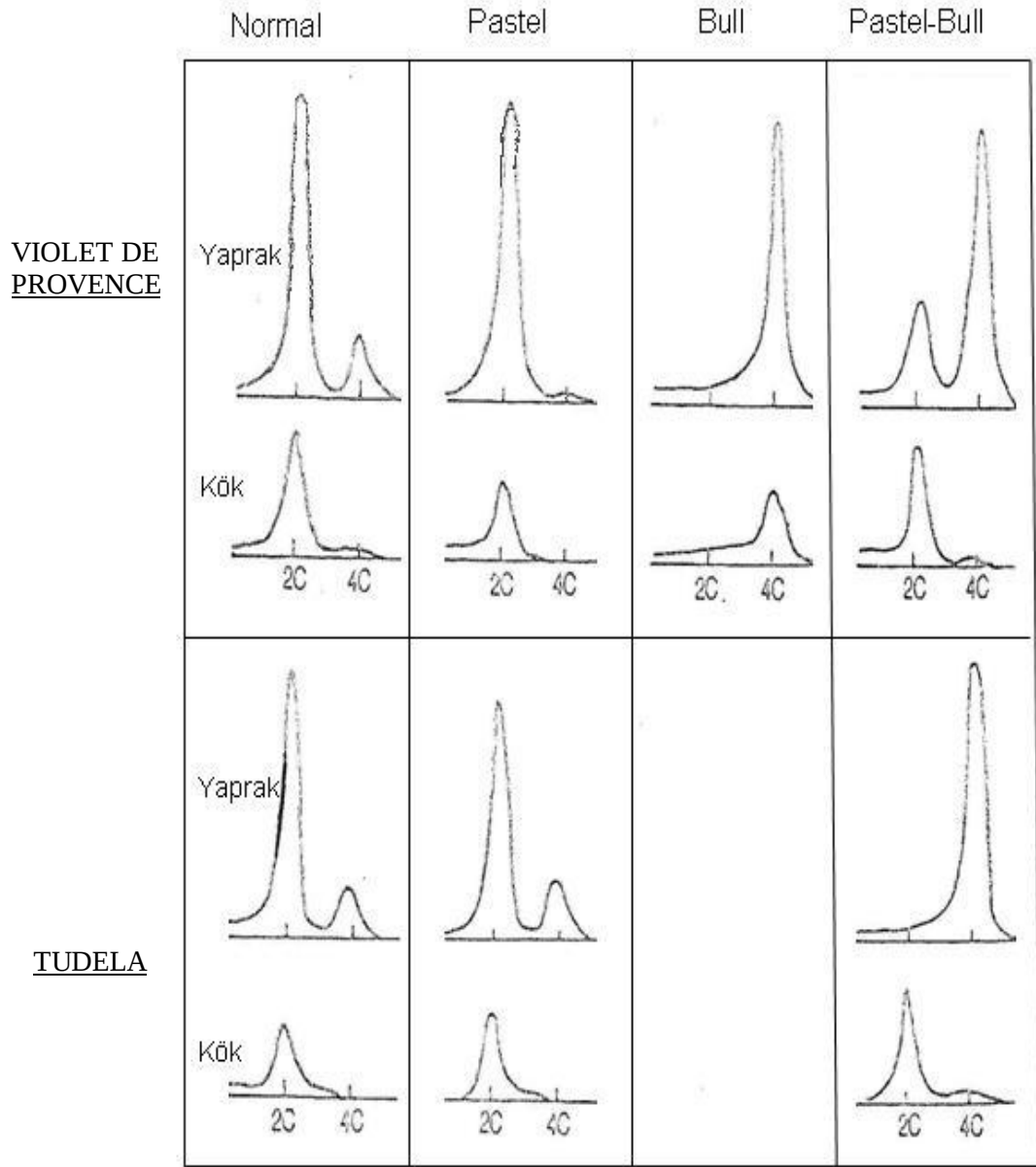
sayılarının yanında satellitlerin varlığı veya yokluğu gibi özellikler konusunda da çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Zoshchuk ve ark. (2003)'nın bildirdiklerine göre Rus hücre bilimcisi Navashin'in 1912 yaptığı bu çalışmalar sonraki yıllarda daha da önem kazanmıştır.

Diğer bir Rus hücre bilim adamı Levitskii karyotip olarak tabir edilen ve bitkilerin genetik pasaportu kabul edilen teoriyi geliştirmiştir. Böylece 1930'lu yıllardan sonra kromozomlar uzunlukları, sentromerlerinin yeri, ikincil bağlantıları ve satellitlerinin varlığı veya yokluğu gibi özellikler bakımından da değerlendirmeye alınmıştır (Zoshchuk ve ark., 2003).

Yine aynı kaynakta rapor edildiğine göre Heitz, kromozomları birbirinden ayırmak ve farklı bölgelerini belirlemek amacıyla "eukromatin" ve "heterokromatin" terimlerini ortaya koymuştur. Araştırmacı kromozomlardaki eukromatin ve heterokromatin bölgelerinin hücre metabolizmasına katkılarının farklı olduğunu, başka bir deyişle heterokromatik bölgelerin eukromatik bölgelere göre daha düşük fizyolojik aktiviteye sahip olduğunu savunmuştur. Aktif genlerin büyük çoğunluğunun kromozomlarda eukromatik bölgede bulunduğunu bildirmiştir. Bu yıllardan sonra bitkilerde kromozom yapılarının daha iyi analiz edilmesi amacı ile daha detaylı çalışmalar yapılmış ve günümüze kadar önemli teknikler geliştirilmiştir.

Enginar da yapılan kromozom çalışmaları ile ilgili çalışmalar incelendiğinde *Cynara scolymus*'un temel kromozom sayısının $2n = 2x = 34$ olduğu belirtilmektedir (Foury, 1967; Ryder ve ark., 1983). Bitkilerde ploidi düzeylerinin belirlenmesi amacıyla değişik çalışmalar yapıldığı ve değişik metotların kullanıldığı görülmektedir. Bunların başında, doğrudan kromozomların sayısının belirlendiği kök uçlarında ezme preparat yöntemi ile kromozom sayımları gelmektedir. Bu yöntemle Sakız enginar çeşidi ve varyantlarında yapılan çalışmalarda Sakız çeşidinin normal tipinde $2n = 2x = 14$ kromozom, ara tip bitkilerde 21 veya 28 kromozom ve yerli tip bitkilerde ise $2n = 4x = 28$ kromozom olduğu belirtilmektedir (Eser ve Özen, 1998). Buna karşılık Pecaut ve Martin (1993)'in Fransa'da yaptıkları çalışmada Violet de Provence ve Tudela çeşitlerinin "Normal", "Pastel" ve "Pastel-Bull" tiplerinde kök hücrelerinin 34 kromozoma sahip olduklarını ve nadiren "Normal" ve "Pastel" tiplerde 68 kromozom olduğunu gözlemişlerdir. Violet de Provence çeşidinin "Bull"

tipinde ise 68 kromozom olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada kök ucu kromozom sayımları yanında ploidi düzeyinin bir diğer göstergesi olan ve dolaylı olarak bitkilerin ploidi düzeyini gösteren yapraklarda “Flow Cytometry” analizleri de yapılmıştır (Şekil 2.2). Yapılan bu çalışmanın sonucunda Bull tipinin normal tipin tetraploid formu olduğu ileri sürülmüştür. Pastel-Bull tipin ise diploid-tetraploid şeklinde Bull tipinin karışık bir kimera formu olabileceği belirtilmiştir. Violot de Provence çeşidinde Pastel-bull tipi bitkilerin kök hücreleri diploid olarak gözlenirken yaprak hücrelerinde bir kısım hücrelerin tetraploid olması dikkati çekmiştir. Fakat Tudela çeşidinin pastel-bull bitkilerinde ise; köklerin diploid, üst aksamın ise tamamen tetraploid hücrelerden oluştuğu görülmüştür. Bu çeşitlerde çiçeklerdeki polen iriliği ve düşük polen verimliliği de tetraploid yapının L2 katmanında olabileceğinin göstergesi olarak açıklanmıştır.



Şekil 2.2. Violet de Provence ve Tudela çeşidi ve varyantlarının yaprak ve köklerinde flow sitometri analizi sonuçları (Pécaut ve Martin, 1993)

2.7. Moleküler Düzeyde Yapılan Çalışmalar

Enginarlarda genom yapısının incelenmesi ve genom yapısının ortaya çıkarılması bir örnek gelişim gösteren ve ayrıca tohumla yetiştirilen enginar çeşitlerinin ıslah yoluyla geliştirilmesinde oldukça önemli bir yer tutmaktadır. 1990'lı yıllara kadar enginarlarda türler arası ya da çeşitler arası farklılıkları ve genetik yönden ilişkileri ortaya koyan bir çalışma yapılmamıştır. Bu zamana kadar da çeşitler arasındaki farklılık düzeyleri ayrıntılı olarak bilinmiyordu. Stevens ve ark. (1990), yabani enginarlarda ve *Cynara* cinsi içerisinde bitkiler arasındaki farklılıkları belirlemek amacıyla kimyasal markırlar kullanmışlar; sözü edilen bitkilerdeki poliasetilen miktarlarını saptayarak türlerin farklılıklarını ortaya koymaya çalışmışlardır. Yapılan bu çalışma sonucunda sözü edilen bileşikler bakımından *Cynara* cinsi içerisindeki bitkilerde farklılıkların gösterilebileceği rapor edilmiştir.

Moleküler markırlara dayalı genetik ilişkiler birçok bitki türünün ıslahı ve pedigree'sinin oluşturulmasında tutarlı sonuçlar vermiştir (Smith ve ark., 1990; Nienhuis ve ark., 1993; dos Santos ve ark., 1994). Genotipler arasındaki genetik farklılıkların hesaplanmasında ilk önceleri tohumlarda depo proteinleri ve izoenzim analizleri gibi moleküler teknikler kullanılabiliyordu. Ancak bu yöntemlerle elde edilen bulgular çok uzak akrabalar arasında bazı ayrımları gösterebilmekle birlikte, yakın akraba olan ve aynı tür içinde bulunan genotipler arasındaki genetik farklılıkları tam olarak yansıtmamaktaydı (Goodman ve Stuber, 1980; Smith, 1984). Williams ve ark. (1990) tarafından geliştirilen PCR tabanlı RAPD moleküler markır yöntemi bu gibi çalışmalar için uygun ve yukarıda sözü edilen tekniklerden daha ucuz bir yöntem olarak gösterilmiştir. RAPD yöntemi ile elde edilen bantların güvenilirliği Smith ve ark. (1994), Thormann ve ark. (1994) ve Weeden ve ark. (1992) tarafından tartışma konusu olmuş; buna karşılık diğer araştırmacılar ise RAPD yöntemiyle elde edilen bulguların güvenilir olduğunu iddia etmişlerdir. Dos Santos ve ark. (1994) lahanalarda yaptıkları çalışmada genotipler arasında RFLP yöntemi ile elde edilen bulguların RAPD yöntemi ile elde edilen bulgularla tutarlı olduğunu belirtmişlerdir. Her iki yöntem bulguları da istatistik analize tabi tutulduğunda hata frekanslarının eşit olduğu bulunmuştur. Scroch ve Nienhuis (1995) ile Spooner ve

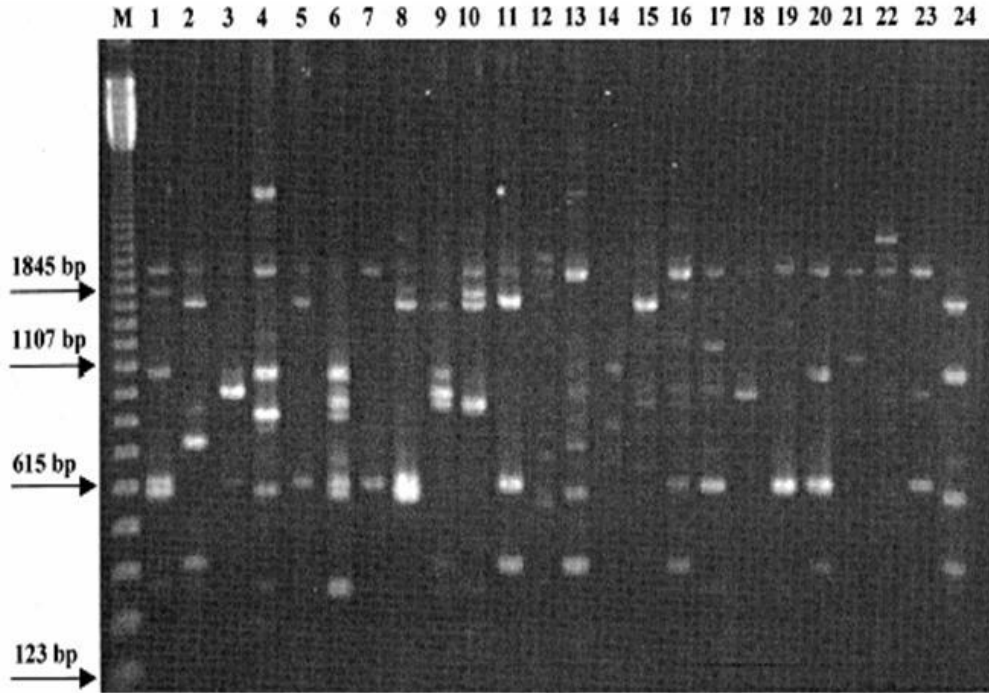
ark. (1996) DNA örnekleri arasındaki genel hata frekansının %2'den daha küçük olduğunu göstererek RAPD yönteminin güvenilir olduğunu savunmuşlardır. Benzer şekilde kavunda yapılan bazı çalışmalarda çeşitlerin ayırılmasında morfolojik özellikler ve RAPD yöntemi kullanılmış; her ikisinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir (Şensoy, 2005).

Enginar genomu ile ilgili moleküler çalışmalar oldukça sınırlı sayıda kalmıştır. Yapılan ilk çalışmalar Amerikan enginar çeşitleri arasındaki farklılıkların belirlenmesi amacıyla yönelik olmuştur (Tivang ve ark., 1996). Diğer yandan İtalya'da enginar çeşitleri ve yabancı enginarlar (Carduun = devediken) arasındaki farklılıkların belirlenmesinde RAPD yöntemi kullanılmıştır (Sonnante ve ark., 2002). Acquardo ve ark. (2003) enginar genomu için SSRs tekniği ile mikrosatelit markırları geliştirmişlerdir. Lanteri ve ark. (2001), kültürü yapılan enginarlar arasındaki farklılıkları incelemişler ve genetik varyasyonun fazla olmasından dolayı İtalyan enginar gen kaynağındaki genotipleri tanımlamak için çeşit kavramı yerine tip terimini kullanmayı tercih etmişlerdir.

Enginarda moleküler çalışmaları ilk başlatan Tivang ve ark. (1996), çalışmalarında vegetatif olarak çoğaltılan Gren Globe, tohumla çoğaltılan Imperial Star ve Big Heart çeşitlerini ve 2 adet ıslah çalışmaları ile elde edilmiş popülasyonu kullanmışlardır. RAPD markır sistemi ile 27 adet random primer (OPA01, OPA02, OPA04, OPA05, OPA07, OPA08, OPA09, OPA10, OPA12, OPA13, OPA16, OPA18, OPA19, OPB01, OPB04, OPB05, OPB10, OPB11, OPB12, OPB14, OPB17, OPC08, OPD15, OPD16, OPD20, OPE12 ve OPE14) kullanarak çeşit ve genotipler arasındaki genetik farklılıkları belirlemeye çalışmışlardır. RAPD analizi sonucu 0.3-2.2 Kb aralığında oluşan bantları değerlendirmeye almışlardır. Primerler 2 ile 13 arasında bant meydana getirmişlerdir. 27 primer toplam 178 bant oluşturmuş, bunlardan OPA10 13 bant, OPA12 11 bant, OPA18 10 bant ve OPB17 10 bant ile en fazla sayıda bant oluşturan primerler olarak belirlemiştir. Yapılan bu çalışma sonucunda Gren Globe ve Imperial Star çeşitlerinin bireyleri arasında düşük düzeyde RAPD farklılığı sağlanırken iki adet ıslah popülasyonuna ait bitkilerin kendi içerisinde farklılıklar daha yüksek düzeyde bulunmuştur. Araştırmacılar Gren Globe çeşidi klonlarından seçilen iki adet ıslah hattında oluşan bazı RAPD bantlarının Gren

Globe çeşidinde olmamasını, bu denemede kullanılan 5 adet Gren Globe çeşidi bitkilerinin ıslah hatlarını oluşturan klonların dışından seçilmiş olabileceği veya bu 5 bitkinin ıslah hatlarını oluşturan 100 adet klonun tam bir göstergesi olmadığı şeklinde açıklamışlardır. Sonuç olarak RAPD markır sistemi ile enginar genotiplerinin ayrımlanabileceğini belirtmişlerdir.

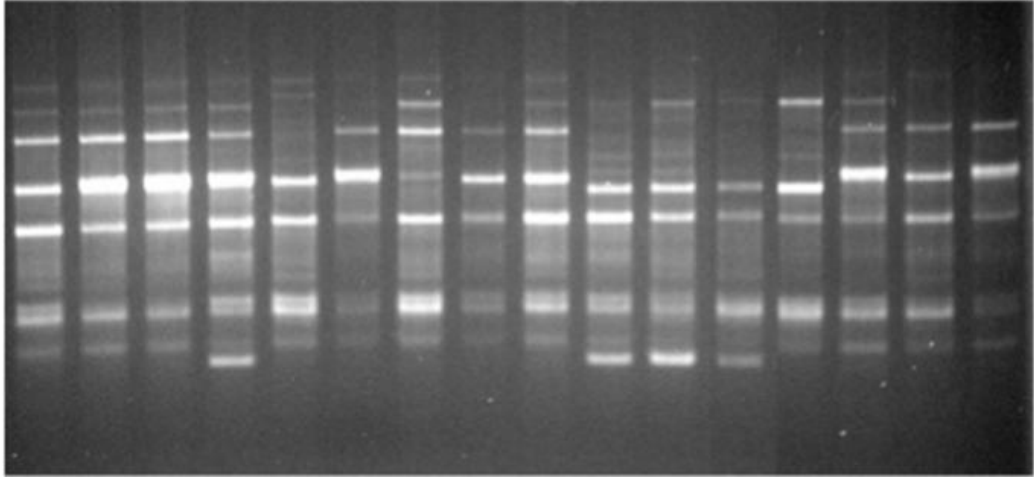
Lanteri ve ark. (2001), İtalya’da yaygın yetiştiriciliği yapılan “Spinoso Sardo” çeşidini beş değişik enginar yetiştirilen bölgeden (Valledoria, Usini, Oristano, Samassi ve Tratalias) seçmişler ve aralarındaki genetik farklılıkları RAPD tekniğini kullanarak moleküler yönden incelemişlerdir. Denemede 20 random primer (OPA02, OPA04, OPA05, OPA07, OPA10, OPA18, OPB10, OPAE10, OPAF04, OPAF07, OPAF11, OPAF20, OPAG02, OPAG03, OPAG04, OPAG06, OPAG10, OPAG11, OPAG12 ve OPAG18) kullanmışlardır. Bunlar içerisinde OPA18, OPB10, OPAF07, OPAG03 ve OPAG10 PCR sonucu polimorfik bant oluşturmazken, OPAF04 (15 bant), OPAG11 (12 bant) ve OPAG12 (16 bant) bireyler arasında en iyi polimorfik bantları oluşturmuştur (Şekil 2.3). Araştırmacılar denemelerinde toplam 118 polimorfik bant elde etmişler ki bu da primer başına ortalama 7.8 bant olmaktadır. PCR analizlerinde elde edilen bantların her zaman tekrarlanabilir olduğunu rapor etmişlerdir. Oluşturulan toplam 118 RAPD markırının sadece 2 tanesi (%1.7) her popülasyonda kendini gösterirken, 22 tanesi (%18) popülasyonların birkaçında görülmüş, büyük çoğunluğu oluşturan 94 markır ise tüm popülasyonlarda değişim göstermiştir (%79.6). Popülasyonlardaki genetik farklılık incelendiğinde, Usini ve Tratalias bölgelerine ait popülasyonlarda yüksek değerlerde genetik farklılık gözlenirken, Samassi ve Tratalias popülasyonları arasındaki genetik farklılık daha düşük düzeylerde bulunmuştur.



Şekil 2.3. OPAG12 primerinin oluşturduğu RAPD bantları (Lanteri ve ark., 2001)

Sonnante ve ark. (2002) İtalya’da 32 adet kültür enginar çeşidi, 2 adet kültürü yapılan yabani enginar (*Cynara cardunculus* var. *altilis* L.) ile 3 adet yabani enginar (*Cynara cardunculus* var. *cardunculus* L.) genotiplerinin RAPD yöntemi ile moleküler farklılıklarını inceleyerek gruplandırmaya çalışmışlardır. RAPD çalışmasında 18 adet random primer (OPO04, OPO07, OPO17, OPP02, OPP03, OPP04, OPP11, OPP12, OPQ06, OPQ12, OPQ18, OPV10, OPV16, OPV17, UBP6, UBP7, UBP10 ve UBP24) kullanılmıştır. Primerler 3 ile 10 arasında değişen sayılarda bantlar oluşturmuşlardır (Şekil 2.4). Oluşan RAPD ürünlerinde toplam 113 bant sayılmış ve bunlardan 69 (%61) bant genotipler arasında polimorfik olarak bulunmuştur. Araştırmacılar denemelerinde kullandıkları Violetto di Toscana, Spinoso Sardo, Romanesco ve Green Globe çeşitlerinde çeşitler arası moleküler farklılıkları belirlemek amacıyla RAPD yöntemini kullanmışlardır. PCR analizlerinde her çeşitten 5 adet bitki kullanmışlardır. RAPD analizleri sonucu elde ettikleri bulgular çeşit içindeki bitkiler arasında farklılıkların olmadığını göstermiştir. İstatistik analizleri ile denemeye alınan tüm genotipler birlikte değerlendirmeye alındığında 2

adet genotipik ana küme ortaya çıkmıştır. İlk kümede tüm kültür enginarları ile kültürü yapılan *Cardunculus* cinsine ait genotipler bulunurken, diğer kümede ise yabani enginar genotipleri yer almıştır. Aynı çalışmada Türk enginar çeşitleri olan Sakız ve Bayrampaşa çeşidi de yer almıştır. Elde edilen RAPD bulgularına göre Sakız çeşidi Spinoso grubunda yer alırken, Bayrampaşa çeşidi ise hiçbir grupta yer almayarak grup dışı kalmıştır.



Şekil 2.4. OPO17 primerinin oluşturduğu bant profilleri (Sonnante ve ark., 2002)

Mikrosatellite markırlar ko-dominant ve yüksek derecede polimorfik özellik göstermesinden dolayı RAPD sistemine göre avantajlara sahiptir. Accuardo ve ark. (2003), 15 kültür enginar çeşidinde (*Cynara scolymus* L. var. *scolymus*) 9 adet mikrosatellit lokusu izole etmişlerdir. Elde edilen mikrosatellit lokusları enginar çeşitleri arasında test edilmiş, kültür çeşitleri arasında mikrosatellit markırların 2 ile 6 adet allel meydana getirirken, yabani enginarlarda ise 1 ile 3 arasında allel meydana getirdiği gözlenmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

Deneme Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama parsellerinde yürütülmüştür. Denemede kullanılan bitkisel örnekler 1998 yılında Sakız özelliği gösteren düz yapraklı ve erkenci oldukları belirlenen enginar ocaklarından seçilerek oluşturulmuş parsellerden alınmıştır. Oluşturulan bu klon parselindeki bitkiler yıldan yıla değişerek Ara tip ve Yerli tip bitkiler de oluşmuştur. Bitki tiplerini belirleme ve örnekleme Eylül ayı sonlarında ocak temizliği yapıldıktan ve ocaklarda bırakılan sürgünlerde bitki tipini belirleyici yapraklar sürdükten sonra yapılmıştır. Örnekleme sırasında ocaklarda bulunan bitkilerin eşit büyüklükte ve homojen olmasına dikkat edilmiştir. Buna rağmen kış aylarında meydana gelen soğuk hava koşullarından dolayı örneklenen bitkiler arasında büyüme yönünden farklılıklar gözlenmiştir.

Çalışma temel olarak arazi uygulamaları ve laboratuvar çalışması şeklinde iki grup olarak planlanmıştır. Arazi çalışmalarında bitki tipleri arasındaki morfolojik farklılıklar ve erkencilik yönleri araştırılmaya çalışılmıştır. Laboratuvar çalışmalarında ise; bazı antioksidant enzimlerinin ve in vitro çoğaltmanın geriye dönüşüm üzerindeki etkilerinin araştırılması planlanmıştır. Bunların yanında çalışmanın temeli sayılan ve orijinal Sakız bitkileri ile geriye dönüşüm sonucu oluşmuş bitkiler arasındaki genetik farklılıkların belirlenmesi amacı ile RAPD yöntemi ve ayrıca bu bitki tipleri arasındaki ploidi farklılıklarının ortaya çıkartılması amacı ile de stoma büyüklüklerinin ölçülmesi, flow sitometri analizleri ve kromozom sayımları planlanmıştır. Bunların yanında bitki tipleri arasındaki kromozomal yapı farklılıklarının ortaya çıkarılması amacı ile de karyotip analizi yapılmaya çalışılmıştır.

3.1. Bitkisel Materyal

Araştırma 2001-2004 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Araştırma ve Uygulama Bahçesi ve laboratuvarlarında yürütülmüştür.

Çalışmada esas olarak, ülkemizde yaygın yetiştiriciliği yapılan ve erkenci özelliğe sahip olan Sakız enginar çeşidinin (*Cynara scolymus* L. cv. “Sakız”) tipik özelliklerini taşıyan bitkileri ile bu çeşitten dönüşüm sonucu oluşmuş “Ara Tip” ve “Yerli Tip” olarak adlandırılan bitkileri kullanılmıştır (Şekil 3.1, 3.2 ve 3.3). Bunlara ek olarak ayrıca, çalışmanın moleküler kısmında Sakız çeşidinin kendilemesi ile elde edilen tohumdan yetiştirilen bitkiler, Bayrampaşa, Kıbrıs Karası çeşitleri ve iki farklı yabani enginar türü kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan Sakız, Ara Tip ve Yerli Tip bitkiler, Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Sebzecilik deneme alanlarında bulunan Sakız enginar çeşidi ile kurulmuş plantasyondan sağlanmıştır. DNA parmakizi çalışmalarında Sakız enginarı ve varyantlarının genetik olarak yakınlıklarının belirlenmesi sırasında genetik yakınlığı görece olarak karşılaştırmak amacıyla kullanılan Bayrampaşa çeşidi, Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü’nden, Kıbrıs Karası KKTC’den ve yabani enginar bitkileri de Çukurova Üniversitesi kampüsündeki alanlardan sağlanmıştır.

Sakız enginar çeşidi erkenci özelliğinden dolayı yetiştiriciler tarafından özellikle Ege ve Akdeniz Bölgelerinde tercih edilmektedir. Ancak özellikle erkenci enginar çeşitlerinde görülen ve bitkinin yabanileşmesi olarak adlandırılan durum sakız enginar çeşidinde de karşımıza çıkmaktadır. Çeşidin hem erkencilik özelliği bozulmakta hem de yaprak ve baş formunda değişiklikler meydana gelmektedir (Pecaut ve Martin, 1993; Eser ve Özen, 2000). Bu durum sakız enginar yetiştiriciliğindeki en önemli dezavantaj olarak karşımıza çıkmaktadır.

Sakız enginar çeşidinin erkenci özelliğe sahip olmasına rağmen çok yıllık plantasyonlar şeklinde yapılan yetiştiricilikte her geçen yıl bu erkencilik özelliği artan oranlarda kaybolmakta ve “Yerli Tip” diye tabir edilen bitki oranında artışlar olmaktadır. Bu tip bitkileri yaprak şeklinden tespit edip plantasyondan ayırmak mümkündür ancak her yıl bu işlemin yapılması erkencilik ve düzenli bir verim alınmasını önemli derecede etkilemektedir.



Şekil 3.1. Denemelerin ana materyali olan Sakız çeşidine ait bir bitkinin genel görünümü



Şekil 3.2. “Ara Tip” özellikleri taşıyan bir bitkinin genel görünümü



Şekil 3.3. “Yerli Tip” özellikleri taşıyan bir bitkinin genel görünümü

3.2. Metot

3.2.1. Arazi Çalışmaları

Arazi çalışmaları Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü enginar parsellerinde yürütülmüştür.

3.2.1.1. GA₃ Uygulamaları

Daha önceden yapılan çalışmalar incelendiğinde, GA₃ uygulamalarının generatif gelişmeyi uyarıcı etkisinin olduğu görülmektedir. Ayrıca enginarda yapılan GA₃ uygulamaların, erkencilik sağlamasının yanında kısmen de olsa yapraklarda parçalanmayı önlediği yani yerli tip bitkiye dönüşümü engellediği belirtilmektedir (Eser ve Özen, 1998). Bu amaca yönelik olarak Sakız çeşidinin orijinal formu, Ara tip ve Yerli tip formu üzerinde GA₃ uygulamaları yapılarak bu uygulamanın yerli tip bitkiye dönüşümdeki rolü morfolojik ve fizyolojik düzeyde incelenmiştir. GA₃ uygulamaları için parselde her bitki tipinden 15 ocak seçilmiştir. Yine her bitki

tipinden 5 ocak kontrol (sadece su püskürtme), 5 ocak 1 kez GA₃ ve geriye kalan 5 ocak ta 2 kez GA₃ uygulamaları için kullanılmıştır. İlk GA₃ uygulaması Ekim ayının ikinci haftasında yapılmış kontrol bitkilerine sadece su püskürtmesi yapılmıştır. İkinci GA₃ uygulaması ilk uygulamadan bir ay sonra yapılmıştır. Yine kontrol bitkilerine ve 1 kez uygulama için belirlenmiş bitkilere sadece su püskürtülmüştür. Her bir GA₃ uygulaması 100 ppm dozda ve bitki başına yaklaşık 10 mg gelecek şekilde yapılmıştır.

3.2.1.2. Morfolojik Gözlemler

Bölümümüz sebzecilik alanlarında bulunan 4 yıllık enginar parsellerindeki bitkilerde uygulamalar sonunda aşağıdaki morfolojik gözlemler yapılmıştır;

- Yaprak şekli (bütün, parçalı, çok parçalı)
- Yapraklarda klorofil miktarı (spat değeri)
- Yaprak genişliği ve uzunluğu (cm)
- Brakte rengi (antosiyanlı, az antosiyanlı, antosiyansız)
- Brakte ucu şekli (düz, girintili)
- Dikenlilik (dikenli, dikensiz)

İstatistiksel analizler Costat programında varyans analizi ile tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılmıştır.

3.2.1.3. Toprak Altı Gövdesinin Düşük Sıcaklıkta Muhafazası

Erkenci enginar çeşitlerinde meydana gelen geriye dönüşüm olayında sıcaklığın etkisinin belirlenmesi amacıyla sezon sonunda bitkilerin toprak üstü kısımlar kuruduktan sonra, daha önceden bitki tipleri belirlenen ocaklardaki toprak altı gövdeleri sökülerek 12 °C sıcaklık koşullarına sahip depoda kağıt torbalar içerisinde muhafazaya alınmıştır. Sakız tipinden 25 adet ve Yerli tip bitkilerden 25 adet olmak üzere toplam 50 bitki düşük sıcaklık koşullarında muhafaza edilmiştir.

Kontrol amaçlı olarak ta yine aynı tipten bitkiler arazide işaretlenmiştir. Depoda muhafazaya alınan bitkiler uyandırma sulamasının yapılacağı gün araziye dikilerek uyandırma sulamaları yapılmıştır.

3.2.2. Laboratuvar Çalışmaları

3.2.2.1. İn vitro Kültürü Çalışmaları

Erkenci enginar çeşitlerinin genel sorunu olan ve yıldan yıla bitki tipindeki değişimlerle kendini gösteren geriye dönüşümün in vitro koşullardaki durumunun incelenmesi amacı ile sürgün ucu kültürü denemeleri yapılmıştır. Ayrıca arazi koşullarında kurulan GA₃ denemesinin paralelinin in vitro koşullarda kurulması planlanmıştır. Bu amaçla ilki 2001 yılı Aralık ayında olmak üzere Şubat 2002 ve Nisan 2002 dönemlerinde 3 kez Sakız özelliği ve Yerli tip özelliği gösteren ocaklardan dip sürgünleri alınarak sürgün ucu kültürü yapılmıştır.

Araziden alınan sürgünler yapraklarından arındırıldıktan sonra çeşme suyu ile yıkanmış ve %70'lik etil alkol içerisinde 30 saniye tutulmuştur. Bu işlemin ardından %5'lik sodyumhipoklorid çözeltisi içerisinde 10 dakika tutulduktan sonra sürgün parçaları laminar flow kabin içerisinde steril saf su ile 3 kez yıkanarak yüzey sterilizasyon işlemi yapılmıştır.

Binoküler kullanılarak sürgün uçları izole edilmiş ve MS + 0.5 mg/l IAA + 0.5 mg/l Kinetin + 30 g/l sakaroz + 7.5 g/l agar bileşimine sahip besin ortamında 16 saat ışık, 8 saat karanlık ve 25 °C sıcaklık koşullarına sahip iklim odasında gelişmeye bırakılmıştır.

3.2.2.2. Fizyolojik Gözlemler

Sakız enginarında gözlenen geriye dönüşüm üzerinde stres enzimlerinin (superoksitdismutaz (SOD), askorbatperoksidaz (AP) ve katalaz (CAT)) etkilerinin araştırılması amacıyla ön çalışmalar yapılmıştır. Bu enzimler içerisinde katalaz enzimi her üç tipte de olumlu sonuçlar verdiği için denemede bu enzim üzerinde

durulmuştur. Erkenci enginar çeşitlerinde gözlenen tek yönlü geriye dönüşümde bu enzimin etkisinin araştırılması amacıyla GA₃ uygulanmış ve uygulama yapılmamış olan Sakız, Araform ve Yerli tip bitkilerden alınan örneklerde katalaz aktiviteleri incelenmiştir. Her tip bitkiden 4'er adet örnek alınmış ve enzim aktivitesi okumaları her bir örnekte 2 tekrarlı olarak yapılmıştır. Her bir örnek için iki okuma değerinin ortalaması kullanılmıştır.

3.2.2.3. Sitolojik Gözlemler

3.2.2.3.(1). Stoma Uzunluğu

Stoma uzunluğu çoğu bitkilerde ploidi düzeylerini belirleyici bir özellik olarak kullanılmaktadır (Sarı, 1994; Eser ve Özen, 1998).

Sakız enginar çeşidi ve geriye dönüşüm ile oluşmuş parçalı yapraklı Yerli tip arasındaki stoma uzunlukları bakımından farklılıklar karşılaştırılmıştır. Stoma uzunluğu ölçümleri enginarın brakte yapraklarından alınan örnekler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Brakte yapraklar enine yırtılmak suretiyle epidermis tabakasının soyulması sağlanmıştır. Alınan bu tabaka lam üzerine konmuş ve bir damla su damlatılarak üzerine lamel kapatılmıştır. Sakız ve Yerli tip bitkilerinin her birinden dörder adet örnek alınmış ve her örnekte toplam 20 adet stoma uzunluğu ölçülmüştür. Her bir 20 ölçüm değerinin ortalaması 1 tekerrür olarak alınmış ve istatistiksel değerlendirme yapılmıştır. Varyans analizleri Costat istatistik programında tesadüf parselleri metoduna göre yapılmıştır.

3.2.2.3.(2). Flow Sitometri Analizleri

Sakız enginar çeşidi ve morfolojik olarak değişimi ilemeydana gelen Ara tip, Yerli tip ve Sakız çeşidinin kendilemesi ile oluşan bitkilerin ploidi düzeylerinin karşılaştırılması amacıyla kromozom sayımının yanında flow sitometri analizleri (Plant Cytometry Services, P.O.B. 299, 5480 AG Schijndel- HOLLANDA) yapılmıştır. Bitkilerden alınan yaprak örneklerinin yukarıda adresi belirtilen merkeze

DHL kargo servisi ile taze olarak (dokuları bozulmadan) ulaştırılması sağlanmıştır. Flow sitometri analizleri ile birim zamanda okuma aleti içerisinde geçen DNA miktarları karşılaştırmalı olarak yapılmakta; optik okuyucudan geçen DNA miktarları ile bitkilerin ploidi düzeyleri ilişkilendirilerek karşılaştırmalar yapılabilmektedir. Bir bitkiye ait örnekte birim zamanda geçen daha yüksek DNA miktarı o bitkinin ploidi düzeyinin daha yüksek olduğunu işaret etmektedir.

3.2.2.3.(3). Kök Ucu Kromozom Sayımları

Sakız enginar çeşidinde geriye dönüşüm sonucu oluşmuş Yerli tip ve Ara tip bitkileri ile değişime uğramamış Sakız bitkilerinin ploidi farklılıklarının incelenmesi amacıyla bu üç farklı tip bitkide kromozom sayımları yapılmıştır. Mitoz bölünmeyi ve kromozom morfolojisini incelemek için en iyi materyal kök uçlarıdır. Bu nedenle materyal olarak kök uçları seçilmiştir. Burada dikkat edilmesi gereken nokta kök ucu hücrelerinde mitoz bölünme oranının çok yüksek olmasının sağlanmasıdır. Bu amaçla bitkiler 25-28 °C 16 saat ışık koşullarına sahip iklim odalarında içerisinde dere kumu bulunan 2 l'lik saksılarda yetiştirilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Kromozom sayımları için yetiştirilen bitkiler

Saksılarda yetiştirilen bitkilerden haftada bir kez kök örnekleri alınmıştır (Şekil 3.5). Alınan kökler, önce mitoz bölünmeyi durduran yani kromozomların mitozun metafaz devresinde ekvatorial tablada toplanmasını engelleyip hücre içerisinde dağılmasını sağlayan ön muamele maddeleriyle muamele edilmiştir. Bu maddeler iğ iplikçiklerinin yapısını bozarak kromozomların ekvator bölgesinde toplanmasını engellemektedirler. Bu çalışmada ön muamele maddesi olarak α -monobromonaftalin kullanılmıştır. Her kullanım için bu çözeltinin taze hazırlanması gerekmektedir. 250 ml saf su içerisine birkaç damla α -monobromonaftalin damlatılıp çalkalanarak çözelti hazırlanmış ve kökler bu çözelti içerisinde 2-3 saat oda sıcaklığında tutulmuştur. Bu işlem sonunda kökler 18-24 saat süreyle buzdolabında Carnoy tespit çözeltisi içerisinde tutulmuştur.

Carnoy çözeltisinin yapısı;

1 hacim Glasiyal Asetik Asit

3 hacim Absolu Etil Alkol'den oluşmaktadır.

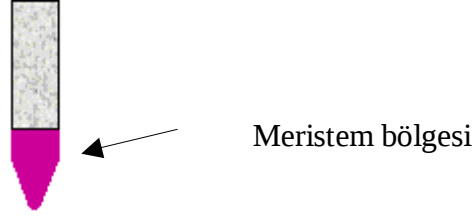
Tespit çözeltisinden çıkartılan kökler 2 kere %70'lik alkol ile çalkalandıktan sonra 1 N HCl içerisinde 60°C'de 16 dakika süreyle hidroliz edilmiştir. Bu süre 8, 10, 12, 14, 16 ve 18 dakikalık süreler kullanılarak ön denemeler sonunda en iyi sonucu verdiği için seçilmiştir.

Hidroliz süresi sonunda kökler 1N HCl içerisinde çıkartılmış ve HCl kalıntıları kaba filtre kağıdı ile alınmış, sonra kökler boyanmak üzere feulgen içerisine konmuş, kökler 2-3 saat süreyle oda sıcaklığında boyanmak üzere feulgen içerisinde tutulmuştur.



Şekil 3.5. Örnek alma aşamasındaki enginar kökleri

Feulgen boyasının hazırlanmasında; önce, 1 g bazik fuchsin 200 ml kaynamış saf su içerisinde eritilmiş ve daha sonra 50°C'ye soğutulmuştur. Filtre kağıdı ile süzülüş, 30 ml HCl eklenerek çalkalanmış ve 30°C'ye soğutulmuştur. 3 g $K_2S_2O_5$ (Potasyum metabisülfid) eklenerek eritilmiş ve şişenin ağzı sıkıca kapatılmıştır. 24 saat süreyle karanlıkta oda sıcaklığı koşullarında bekletilmiş ve 0.5 g aktif karbon ilave edilerek 10 dakika çalkalanmış ve süzülümüştür. Aktif karbon ekleme işlemi iki kez yapılmıştır. Bu işlemden sonra renksiz saydam görünümlü feulgen çözeltisi elde edilmiştir. Feulgen çözeltisi iyi olduğu zaman ilk 10 dakika içinde kök uçları hemen erguvan rengine dönmeye başlar ve 2-3 saat bekleme sonunda kök uçlarındaki meristematik bölge tamamen erguvan rengini alır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Feulgen ile köklerdeki meristematik bölgenin boyanmasının şematik görünümü

Feulgen içerisinde boyanan kökler lam üzerine alınmış ve koyu renkli olan uç kısmından 1-1.5 mm uzunluğunda parçalar kesilerek lam üzerinde jilet yardımı ile parçalanmıştır. Üzerine 1 damla aseto karmin damlatılarak lamel ile kapatılmıştır. Lamel üzerine kurşun kalemin arka kısmıyla hafif vuruşlar yaparak hücrelerin tek düzlem halinde dağılması sağlanmış ve preparat kurutma kağıdı arasına alınarak başparmak ve işaret parmağıyla iyice sıkıştırılmış, böylece fazla olan aseto karmin alınmıştır. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda 10 x 100 büyütmede immersion yağı damlatılarak incelenmiş ve sayılabilen kromozomları olan hücrelerin fotoğrafları çekilmiştir.

3.3. RAPD Analizleri

Sakız enginar çeşidi, geriye dönüşümle oluşmuş Ara tip ve Yerli tip bitkilerde benzerlik veya farklılıkların ortaya konması, geriye dönüşüm ile yabancı enginarlara yaklaşmanın olup olmadığının belirlenmesi amacıyla RAPD yöntemi kullanılarak DNA parmak izi çalışmaları yapılmıştır.

Denemede toplam 140 adet 10 bazlık primerler kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan primerler ve baz dizilimleri

B01	5' GTTTCGCTCC 3'		E17	5' CTA CTG CCGT 3'
B02	5' TGATCCCTGG 3'		G12	5' CAGCTCACGA 3'
B03	5' CATCCCCCTG 3'		AA01	5' AGACGGCTCC 3'
B04	5' GGA CTG GAGT 3'		AA02	5' GAGACCAGAC 3'
B05	5' TGC GCCCTTC 3'		AA03	5' TTAGCGCCCC 3'
B06	5' TGCTCTGCCC 3'		AA04	5' AGGACTGCTC 3'
B07	5' GGTGACGCAG 3'		AA05	5' GGCTTTAGCC 3'
B09	5' TGGGGGACTC 3'		AA06	5' GTGGGTGCCA 3'
B10	5' CTGCTGGGAC 3'		AA07	5' CTACGCTCAC 3'
B13	5' TTCCCCCGCT 3'		AA08	5' TCCGCAGTAG 3'
B14	5' TCCGCTCTGG 3'		AA09	5' AGATGGGCAG 3'
B15	5' GGAGGGTGTT 3'		AA10	5' TGGTCGGGTG 3'
B16	5' TTTGCCCGGA 3'		AF05	5' CCCGATCAGA 3'
B17	5' AGGGAACGAG 3'		AF15	5' CACGAACCTC 3'
B18	5' CCACAGCAGT 3'		AG01	5' CTACGGCTTC 3'
B19	5' ACCCCCGAAG 3'		AG02	5' CTGAGGTCCT 3'
B20	5' GGACCCTTAC 3'		AG03	5' TGCGGGAGTG 3'
E01	5' CCCAAGGTCC 3'		AG04	5' GGAGCGTACT 3'
E02	5' GGTGCGGGAA 3'		AG05	5' CCCACTAGAC 3'
E03	5' CCAGATGCAC 3'		AG06	5' GGTGGCCAAG 3'
E04	5' GTGACATGCC 3'		AG07	5' CACAGACCTG 3'
E05	5' TCAGGGAGGT 3'		AG08	5' AAGAGCCCTC 3'
E06	5' AAGACCCCTC 3'		AG09	5' CCGAGGGGTT 3'
E07	5' AGATGCAGCC 3'		AG10	5' ACTGCCCGAC 3'
E08	5' TCACCACGGT 3'		AG11	5' TTACGGTGGG 3'
E15	5' ACGCACAACC 3'		AG12	5' CTCCCAGGGT 3'
E16	5' GGTGACTGTG 3'		AG13	5' GGCTTGCGCA 3'
AG14	5' CTCTCGGCCA 3'		AI02	5' AGCCGTTTCA 3'
AG15	5' CCCACACGCA 3'		AI03	5' GGGTCCAAAG 3'
AG16	5' CCTGCGACAG 3'		AI04	5' CTATCCTGCC 3'

Çizelge 3.1'in devamı					
AG17	5'	AGCGGAAGTG	3'	AI05	5' GTCGTAGCGG 3'
AG18	5'	GTGGGCATAC	3'	AI06	5' TGCCGCACTT 3'
AG19	5'	AGCCTCGGTT	3'	AI07	5' ACGAGCATGG 3'
AG20	5'	TGCGCTCCTC	3'	AI08	5' AAGCCCCCA 3'
AH01	5'	TCCGCAACCA	3'	AI09	5' TCGCTGGTGT 3'
AH02	5'	CACTTCCGCT	3'	AI10	5' TCGGGGCATC 3'
AH03	5'	GGTTACTGCC	3'	AI11	5' ACGGCGATGA 3'
AH04	5'	CTCCCCAGAC	3'	AI12	5' GACGCGAACC 3'
AH05	5'	TTGCAGGCAG	3'	AI13	5' ACGCTGCGAC 3'
AH06	5'	GTAAGCCCCT	3'	AI14	5' TGGTGCACTC 3'
AH07	5'	CCCTACGGAG	3'	AI15	5' GACACAGCCC 3'
AH08	5'	TTCCCGTGCC	3'	AI16	5' AAGGCACGAG 3'
AH09	5'	AGAACCGAGG	3'	AI17	5' CCTCACGTCC 3'
AH10	5'	GGGATGACCA	3'	AI18	5' TCGCGGAACC 3'
AH11	5'	TCCGCTGAGA	3'	AI19	5' GGCAAAGCTG 3'
AH12	5'	TCCAACGGCT	3'	AI20	5' CCTGTTCCCT 3'
AH13	5'	TGAGTCCGCA	3'	AJ01	5' ACGGGTCAGA 3'
AH14	5'	TGTGGCCGAA	3'	AJ02	5' TCGCACAGTC 3'
AH15	5'	CTACAGCGAG	3'	AJ03	5' AGCACCTCGT 3'
AH16	5'	CAAGGTGGGT	3'	AJ04	5' GAATGCGACC 3'
AH17	5'	CAGTGGGGAG	3'	AJ05	5' CAGCGTTGCC 3'
AH18	5'	GGGCTAGTCA	3'	AJ06	5' GTCGGAGTGG 3'
AH19	5'	GGCAGTTCTC	3'	AJ07	5' CCCTCCCTAA 3'
AI01	5'	GGCATCGGCT	3'	AJ08	5' GTGCTCCCTC 3'
AJ09	5'	ACGGCACGCA	3'	AK05	5' GATGGCAGTC 3'
AJ10	5'	GTTACCGCGA	3'	AK06	5' TCACGTCCCT 3'
AJ11	5'	GAACGCTGCC	3'	AK07	5' CTTGGGGGAC 3'
AJ12	5'	CAGTTCCCGT	3'	AK08	5' CCGAAGGGTG 3'
AJ13	5'	CAGCCGTTCC	3'	AK09	5' AGGTCGGCGT 3'
AJ14	5'	ACCGATGCTG	3'	AK10	5' CAAGCGTCAC 3'

Çizelge 3.1'in devamı					
AJ15	5'	GAATCCGGCA	3'	AK11	5' CAGTGTGCTC 3'
AJ16	5'	TCTGGACCGA	3'	AK12	5' AGTGTAGCCC 3'
AJ17	5'	ACCCCTATG	3'	AK13	5' TCCCACGAGT 3'
AJ18	5'	GGCTAGGTGG	3'	AK14	5' CTGTCATGCC 3'
AJ19	5'	ACAGTGGCCT	3'	AK15	5' ACCTGCCGTT 3'
AJ20	5'	ACACGTGGTC	3'	AK16	5' CTGCGTGCTC 3'
AK01	5'	TCTGCTACGG	3'	AK17	5' CAGCGGTCAC 3'
AK02	5'	CCATCGGAGG	3'	AK18	5' ACCCGGAAAC 3'
AK03	5'	GGTCCTACCA	3'	AK19	5' TCGCAGCGAG 3'
AK04	5'	AGGGTCGGTC	3'	AK20	5' TGATGGCGTC 3'

3.3.1. DNA izolasyonu

Çalışmada kullandığımız bitkilerden DNA izolasyonları Ekbiç (1998)'in biberde kullandığı protokolde küçük değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonu Çizelge 3.2'te belirtilen çözeltiler ve kimyasallar kullanılarak yapılmıştır.

Çizelge 3.2. DNA izolasyon çözeltileri

İzolasyon Tamponu		
	Konsantrasyon	100 ml için
D-Sorbitol	0.35 M	6.375 g
Tris	0.1 M	1.21 g
EDTA	5 mM	0.17 g
NaCl	2 M	11.7 g
HCl ile pH 8.25'e ayarlanır		
Na ₂ S ₂ O ₅	70 mM	1.33 g
LYCE Tamponu :		
	Konsantrasyon	100 ml için
Tris (pH 7.5)	200 mM	20 ml (1 M)
EDTA (pH 8)	50 mM	10 ml (0.5 M)
NaCl	2 M	11.7 g
CTAB	% 2	2 g

SARCOSYL % 5

KLOROFORM / İZOAMİL ALKOL (24h/1h)

ETANOL (% 99)

ETANOL (%76) / AcNa (0.2 M)

TE (Tris + EDTA) 10h/1h pH 8

İzolasyon protokolü :

1. 0.5-1 g taze yaprak, ekstraksiyon tamponundan 5 ml ve bir miktar kuvars kumu ilavesiyle porselen havanda iyice ezilir ve sıvı 50 ml'lik polypropylen (pp) tüplere konulur.
2. 5 ml Lyce tamponu ve 2 ml Sarcosyl eklenerek yavaşça iyi bir şekilde karıştırılır.
3. Örnekler 65 °C sıcaklıkta olan su banyosu içerisinde 20 dakika tutulur, bu esnada zaman zaman karıştırılır.
4. Yaklaşık 15 ml Kloroform/ İzoamil alkol (24h/h1) karışımı eklenerek iyice karıştırılır.
5. Örnekler 20 °C sıcaklıkta ve 4000 rpm'de 25 dakika santrifüj edilir.

6. Santrifüj işleminden sonra tüplerin üst kısmında kalan açık renkli sıvı başka pp tüplere aktarılır.
7. Çok yavaş bir şekilde yaklaşık 3.5 ml absolu etanol eklenerek yine çok yavaş bir şekilde karıştırılır.
8. Örnekler 15 dakika buz içerisinde tutulur.
9. 20 °C sıcaklıkta ve 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj işlemi yapılır.
10. Örnekler başka pp tüplere aktarılır.
11. Yaklaşık 1 hacim soğutulmuş izopropanol eklenir ve DNA filamentleri görülünceye kadar karıştırılır.
12. 4000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilir ve sıvı boşaltılır. Tüpün dip kısmına yapışan DNA’lar üzerine 1 ml absölü etanol eklenerek çalkanır ve DNA’lar yıkanır.
13. Karışım 2 ml’lik eppendorf tüplere konularak 5000 rpm de 5 dakika santrifüj edilir ve alkol dökülür.
14. Tüplere 1 ml etanol (%76) / AcNa (0.2 M) içeren solusyon eklenerek 10 dakika bekletilir.
15. 5000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilerek solusyon uzaklaştırılır. Tüplere 200 µl TE tampon çözeltisi eklenerek çalkalanır ve DNA’nın çözülmesi sağlanır.

3.2.2. RAPD-PCR Çalışmaları

Bu çalışmada Ekbiç (1998)’in çalışmasında kullandığı PCR-RAPD protokolü kullanılmıştır. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) çalışması Çizelge 3.3’de belirtilen eriyikler ve enzimler kullanılarak yürütülmüştür.

Çizelge 3.3. PCR-RAPD Protokolü

H ₂ O	:13.05 µl
1 x Tampon çözelti (10 mM Tris-HCl + 50 mM KCl + %0.1 Triton X-100	: 2.50 µl
2 mM MgCl ₂	: 2.00 µl
200 µM herbir dNTP (dATP + dCTP + dGTP + dTTP)	: 1.25 µl
0.2 µM Primer	: 1.00 µl
1 u (ünite) Taq Polymerase (FERMENTAS + PROMEGA)	: 0.20 µl
5 ng/µl Genomik DNA	: 5.00 µl

PCR		
Döngü	Sıcaklık (°C)	Süre (Saniye)
1	93	180
45	93	60
	37	90
	72	120
1	72	600

3.3.3. Elektroforez

PCR ürünleri %2'lik agaroz jel üzerinde TAE 1X çözeltisi içeren elektroforez aletinde 80 volt akım koşullarında 3 saat elektroforeze tabi tutulmuştur; elektroforez sonucunda agaroz gel 20 dakika etidium bromit solusyonunda bekletildikten sonra UV transilluminator yardımıyla elde edilen görüntülerinin polaroid fotoğrafları çekilmiştir.

3.3.4. RAPD Bandlarının Değerlendirilmesi

RAPD çalışmaları sonucu elde edilen band profilleri incelenerek band var ise 1 yok ise 0 değerleri verilerek genotiplerin RAPD verileri oluşturulmuştur. RAPD markırları yardımıyla elde edilen band profillerinden genotipler arasındaki genetik uzaklıklar Nei ve Li (1979) tarafından geliştirilen eşitlik ile hesaplanmıştır:

$$GD = 1 - S_{xy}$$

$$S_{xy} = 2 n_{xy} / (n_x + n_y)$$

GD : Genetik uzaklık

S_{xy} : Kıyaslanan iki genotip arasındaki genetik benzerlik

n_{xy} : Kıyaslanan genotiplerdeki ortak band sayısı

n_x : Birinci genotipteki bant sayısı

n_y : İkinci genotipteki band sayısı

Elde edilen RAPD bandları yardımıyla Minitab 14 istatistik programı kullanılarak genotipler benzerliklerine göre gruplandırılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA**4.1. Enginar Parselindeki Tüm Klonlara Ait Gözlem Sonuçları**

Bir önceki yetiştiricilik döneminden kalan bitki artıkları 2000 yılı Haziran ayı ortalarında temizlenerek araziden uzaklaştırılmış ve bitkilerin toprak altı gövdeleri dinlenmeye bırakılmıştır. 21 Ağustos 2000 tarihinde arazi sulanarak bitkilerin uyanması teşvik edilmiştir. İlk sulamayı takiben 15 gün sonra ikinci bir sulama yapılarak toprak altı gövdesi üzerindeki gözlerden süren sürgünlerin gelişmesi sağlanmıştır. Eylül ayı sonuna doğru ocaklardaki sürgünler gelişmiş ve 25–30 cm boya ulaşmıştır. Bu dönemde her ocakta iyi gelişmiş 3 sürgün bırakılarak diğer sürgünler temizlenmiş ve her ocağa iyi yanmış çiftlik gübresi ile saf 5 kg/da N, P, K hesabı ile 15:15:15 gübre desteği sağlanmıştır. Bitkiler belli bir süre gelişmeye bırakıldıktan sonra yaprak özelliklerine göre Sakız (S), Ara tip (A) ve Yerli tip (Y) olarak sınıflandırılmıştır (Çizelge 4.1). F1, F5 ve F9 klonlarına ait parsellerde hiç bitki çıkışı olmamıştır. 1998 yılında hepsi düz yapraklı Sakız çeşidi bitkileri ile oluşturulan deneme alındaki toplam 130 ocakta, 73 ocak (%56) Sakız, 19 ocak (%15) Ara tip, 13 ocak (%10) Yerli tip bitki oluştururken çıkış olan diğer 25 ocak (%19) ise karışık tipte bitkiler oluşturmuştur (S+A, S+Y ve A+Y). İki yıl içerisinde bitki tiplerinde meydana gelen değişim erkenci verimi etkileyecek kadar fazla olduğu görülmektedir.

Çizelgeden de görüldüğü gibi B3, E6 ve F6 klonuna ait bitkilerde hiç geriye dönüşüm görülmezken, A2, A4, B1, C3, D4, E3 ve E5 klonlarında bir iki ocaktaki bitkiler Sakız ve Ara tip şeklinde karışık bitkiler çıkmıştır ve bunların hiç biri sadece Ara tip ya da sadece Yerli tip şeklinde bitkiler geliştirmemişlerdir. Diğer bazı ocaklarda ise tamamen geriye dönüşüm gerçekleşmiştir.

Sakız enginar çeşidinde gözlenen bitki tipi değişimleri daha önceden yapılan çalışmalarla uyum içerisinde (Koçer, 1993; Pécaut ve Martin, 1993; Eser ve Özen, 1998).

Çizelge 4.1. 2000-2001 döneminde enginar parsellerindeki bitkilerin yaprak şekillerine göre değerlendirilmesi

Ocak Numaraları								
5	S	S	*	*	*	*	*	*
4	S	S	S	S	S	*	*	*
3	S+A	S	A	S+A	S	*	*	*
2	S	*	S	S	S	*	*	*
1	S	S	A	S+A	S+A	*	*	*
Klonlar	A4	B3	C4	D4	E3	F1	F5	F9
5	A	A	S+A	*	Y	S	S+A	S+Y
4	S	S	S	*	Y	S	*	S
3	S	Y	S	A+Y	S	S	A	S
2	*	S	S	A	A	S	A	S+A
1	A	S	S	*	Y	S	S+Y	S+A
Klonlar	A3	B2	C3	D3	E2	E6	F4	F8
5	S	S	S	S+Y	Y	S+A	Y	S
4	S+A	*	A	S	S	S	A	S
3	S+A	S+A	A	S	S	S	Y	Y
2	S	S	Y	S	S	S+A	S+Y	S
1	S	S	S	A	S	S	S	S
Klonlar	A2	B1	C2	D2	E1	E5	F3	F7
5	Y	S	S+A	Y	A	Y	S	S
4	*	S	A+Y	S	A	S	A	S
3	S+Y	A	S+A	S	A	S	S	S
2	Y	A	*	S	*	S	S	S
1	S	S+A	*	S+A	*	S	S+Y	S
Klonlar	A1	A5	C1	D1	D5	E4	F2	F6
S: Sakız A: Ara tip Y: Yerli tip								

*: Ocakta bitki çıkışı yok

A1, A2.....F9: Parsellerdeki klon adlandırmasıdır

4.1.1. Klonların Erkencilik Özellikleri

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü deneme alanına 1997 yılında Sakız enginar çeşidinden seçilerek oluşturulmuş klonlardan kurulan parsellerdeki enginar bitkilerinin erkencilik özellikleri araştırılmıştır. Elde edilen bulgular Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Uyandırma sulamasından ilk baş oluşumuna kadar geçen süre (gün)

Ocak Numaraları								
5	144	144	*	*	*	*	*	*
4	108	155	155	156	152	*	*	*
3	153	78	166	152	152	*	*	*
2	155	*	155	152	138	*	*	*
1	137	142	159	171	151	*	*	*
Klonlar	A4	B3	C4	D4	E3	F1	F5	F9
5	153	194	108	*	194	124	88	152
4	143	88	184	*	207	101	*	163
3	162	194	184	206	156	94	179	143
2	*	156	162	93	184	144	194	143
1	206	143	171	*	207	163	179	143
Klonlar	A3	B2	C3	D3	E2	E6	F4	F8
5	108	153	143	153	204	184	207	138
4	180	*	193	154	152	142	207	142
3	62	184	206	155	173	155	207	163
2	107	193	154	144	156	141	144	101
1	94	236	174	144	193	153	144	143
Klonlar	A2	B1	C2	D2	E1	E5	F3	F7
5	206	184	141	216	143	207	122	152
4	*	163	194	144	157	81	204	122
3	239	156	179	93	184	165	184	82
2	206	142	*	152	*	141	144	166
1	184	143	*	122	*	95	171	155
Klonlar	A1	A5	C1	D1	D5	E4	F2	F6

*: Ocakta bitki çıkışı yok

A1, A2.....F9: Parsellerdeki klon adlandırmasıdır

Çizelge 4.2. incelendiğinde parsellerde bulunan Sakız çeşidi enginar klonlarına ait bitkilerde çok büyük farklılıkların olduğu gözlenmektedir. A1 klonunun ilk ocağında bulunan bütün yapraklı Sakız tipi olan bitkilerde ilk baş oluşum zamanı 184 gün ile oldukça geç olurken A2 klonunun ilk ocağındaki Sakız tipi bitkiler 94 gün gibi daha kısa sürede baş oluşturmuşlardır. Buradan da klonlar

arası aynı yaprak özelliğine sahip bitkilerin erkencilik özellikleri bakımından farklılık gösterdiği anlaşılmaktadır. Bunun yanında klon içi bitkilerde de farklılıklar meydana gelebilmektedir. Örneğin E4 klonundaki Sakız tipi bitkiler arasında da erkencilik bakımından oldukça büyük farklılıklar görülmektedir. Meydana gelen bu farklılıkların kaynağı araştırılacak olursa (özellikle klon içi farklılıklar), uyandırma sulamasından sonra bitkilerin çıkış sürelerindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülebilir. Bu gibi farklılıklar genellikle uygulanan sulama yönteminden ve çevreyle ilgili koşullardan kaynaklanmaktadır. Salma sulama yöntemiyle yapılan uyandırma sulamalarında bu gibi sorunlar ile karşılaşmak olasıdır.

Elde edilen bulgular toplu olarak değerlendirildiğinde, uyandırma sulamasından sonra en erken enginar bitkisinde 78 günde baş oluşumu gerçekleşmiştir (B3 klonunun 3 numaralı ocağındaki bitkiler). En geç baş oluşturan A1 klonunun 3 numaralı ocağındaki bitkiler ise uyandırma sulamasından 239 gün sonra baş oluşturarak en geççi bitkiler olmuşlardır.

Genel bir değerlendirme yapılacak olursa; Sakız tipi ocaklarda 145.01 günde, Ara tip bitkilere sahip ocaklarda 171.79, Yerli tip ocaklarda 197.85 günde, karışık ocaklardan Sakız ve Ara tip bitkilere sahip olanlarda 143.82, Sakız ve Yerli tip ocaklarda 173.00 ve Ara tip ve Yerli tip bitkilere sahip karışık ocaklarda ise 200.00 günde hasat olgunluğuna gelmiş başlar elde edilmiştir. Eser ve Özen (1998)'in yaptıkları çalışmada 4 yaşlı Yerli tip bitkilerde ilk hasat uyandırma sulamasından 240 gün sonra Ara tip bitkilerde 228 gün ve 4 yaşlı Sakız bitkilerinde ise 123 gün sonra gerçekleştirilmiştir. Buradan da Ege bölgesinde koşullarında yapılan çalışmada Sakız tipi bitkiler Çukurova koşullarındaki Sakız bitkilerine göre daha erkenci olduğu görülmektedir.

4.2. Düşük Sıcaklık Uygulamalarının Bitki Tipi Değişimine Etkisi

Yeni kurulan parsellerdeki bitkiler yaprak şekillerine bakılarak Sakız ve Yerli tip diye ayrılandıktan sonra her tipten 07 Temmuz 2002 tarihinde 25'şer bitki toprak altı gövdesi ile birlikte sökülüştür. Sökülen bitkiler 12°C'ye ayarlanmış depoda kese kağıtları içerisinde düşük sıcaklık koşullarında muhafazaya alınmıştır (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Enginar toprakaltı gövdelerinin düşük sıcaklık koşullarında (12°C)muhafaza edilişi

Muhafaza sonrasında uyandırma sulamasının yapıldığı gün (15 Ağustos 2002) bu bitkiler parsellere dikilmiş ve diğer bitkiler ile beraber sulanmıştır. Birinci sulamadan 1 hafta sonra bitkiler tekrar sulanmış ve Eylül ayı sonlarında ocak temizliği yapılarak yavru bitkiler köklendirmeye alınmıştır. Ocak temizliğinden

sonra bitkilerde yaprak gözlemleri yapılmıştır (Çizelge 4.3.). Yerlerine dikilen toplam 25 adet Sakız tipi bitkiden 13 tanesi sürmüş ve bu bitkilerin tamamı (%100) bütün yapraklı (Sakız tipi) olurken toplam 25 Yerli tipi bitkiden ise 17 tanesi sürerek bitkiye dönüşmüştür. Süren yerli tipi bitkilerden 2 tanesi (%11,8) bütün yapraklı (Sakız tipi) ve 5 tanesi (%29,4) az parçalı yapraklara sahip (Ara tip) sürgünler meydana getirirken 10 tanesi (%58,8) de parçalı yapraklı (Yerli tip) sürgünler meydana getirmiştir. Kontrol amacı ile yerinde bırakılan toplam 14 adet Sakız tipi bitkilerden 6 tanesi (%42,9) parçalı yapraklı sürgünler vermiştir. Yerli tip olarak yerinde bırakılan 16 bitkinin hepsi (%100) yine parçalı yapraklı sürgünler vermiştir.

Bu bulgular ışığında bütün yapraklı olan Sakız tipi enginar bitkilerinin toprak altı gövdesinin düşük sıcaklıklarda muhafaza edilmesi (12 °C) parçalı yapraklı bitki tipine dönüşümü engellediği görülmüştür. Bu noktadan yola çıkarak dinlenme döneminde bitkilerin toprak altı gövdeleri yaz aylarındaki yüksek sıcaklardan korunursa Sakız tipi bitkilerin parçalı yapraklı olan Yerli tip bitkilere dönüşümü büyük oranda azaltılabileceği düşünülebilir. Eser ve Özen (1998), enginarın toprak altı gövdesinin toprak yüzeyine yakın olan bölgelerindeki gözlerden süren sürgünlerin parçalı olma yüzdelerinin daha yüksek olduğunu ve alt kısımdaki gözlerden de daha fazla düz yapraklı sürgünlerin çıktığını bulmuşlardır. Buradan da hava ve toprak sıcaklığının erkenci enginarlarda dönüşüm üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.3. Enginarın toprakaltı gövdesinin dinlenme döneminde düşük sıcaklıklarda muhafaza edilmesinin geriye dönüşüm üzerindeki etkisi (%)

Muhafaza Şekli	SAKIZ			YERLİ		
	Sakız	Ara tip	Yerli tip	Sakız	Ara tip	Yerli tip
Yerinde	57	0	43	0	0	100
Depoda	100	0	0	12	29	59

4.3. GA₃ Uygulamalarının Bitkisel Özellikler Üzerine Etkileri

4.3.1. GA₃ Uygulamalarının Klorofil Miktarı ile Yaprak Şekli ve Büyüklüğü Üzerindeki Etkileri

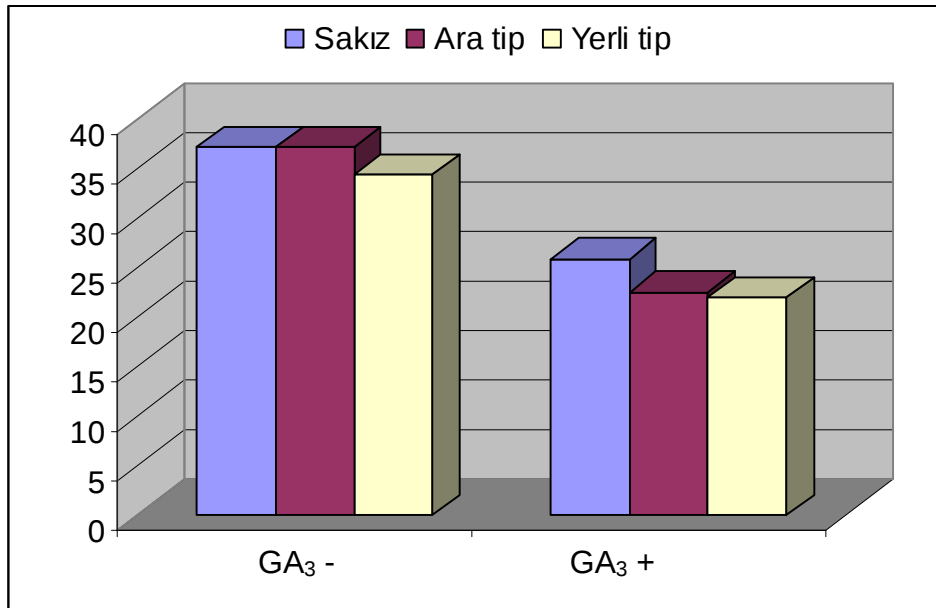
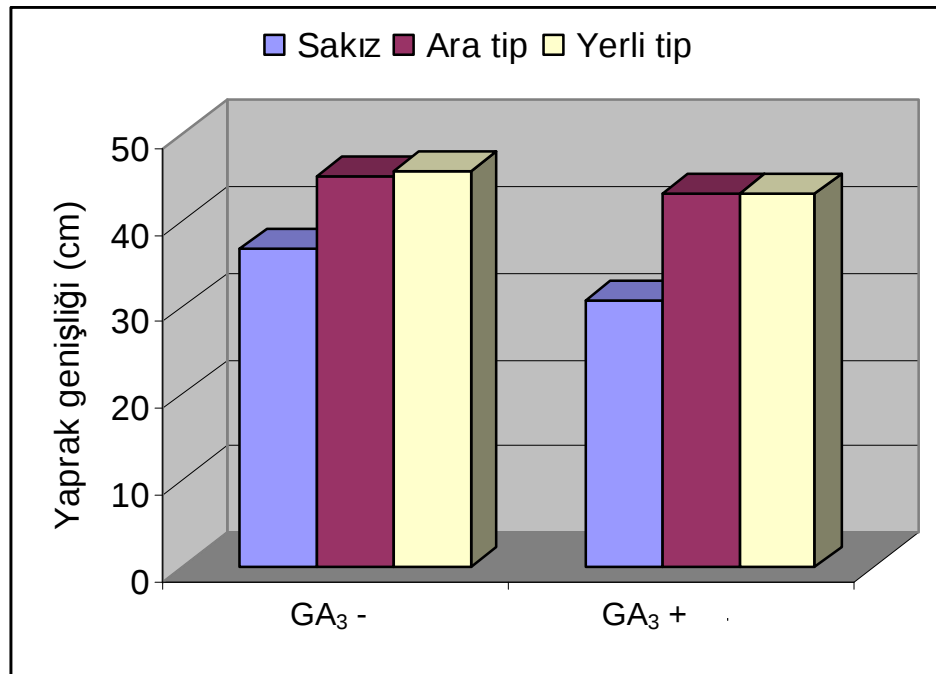
Erkenci enginar çeşidi Sakız'ın sezondan sezona değişim göstermesinin engellenmesinde önemli bir rol oynadığı düşünülen GA₃ hormonunun etkisinin araştırılması amacı ile Ekim ayının 2. haftası parsellerdeki bitkiler yaprak şekillerine göre gruplandırılarak bunlara GA₃ uygulamaları yapılmıştır. Sakız, Ara tip ve Yerli tip olarak yaprak şekillerine göre ayrılan her gruptan 5'er bitkiye 100 ppm dozunda GA₃ uygulaması yapılmıştır. Kontrol olarak belirlenen her tipten 5'er bitkiye de sadece yaprakdan su püskürtülmüştür. GA₃ uygulamasını takip eden ertesi hafta içerisinde yapraklarda spatmetre ile klorofil miktarları ölçülmüştür (Çizelge 4.4; Şekil 4.2). Her uygulama için 4 bitkide ve her bitkide 10 yaprakta ölçüm yapılarak bunların ortalamaları alınmıştır. Elde edilen bulgulardan farklı tiplerin klorofil içerikleri açısından önemli olmadığı ancak GA₃ uygulaması ile yapraklarda belirgin renk açılmalarının olduğu görülmüştür. Çizelge 4.4 ve Şekil 4.2 incelendiğinde GA₃ uygulanmamış bitkilerden Ara tip ve Sakız en yüksek spat değerlerini (37.2) verirken Yerli tip 34.4 ile daha düşük spat değeri vermiştir. GA₃ uygulanmış bitkilerde ise Sakız tipi bitkiler 25.9 spat değeri verirken Ara ve Yerli tipler 22.5 ve 22 spat değerleri vermişlerdir. Genotipler arasında istatistiksel anlamda fark bulunmazken uygulamalar arasında önemli derecede ($P < 0.01$) farklılıklar olduğu gözlenmiştir. GA₃ uygulamasından 1 ay sonra GA₃'ün bitkinin morfolojik yapısı üzerindeki

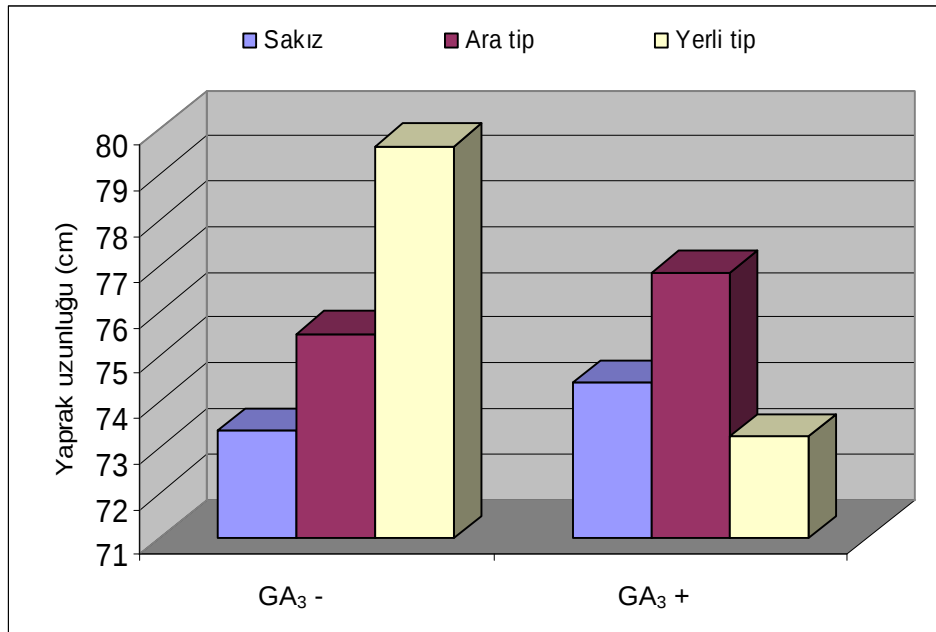
etkilerini belirlemek amacı ile yaprak genişliği ve yaprak uzunluğu ölçümleri yapılmıştır (Şekil 4.3, 4.4; Çizelge 4.5). Elde edilen sonuçlar GA₃ uygulamasının yaprak genişliği ve yüksekliği bakımından önemli derecelerde bir değişiklik yapmazken tipler arasında özellikle yaprak genişliği bakımından farklılıklar gözlenmiştir. Şekil 4.3, 4.4 ve Çizelge 4.5 incelendiğinde yaprak genişliği bakımından GA₃ uygulanmamış bitkilerde 44.60 cm ile Yerli tip bitkiler nispeten yüksek değer verirken Sakız tipi bitkiler ise 36.80 cm ile daha düşük değerler vermiştir. Yine aynı şekilde GA₃ uygulanmış bitkilerde 43.00 cm ile Yerli tip bitkiler en yüksek değer vermiş ve Sakız tipi bitkiler de 30.80 cm ile en düşük değerler vermiştir. Yaprak uzunluğu ile ilgili bulgular incelendiğinde GA₃ uygulanmayan bitkilerde en yüksek değer Yerli tip bitkilerden (79.6 cm) en düşük değer ise Sakız tipi bitkilerden (73.4 cm) elde edilmiştir. GA₃ uygulamasında ise en yüksek değer (76.8 cm) Ara tip bitkilerden en düşük değer (73.3 cm) ise Yerli tip bitkilerden alınmıştır. GA₃'ün yaprak şekli üzerindeki etkileri Şekil 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11 ve 4.12'de görülmektedir. GA₃ uygulamaları ile bitkilerde yaprak şekillerindeki parçalılık kaybolmuş ve yapraklar daha bütün ve daha kompakt bir yapı özelliği kazanmışlardır. GA₃ uygulaması ile yaprakların daha dar hale geldiği açıkça görülmektedir.

Bonnet (1959), "Camus" enginar çeşidinde yaptığı bir çalışmada GA₃ uygulamasının sadece geçici bir değişim yaptığını ve morfolojik değişimin kalıcı olmadığını bildirmiştir.

Çizelge 4.4. Klorofil ölçümü sonuçları (spat değerleri)

	Bitki no	Sakız	Ara	Yerli	D%1 (3.05)
GA ₃ -	1	32.5	43.0	34.8	
	2	39.3	35.7	34.3	
	3	38.9	36.8	34.6	
	4	37.9	33.4	34.0	
	Ortalama	37,2	37,2	34,4	36.27 a
GA ₃ +	1	26,5	20,6	22,4	
	2	29,3	26,0	21,3	
	3	23,3	22,1	21,1	
	4	24,4	21,4	23,0	
	Ortalama	25,9	22,5	22,0	23.45 b

Şekil 4.2. GA₃ uygulamasının yaprak rengi üzerindeki etkileriŞekil 4.3. GA₃ uygulamalarının yaprak genişliği üzerine etkisi

Şekil 4.4. GA₃ uygulamalarının yaprak uzunluğu üzerine etkileriÇizelge 4.5. GA₃ uygulanmış ve uygulanmamış (Kontrol) bitkilerde yaprak genişliği ve uzunluğu ölçümüne ait bulgular

Genotip	Uygulama	Yaprak Genişliği (cm)		Yaprak Uzunluğu (cm)	
Sakız	Kontrol	36.8	33.80 b	73.4	73.91
	GA ₃	30.8		74.4	
Ara tip	Kontrol	45.0	43.95 a	75.5	76.35
	GA ₃	42.9		76.8	
Yerli tip	Kontrol	45.6	44.35 a	79.6	76.45
	GA ₃	43.0		73.3	
	D %1	3.246		Ö.D.	
	Kontrol	42.5 a		76.19	
	GA ₃	38.9 b		74.95	
	D %1	2.650		Ö.D.	
Genotip x Uygulama		Ö.D.		***	



Şekil 4.5. GA₃ uygulanmamış Sakız bitkisi



Şekil 4.6. GA₃ uygulanmış Sakız bitkisi



Şekil 4.7. GA₃ uygulanmamış Ara tip bitki



Şekil 4.8. GA₃ uygulanmış Ara tip bitki



Şekil 4.9. GA₃ uygulanmamış Yerli tip bitki



Şekil 4.10. GA₃ uygulanmış Yerli tip bitki



şekil 4.11. GA₃ uygulanmamış, tohumdan yetiştirilmiş enginar bitkisi



şekil 4.12. GA₃ uygulanmış, tohumdan yetiştirilmiş enginar bitkisi

4.3.2. GA₃ Uygulamalarının Erkencilik Üzerine Etkileri

Daha önce enginarda yapılan çalışmalarda GA₃ uygulamalarının erkencilik üzerinde olumlu etkiler yaptığı tartışmasız kabul edilmektedir (De Angelis, 1970; Synder ve ark., 1971; Choux ve Foury, 1994; Tiagtong, 2000). Buna karşılık GA₃ uygulamalarının etkinliği uygulama zamanının yanında enginarın yetiştirildiği konum, mevsim özellikleri ve çeşitlere göre de değişim gösterdiği kabul edilir bir durumdur (Choux ve Foury, 1994).

GA₃ uygulaması ile yapılan denemelerde erkencilik bulgularına ait sonuçlar Çizelge 4.6'de verilmiştir.

Çizelge 4.6. Uyandırma sulamasından hasada kadar geçen süre

Uygulama	Sakız	Ara Tip	Yerli Tip
	U.S.H.G.S. (gün)	U.S.H.G.S. (gün)	U.S.H.G.S. (gün)
Kontrol	166	180	228
1 kez GA ₃	154	166	214
2 kez GA ₃	154	164	214

U.S.H.G.S.: Uyandırma sulamasından ilk hasat zamanına kadar geçen süre (gün)

Çizelgede de görüldüğü gibi erkencilik açısından GA₃ uygulamaları Sakız tipi bitkilerde 12 gün, Ara tip bitkilerde 14–16 gün ve Yerli tip bitkilerde 14 günlük bir etki sağlamıştır. Eser ve Özen (1998)'in bulgularına göre Sakız tipi bitkilerde ilk hasat 118 günde gerçekleşmiştir. Bu durum göz önünde bulundurulduğunda Ege Bölgesi koşullarında Sakız enginarının daha erken hasat edildiği sonucu ortaya çıkmaktadır. Çukurova koşullarında gerçekleştirilen bu denemede o yıl meydana gelen düşük sıcaklıklar denemeye alınan bitkiler arasında büyüme farklılıklarının ortaya çıkmasına sebep olmuş ve dolayısı ile GA₃ uygulamalarının beklenen etkinliğinin tam olarak ortaya çıkmadığı görülmüştür. Buna rağmen Yerli tip bitkiler Ege koşullarında yapılan denemelerden biraz daha erken baş oluşturmuşlardır. Bunun da ilk uyandırma suyunun veriliş tarihinden kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir.

Basnizki ve Goldschmidt (1994) GA₃ uygulamasının tohumla yetiştirilen enginarlarda çiçeklenmeyi teşvik ettiğini ve sonbaharda pazarlanabilir erkenci başlar alınabileceğini rapor etmişlerdir. Diğer araştırmacılar Mauromicale ve Lerna (1995), enginarın generatif devreye girebilmesi için 7°C'nin altında 250 saatlik bir soğuklamaya ihtiyaç duyduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar GA₃ uygulamasının bitkilerdeki soğuklama ihtiyacını karşıladığını belirtmektedirler.

4.3.3. GA₃ Uygulamasının Baş Şekli Üzerindeki Etkileri

GA₃ uygulanmış Sakız, Ara tip ve Yerli nitelikli bitkilerin baş özelliklerine ilişkin gözlem sonuçları Çizelge 4.7'de gösterilmiş ve bunların fotoğrafları da Şekil 4.13, 4.14, 4.15, 4.16, 4.17 ve 4.18'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. GA₃ uygulanmış ve uygulanmamış Sakız, Yerli ve Ara tip enginar bitkilerine ait morfolojik özellikler

	KONTROL			GA ₃ UYGULANMIŞ		
	Sakız	Ara tip	Yerli tip	Sakız	Ara tip	Yerli tip
Baş Şekli	Silindirik	Hafif basık yuvarlak	Hafif basık yuvarlak	Oval	Yuvarlak Oval	Yuvarlak
Sıklık	Sıkı başlı	Sıkı başlı	Sıkı başlı	Sıkı başlı	Sıkı başlı	Sıkı başlı
Antosiyen Oluşumu	Antosiyensiz	Çok az antosiyenli	Az antosiyenli	Antosiyensiz	Az antosiyenli	Az antosiyenli
Dikenlilik	Dikensiz	Dikensiz	Dikensiz	Dikensiz	Dikensiz	Dikensiz
Brakte Ucu Şekli	Girintili	Girintili	Girintili	Girintili	Girintili	Girintili

Çizelgeden de anlaşıldığı gibi tipler arasında baş şekilleri bakımından farklılıkların olduğu görülmektedir. GA₃ uygulamaları enginar başlarında belli bir değişiklik meydana getirmiştir. GA₃ uygulanmayan Sakız tipi bitkilerdeki başlar oval iken GA₃ uygulamasıyla başların uç kısımları daha toplu bir hal almış ve genelde konik bir görünüm almıştır. Aynı etkiyi diğer tip bitkilere ait başlarda da görmek mümkündür. GA₃ uygulanmamış Ara tip ve Yerli tip enginar bitkilerine ait başlar

hafif basık görünümlü iken uygulamayla başlar oval ve ovale yakın bir görünüm almışlardır.

GA₃ uygulamasının brakte yapraklardaki dikenlilik ve antosiyanlı olma özellikleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir.



şekil 4.13. GA₃ uygulanmamış Sakız tipi bitkideki baş şekli



şekil 4.14. GA₃ uygulanmış Sakız tipi bitkideki baş şekli



şekil 4.15. GA₃ uygulanmamış Ara tip bitkideki baş şekli



şekil 4.16. GA₃ uygulanmış Ara tip bitkideki baş şekli



Şekil 4.17. GA₃ uygulanmamış Yerli tip bitkideki baş şekli



Şekil 4.18. GA₃ uygulanmış Yerli tip bitkideki baş şekli

Sakız çeşidi ve varyantlarına ait enginar bitkilerinde baş indeks değerleri alınmıştır (Çizelge 4.8). İndeks değerleri baş uzunluğunun baş genişliğine bölünmesi ile elde edilmiştir.

Çizelge 4.8. GA₃ uygulamasının enginar başlarının indeks değerleri üzerine etkisi

	Kontrol	GA ₃ Uygulanmış	LSD %5: 0.104
Sakız	1.28	1.45	1.38 a
Ara Tip	1.13	1.23	1.18 b
Yerli Tip	1.08	1.10	1.09 b
LSD %5 : ÖD	1.16	1.27	

Çizelgeden de anlaşıldığı gibi GA₃ uygulamaları, enginar başlarının bir miktar uzamasını teşvik etmiştir. GA₃'ün bu etkisi Sakız'ın orijinal tipinde daha fazla olmuş, Ara formda biraz azalmış Yerli tipte ise hemen hemen hiç olmamıştır. GA₃ uygulanmış bitkiler ile uygulama yapılmayan kontrol bitkileri arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli çıkmamıştır. Sakız çeşidi ve varyantları baş indeks değerlerine göre karşılaştırılacak olursa; Yerli tip ve Ara tip bitkilere ait enginar başlarının yuvarlağa daha yakın olduğu ve Sakız tipi ile aralarındaki farklılığın istatistiksel anlamda önemli olduğu görülmektedir.

4.4. Laboratuvar Çalışmaları

4.4.1. İn vitro Kültür Sonuçları

Bu denemelerde erkenci enginar çeşitlerinde meydana gelen geriye dönüşümün in vitro koşullardaki durumunun incelenmesi amaçlanmıştır. In vitro denemeleri için 3 farklı dönemde sürgün alınmış ve sürgün uçları izole edilerek in vitro koşullara alınmıştır. Üç dönemde Sakız tipi bütün yapraklı özellik gösteren toplam 560 adet sürgün ucu ve parçalı yapraklı özellik gösteren Yerli tip bitkilerden ise toplam 471 adet sürgün ucu izole edilerek sürgün geliştirme ortamına alınmıştır.

Yapılan bu denemede kültüre alınan sürgün uçlarının bir kısmı ortam içerisinde kararmış, bir kısmı da bakteriyel enfeksiyonlardan kaynaklı olarak gelişmelerine devam edememiştir (Şekil 4.19).

Sonuç olarak in vitro koşullarda GA₃'ün geriye dönüşüm üzerindeki etkisinin incelenmesi planlandığı halde yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı yeterli sayıda bitki elde edilememesi dolayısıyla deneme gerçekleştirilememiştir.



Şekil 4.19. İn vitro kültüre alınmış ve enfeksiyonlu sürgünler

Pécaut ve Martin (1993), 1980 ve 1989 yılları arasında yürüttükleri çalışmalarda in vitro koşullarda enginar da bitki tipindeki değişimleri incelemişlerdir. Araştırmacılar alt kültür sayısı ile doğru orantılı olarak bitki tipindeki dönüşümün de arttığını bildirmişlerdir.

4.4.2. Katalaz Enzim Aktivitesi

Erkenci enginar çeşitlerinde meydana gelen geriye dönüşüm üzerinde stres enzim aktivitelerinin bir rolü olup olmadığının belirlenmesi ve bitki tiplerinin ayırtılmasında kullanılabilirliğinin araştırılması amacı ile ön denemeler yapılmış; superoksitdismutaz (SOD), askorbatperoksidaz (AP) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri incelenmiştir. Ön denemeler sonucunda katalaz enzim faaliyetinin farklı

tiplerde diğer enzimlere göre daha farklı değerler aldığı gözlenmiştir. Bu nedenle denemede katalaz enzimi üzerinde durulmuştur.

Denemeden elde edilen bulgular (Çizelge 4.9), istatistiksel anlamda bir farklılık olmamasına karşın ortalamalar göz önüne alındığında düz yapraklı olan tipler ile parçalı yapraklı olan tipler arasında katalaz aktivitesinin de farklı olduğunu göstermiştir. Düz yapraklı olan tiplerde aktivite yüksek iken parçalı olan tiplerde aktivite daha düşük olmuştur. GA₃ uygulaması da bitkilerde katalaz aktivitesinin yüksek olmasına neden olmuştur. GA₃ uygulanmış bitkilerde yeni süren yaprakların da daha düz olduğu göze alınırsa katalaz enzim faaliyeti ile düz yapraklılık arasında doğrusal bir ilişkinin ortaya çıktığı görülmektedir.

Çizelge 4.9. Sakız enginar çeşidi ve varyantlarında katalaz enzim aktiviteleri

	Kontrol		GA ₃	
	Cat aktivitesi (μmol/dk/g TA)	Standart sapma	Cat aktivitesi (μmol/dk/g TA)	Standart sapma
Sakız	1.32	0.26	1.42	0.09
Ara tip	0.93	0.62	1.15	0.35
Yerli tip	0.88	0.30	1.17	0.37

4.4.3. Ploidi Düzeyi İle İlgili Bulgular

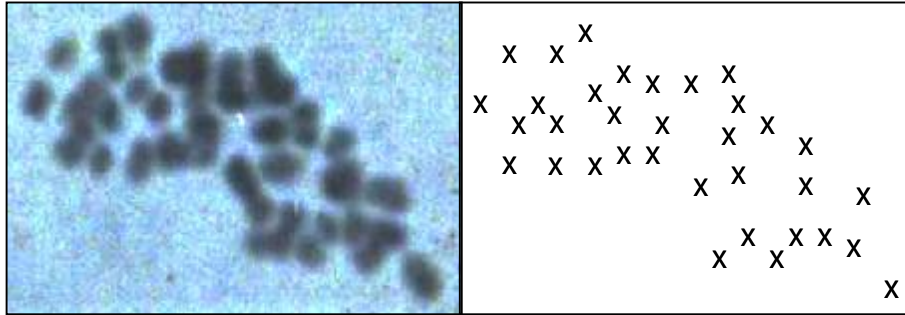
4.4.3.1. Kromozom Sayımı Sonuçları

Sakız, Ara tip ve Yerli tip bitkilerinde 2 yıl süreyle kök ucu kromozom sayımları yapılmıştır. Elde edilen bulgulara göre denemeye alınan genotiplerin kromozom sayılarının $2n=2x=34$ olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.20 ve 4.21). Flow sitometri analizi sonuçları her üç tipte de ploidi düzeylerinin aynı ve diploid olduğunu göstererek kromozom sayımı bulgularını destekler nitelikte çıkmıştır.

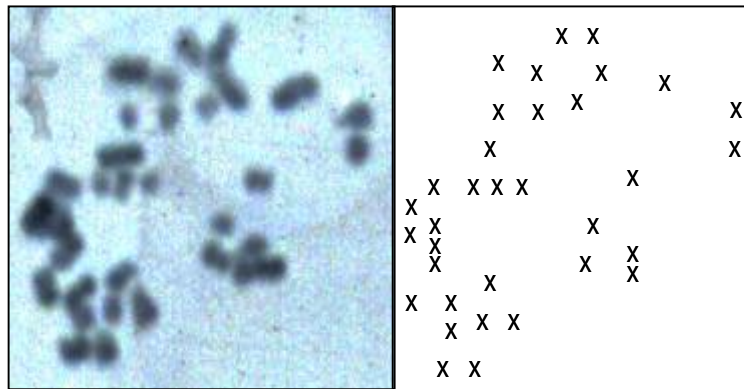
Enginarda yapılan kromozom çalışmaları ile ilgili literatürlerde *Cynara scolymus*'un temel kromozom sayısının $2n = 2x = 34$ olduğu belirtilmektedir (Foury, 1967; Ryder ve ark., 1983). Eser ve Özen (1998), Sakız enginar çeşidi ve

varyantlarında yaptıkları çalışmalarda Sakız çeşidinin normal tipinde $2n = 2x = 14$ kromozom, Ara tip bitkilerde 21 veya 28 ve Yerli tip bitkilerde ise $2n = 4x = 28$ kromozom olduğu belirtmişlerdir. Araştırmacılar Sakız enginar çeşidinin normal tipinin diploid fakat Yerli tipinde tetraploidinin olduğunu belirtmişlerdir. Ancak bizim yaptığımız çalışmada her üç tipin de diploid olduğu ve aralarında kromozom sayısı bakımından farklılık olmadığı görülmüştür. Yapılan başka bir çalışmada (Pecaut ve Martin, 1993) Violet de Provence ve Tudela çeşitlerinin “Normal”, “Pastel” ve “Pastel-Bull” tiplerinde kök hücrelerinin 34 kromozoma sahip olduklarını ve nadiren “Normal” ve “Pastel” tiplerde 68 kromozom olduğunu gözlemişlerdir. Violet de Provence çeşidinin “Bull” tipinde ise 68 kromozom olduğunu belirterek tetraploid yapı gösterdiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar “Pastel-Bull” tipi bitkilerin üst aksamında daha karmaşık bir yapı gösterdiğini fakat köklerde diploid olduğunu rapor etmişlerdir. Violette de Provence çeşidinin “Pastel-Bull” tipinde yaprak hücrelerinin çoğunun tetraploid olduğunu fakat Tudela çeşidinin hepsinin tetraploid çekirdeklerden oluştuğunu da vurgulamışlardır. Polen iriliği ve düşük döllenme özelliği bakımından L2 katmanında tetraploidinin olduğu görüşüne varmışlardır. Araştırmacılar aynı çeşitlerin kendilemeleri ile elde ettikleri bitkiler üzerinde yaptıkları incelemeler sonucunda “Pastel” tipin erkenci enginar çeşitlerinde gerçek tip olduğunu, orijinal olarak bilinen tipin de aslında değişime uğramış tip olduğu kanısına ulaşmışlardır.

Erkenci enginar çeşidi Sakız’da Pecaut ve Martin’in (1993) Violette de Provence ve Tudela çeşitlerinde belirttiği gibi kök hücrelerindeki kromozom sayıları $2n = 2x = 34$ olarak belirlenmiş, fakat polen özellikleri incelenmediği için bitkinin L2 katmanı yönünden tetraploid yapı gösterip göstermediği söylenemez. Ancak yapılan Flow sitometri analizleri sonucu bitki tiplerinin hepsinin diploid olmasından dolayı Sakız çeşidinin Tudela ve Violette de Provence çeşitlerinden farklı bir yapı gösterdiğini söylemek mümkündür.



Şekil 4.20. Sakız tipi bitkilerin kök uçlarından elde edilen kromozom görüntüleri *



Şekil 4.21. Yerli tip bitkilerin kök uçlarından elde edilen kromozom görüntüleri *

* : Kromozomların daha iyi görünmeleri için renklere daha çok kontrast verilmiştir.

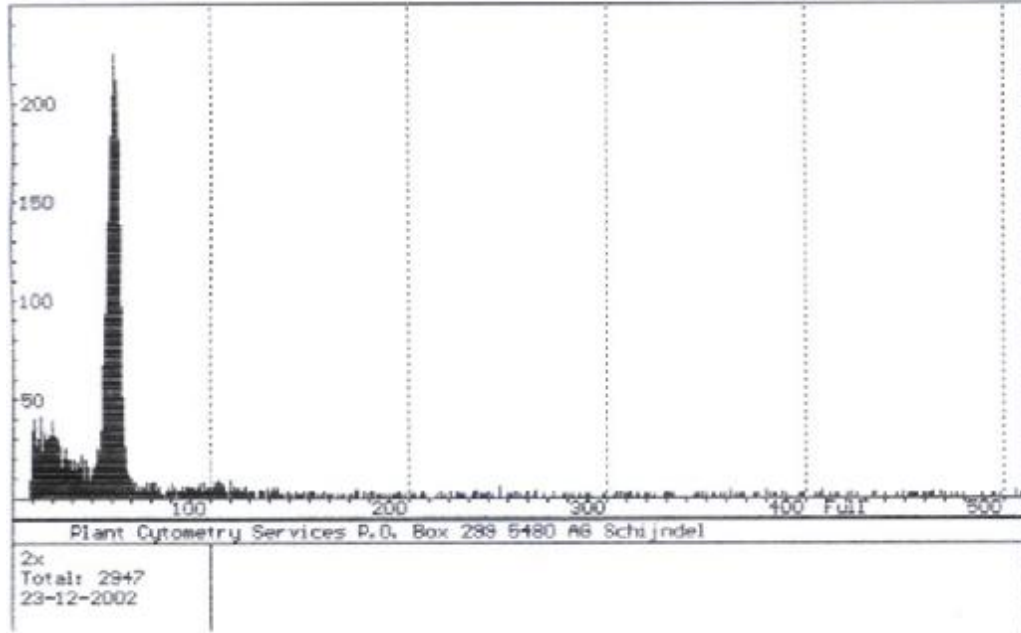
4.4.3.2. Flow Sitometri Analizi Sonuçları

Hollanda’da bulunan “Plant Cytometry Services” merkezine aşağıda belirtilen bitkilere ait yaprak örnekleri gönderilmiş ve DNA miktarlarına göre bitkilerin ploidi düzeyleri belirlenmiştir;

1. Sakız kontrol (GA₃ uygulanmamış bitki)
2. Sakız GA₃ (GA₃ uygulanmış bitki)
3. Ara tip kontrol (GA₃ uygulanmamış bitkisi)
4. Ara tip GA₃ eski (GA₃ uygulaması yapılan döneme ait yaprak)
5. Ara GA₃ yeni (GA₃ uygulamasından sonra oluşmuş yaprak)
6. Yerli kontrol (GA₃ uygulanmamış bitki)
7. Yerli GA₃ eski (GA₃ uygulaması yapılan döneme ait yaprak)
8. Yerli GA₃ yeni (GA₃ uygulamasından sonra oluşmuş yaprak)
9. Aynı ocak Sakız (Bitki tipi karışık olan ocaktaki Sakız bitkisinden alınan yaprak)
10. Aynı ocak Yerli (Bitki tipi karışık olan ocaktaki Yerli tip bitkiden alınan yaprak)
11. Tohum kontrol (GA₃ uygulanmamış bitkisi)
12. Tohum GA₃ eski (GA₃ uygulaması yapılan döneme ait yaprak)
13. Tohum GA₃ yeni (GA₃ uygulamasından sonra oluşmuş yaprak).

Analiz sonuçlarından elde edilen bulgular tüm örneklerin ploidi düzeylerinin aynı olduğunu göstermiştir (Şekil 4.22). Şekilde de görüldüğü gibi tüm örneklerde DNA miktarları 2x ile gösterilen bölgede tepe oluşturmuştur. Bu da tüm örneklerin aynı ve diploid durumda olduğunu göstermektedir.

Flow sitometri ile yaprak dokularındaki çekirdek DNA miktarlarının belirlenmesi hızlı ve kolay olmaktadır. Böylece kromozom sayısı ve DNA miktarı arasındaki temel ilişkiden yola çıkılarak bitkinin ploidi düzeyi belirlenebilmektedir (Doležel ve ark., 1992).



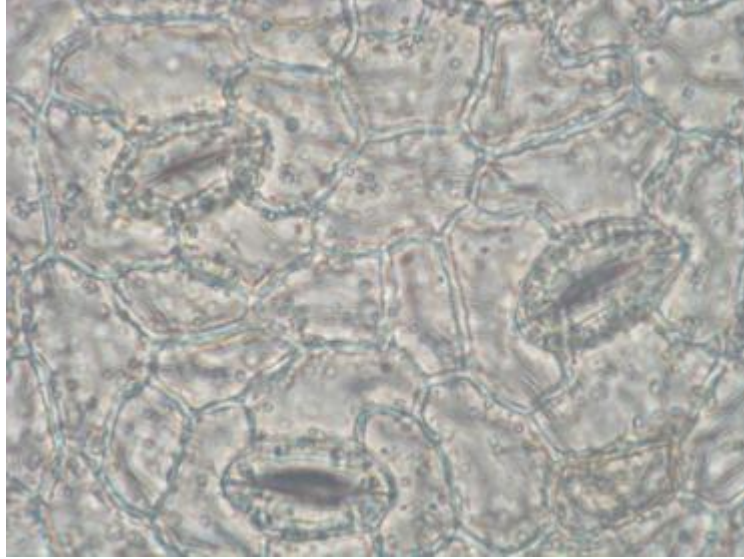
Şekil 4.22. Flow sitometri sonuçlarına ait bir görüntü

4.4.3.3. Stoma Uzunluğu ile İlgili Bulgular

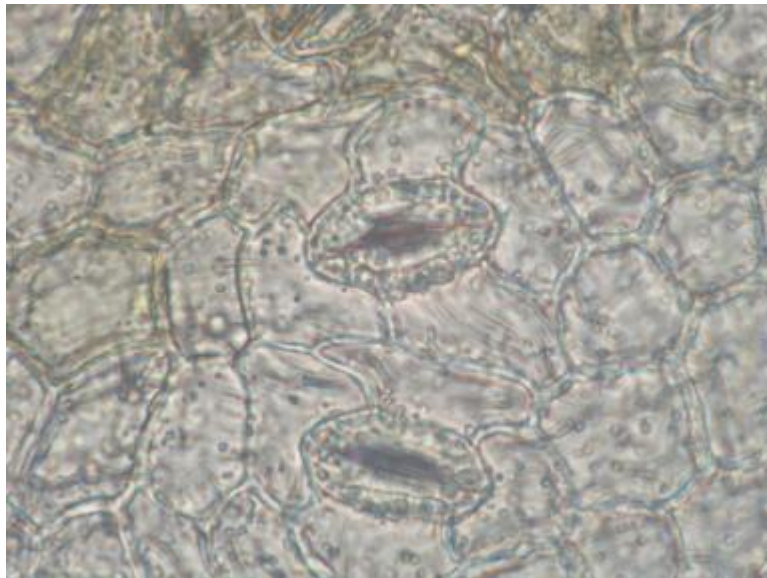
Sakız ve Yerli tip bitkiler arasında stoma uzunluğu bakımından farklılıklar incelenmiş (Şekil 4.23 ve 4.24) ve elde edilen bulgulara göre her iki tip arasında da istatistiksel anlamda bir farklılık bulunamamıştır (sırasıyla 28,25 μm (a) ve 29,17 μm (a)). Eser ve Özen (1998), yaptıkları çalışmada Sakız tipi bitkilerde stoma uzunluğunu 24.53 μm bulurken GA_3 uygulanmamış Yerli tip bitkilerde 26.74, GA_3 uygulanmış Yerli tip bitkilerde de 27.33 ile 25.33 μm arasında bulmuşlardır (sırasıyla 1 kez, 2 kez ve 3 kez GA_3 uygulanmış). Yapılan bu çalışmada stoma uzunluğunun bitki tipleri arasında farklılık göstermesi ploidi düzeylerinin farklı olmasından kaynaklandığı yönünde görüş bildirmişlerdir.

Yaptığımız bu çalışmada enginar bitkilerinin başlarındaki brakte yapraklardan alınan örneklerde yapılan stoma uzunluk ölçümleri sonucunda Sakız tipi bitkiler ve Yerli tip enginar bitkileri arasında istatistiksel anlamda bir farklılık bulunamamıştır. Buradan elde edilen bulgular ile diğer ploidi çalışmaları Sakız enginar çeşidi ve

varyantlarının ploidi yönünden farklı olmadıklarını ortaya çıkan bir başka gösterge olmuştur.



Şekil 4.23. Sakız tipi bitkilerin brakte yapraklarındaki stomalara ait bir görüntü



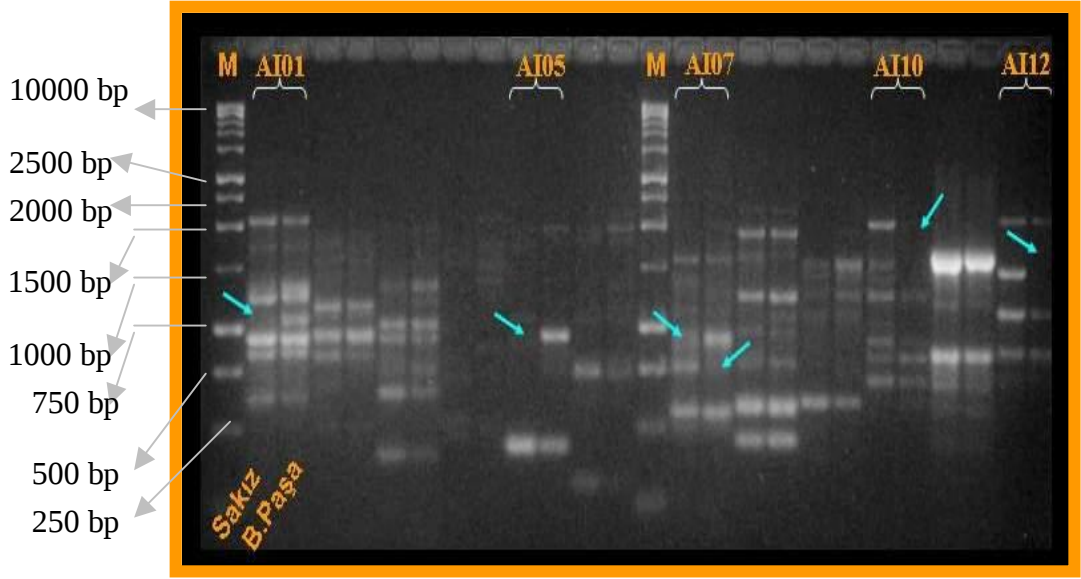
Şekil 4.24. Yerli tip bitkilerin brakte yapraklarındaki stomalara ait bir görüntü

4.4.4. Moleküler Çalışmalar**4.4.4.1. RAPD – PCR analizleri**

Moleküler markır çalışmalarının ilk kısmında Sakız enginarı ile varyantları arasındaki farklılıkların genetiksel olup olmadığının DNA düzeyinde incelenmesi amacı ile RAPD yöntemi kullanılarak DNA analizleri yapılmıştır. Çalışmada enginar çeşitleri arasında farklılık oluşturabilen primerlerin belirlenmesi için öncelikle Sakız çeşidi ile Bayrampaşa enginar çeşidi kullanılarak PCR çalışmaları yürütülmüş ve bunlar arasında farklılıklar oluşturan primerler belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu hedefe yönelik olarak toplam 140 primer RAPD analizlerinde kullanılmış ve bunlardan 33 primer (OPAA01, OPAA10, OPAH10, OPAH17, OPAH18, OPAH19, OPAI01, OPAI05, OPAI07, OPAI10, OPAI12, OPAI13, OPAJ12, OPAJ13, OPAJ15, OPAJ18, OPAJ20, OPB06, OPB10, OPB18, OPE15, OPAG01, OPAG02, OPAG04, OPAG09, OPAG12, OPAG14, OPAG20, OPAK01, OPAK05, OPAK09, OPAK11, OPAK16) polimorfizm göstermiş ve Sakız ile Bayrampaşa çeşitleri arasında farklı bantlar oluşturmuştur (Şekil 4.25).

Şekil 4.25’de de görüldüğü gibi OPAI01 (800 bp), OPAI05 (750 bp), OPAI10 (1500 bp) ve OPAI12 (1000 bp) primerleri Sakız enginar çeşidi ile Bayrampaşa arasında tek band farklılığı oluştururken, OPAI07 primeri sözü edilen genotipler arasında iki band (750 bp ve 900 bp) farklılığı oluşturmuştur.

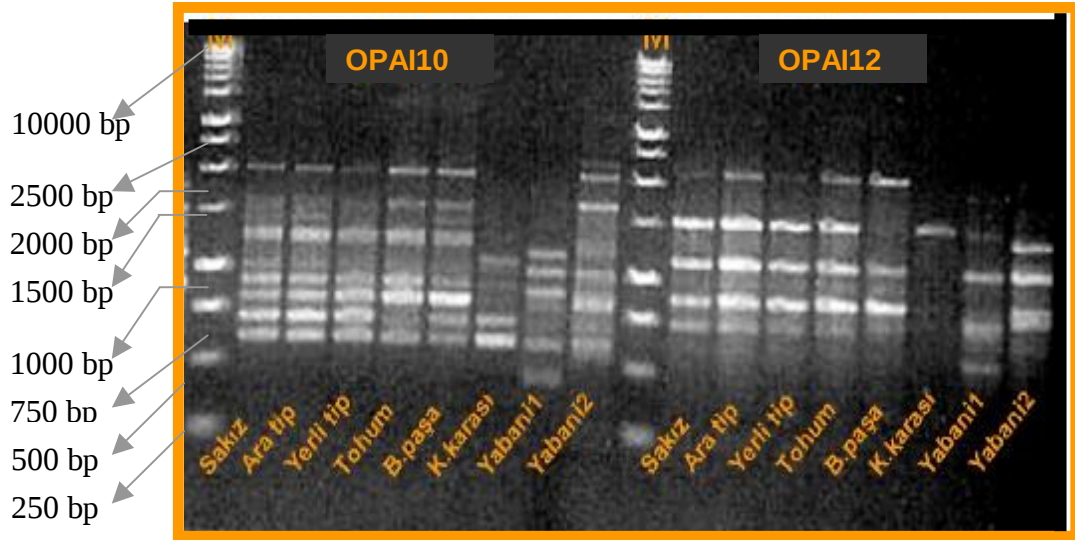
Moleküler çalışmanın ikinci kısmında, enginar çeşitlerinde farklılık oluşturan bu 33 primer kullanılmış ve Sakız çeşidi ile varyantları arasındaki DNA farklılıklarının ortaya çıkarılabilmesi amacı ile RAPD analizleri yapılmıştır. Sakız çeşidi ve varyantlarının RAPD markır sistemi yardımıyla DNA düzeyinde farklı olup olmadıklarının kontrollü olarak doğrulanabilmesi amacı ile PCR analizlerinde Sakız çeşidinin kendilenmesi ile elde edilen bitkilerin yanında Bayrampaşa ve Kıbrıs Karası enginar çeşitleriyle doğadan toplanan ve enginarın yabanisi olarak bilinen farklı özellikler gösteren 2 adet kangal (deve dikenli) bitkisi de kullanılmıştır.



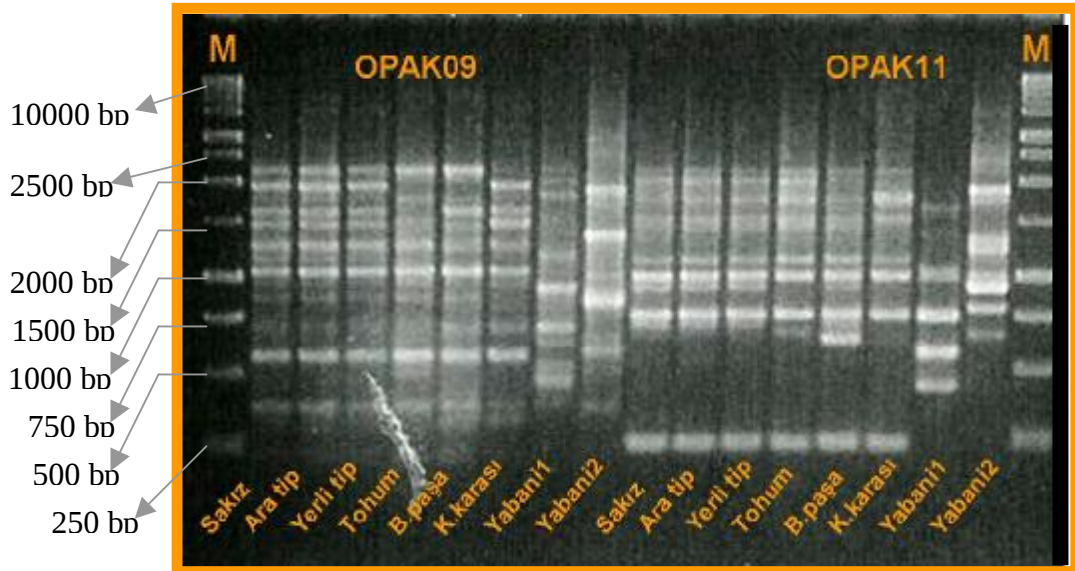
Şekil 4.25. Enginar genotipleri arasında primer belirleme çalışmasından elde edilen bazı primerlerin Sakız ve Bayrampaşa enginar çeşitleri üzerinde oluşturdukları band profilleri (M: DNA leader)

PCR analizleri sonucunda tüm genotipler bazında toplam 254 band oluşmuştur. Bu bandlardan 4 tanesi (%1.58) yabancı bitkiler dahil tüm genotiplerde ortak olarak gözlenmiştir. Bandların yaklaşık %46.06'sı (117 adet) sadece devedikeni bitkilerinde gözlenmiştir. Sadece Sakız enginar çeşidi ve bunların değişimi ile oluşan Ara tip ve Yerli tip bitkilerde toplam 8 band (%3.14) gözlenirken diğer 125 band (%49.22) analizi yapılan tüm genotiplerde dağılım göstermiştir. Elde edilen band profillerine ait görüntülerden bazıları Şekil 4.26 ve Şekil 4.27'de verilmiştir.

Tivang ve ark. (1996), enginar çeşitleri ve ıslah yoluyla elde edilmiş enginar hatları arasındaki genetik varyasyonu belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada toplam 96 adet random primer kullanmışlardır. Bunlar arasında 27 adet primer genotipler arasında farklı bant oluşturmuştur. Lanteri ve ark. (2001), İtalyan enginar popülasyonlarını karşılaştırmak amacıyla toplam 20 primer kullanmışlar ve bunlar arasında 15 primer popülasyonlar arasında polimorfik olarak bulunmuştur. Polimorfik primerler arasında OPAG 12, OPAF 04 ve OPAG 11 sırasıyla 16, 15 ve 12 bant oluşturarak en iyi üç primer olarak öne çıkmıştır.



Şekil 4.26. OPAI10 ve OPAI12 primerlerinin genotiplerde oluşturdukları RAPD band profilleri (M: 1 Kb DNA leader)



Şekil 4.27. OPAK09 ve OPAK11 primerlerinin genotiplerde oluşturdukları RAPD band profilleri (M: 1 Kb DNA leader)

4.4.4.2. Genetik Yakınlıklar

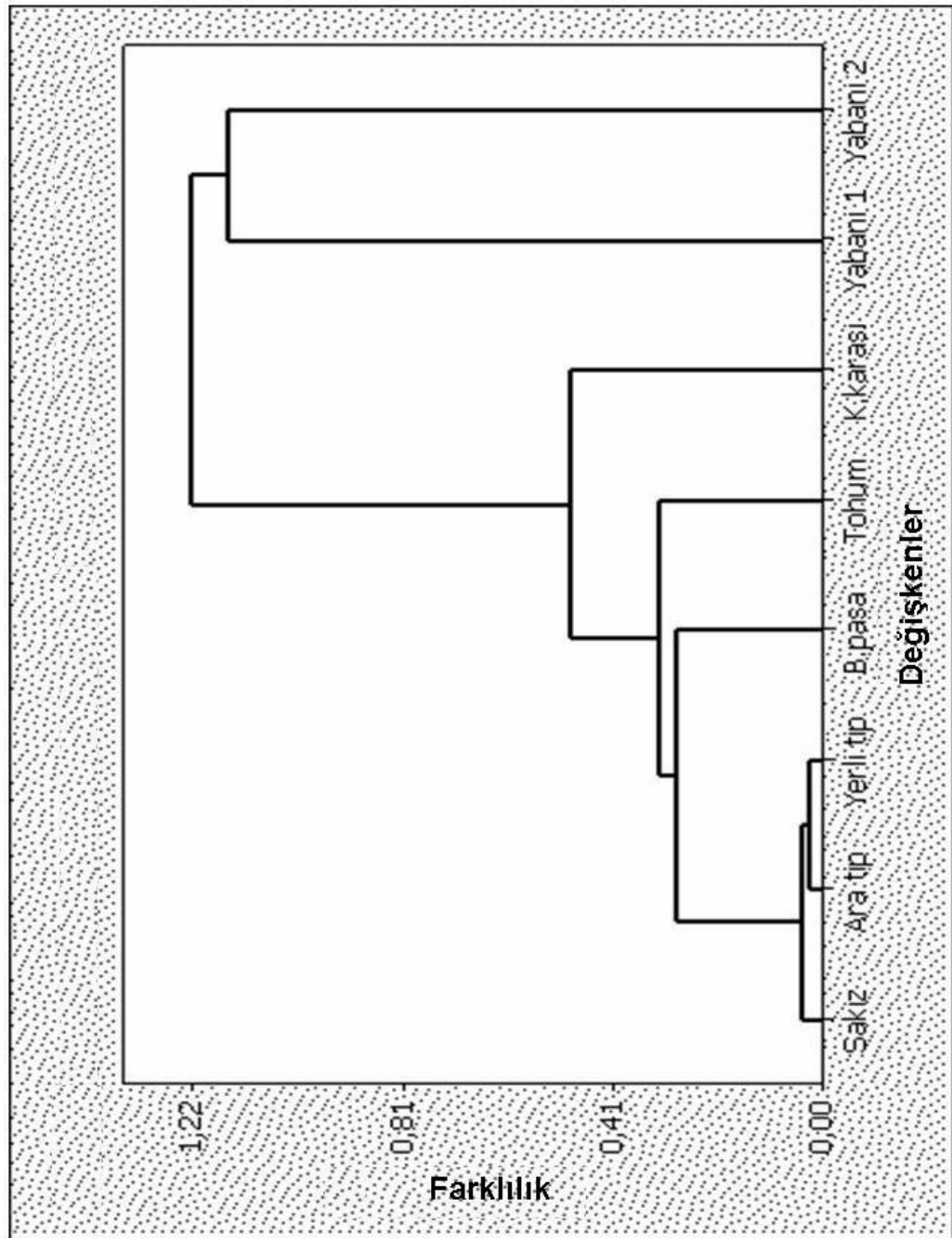
Toplam 249 polimorfik RAPD bandı ile oluşturulan 6 kültür enginarı ile 2 yabani enginar genotiplerine ait genetik uzaklık katsayıları Çizelge 4.10'da verilmiştir. Genotipler arasındaki genetik uzaklık katsayıları 0.015 ile 0.834 arasında değişim göstermiştir. Katsayılar incelendiğinde en fazla benzerlik (en küçük uzaklık katsayı değeri) 0.015 ile Ara tip ile Yerli tip enginar da görülürken en fazla genetik farklılık katsayısı da 0.834 ile Kıbrıs karası enginar çeşidi ile Yabani 1 arasında gözlenmiştir. Sakız ile Ara tip 0.020, Sakız ile Yerli tip 0.025 farklılık katsayısı ile birbirlerine çok yakın bulunan genotipler arasında çıkmıştır. Bayrampaşa ve Sakız enginar çeşidinin kendilemesiyle elde edilen bitkiler ile Sakız ve varyantları arasındaki farklılıklar düşük bulunurken Kıbrıs karası enginar çeşidi bunlardan daha yüksek derecelerde farklılıklar göstermiştir. Kültür enginarları kendi aralarında değerlendirildiğinde genetik uzaklık katsayıları 0.015 ile 0.377 arasında değiştiği görülmektedir. Tivang ve ark. (1996) bazı enginar çeşitleri arasındaki farklılıkları RAPD markırları ile incelemişler ve çeşitler arasında 0.280 ile 0.540 arasında genetik uzaklık değerlerine ulaşmışlardır. Lanteri ve ark. (2001) İtalya'nın değişik bölgelerinde yetiştirilen enginar populasyonlarını karşılaştırmada RAPD markırlarını kullanmışlardır. Elde ettikleri RAPD profillerine göre populasyonlar arasındaki genetik uzaklık değerleri 0.051 ile 0.456 arasında değişim göstermiştir.

Çizelge 4.10. RAPD markırları ile oluşturulmuş genetik uzaklık katsayıları

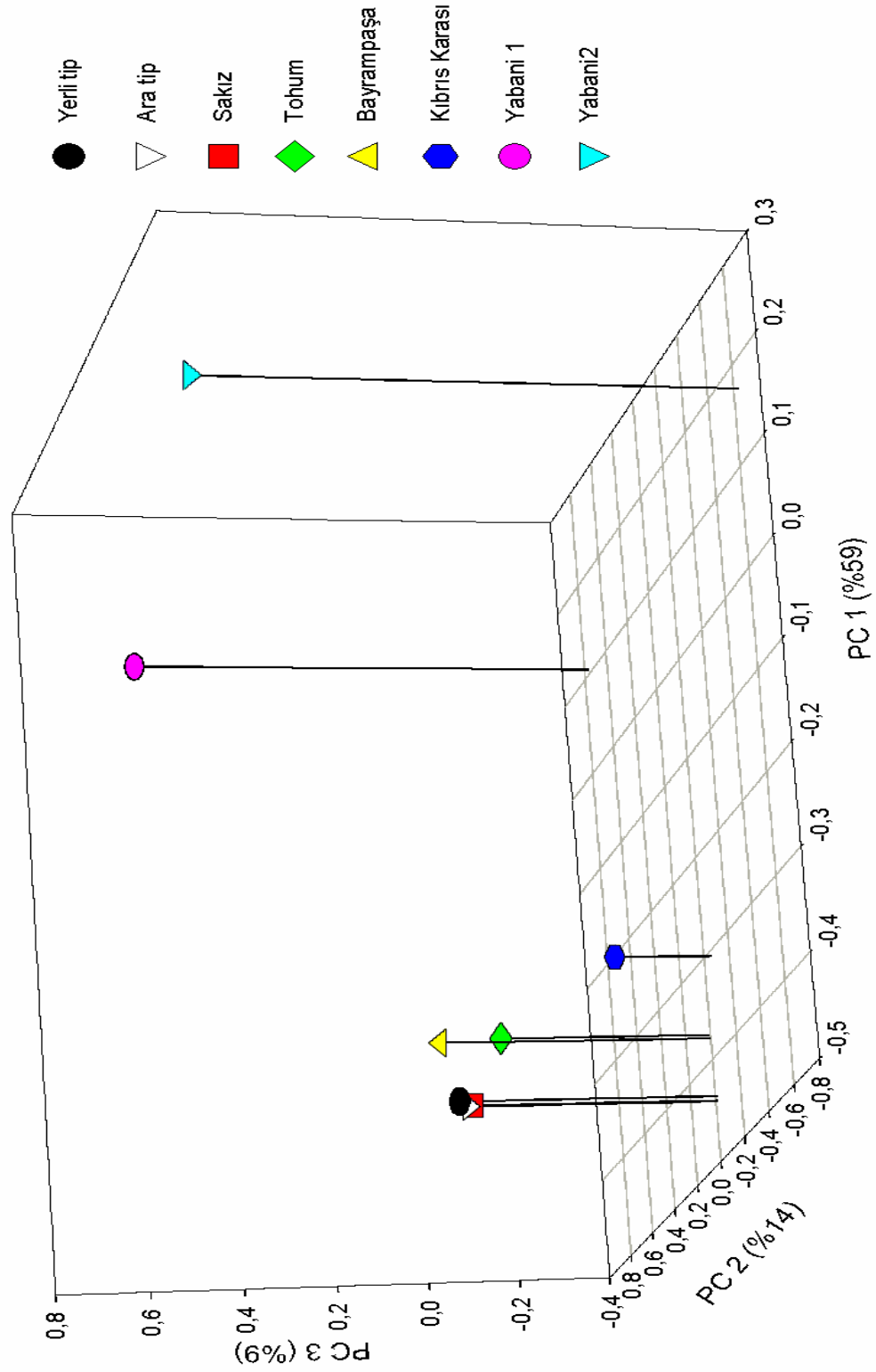
	Sakız	Ara tip	Yerli tip	Tohum	B.paşa	K.karası	Yabani 1
Ara tip	0.020						
Yerli	0.025	0.015					
Tohum	0.181	0.179	0.173				
B.paşa	0.181	0.169	0.173	0.245			
K. karası	0.326	0.322	0.326	0.377	0.317		
Yabani 1	0.789	0.792	0.793	0.783	0.759	0.834	
Yabani 2	0.727	0.730	0.731	0.740	0.712	0.763	0.731

RAPD bandlarının Minitab 1.4 istatistik programıyla average modeline göre yapılan analiz sonucunda oluşturulan genotipler arasındaki genetik ilişkiyi gösteren dendrogram Şekil 4.28’de verilmiştir. Bu sonuçlara göre Ara tip ve Yerli tip birbirine en yakın iki genotip olarak göze çarpmaktadır. Bu iki genotipe en yakın genotip Sakız’dır. Sakız çeşidi ve varyantları ile Bayrampaşa genotipi ise bir başka grubu oluşturmuştur. Sakız çeşidinin kendilemesiyle elde edilen tohumdan yetiştirilmiş bitkiler bu gruba daha yakın görünürken Kıbrıs karası Sakız çeşidi ve varyantlarından ve Bayrampaşa enginar çeşitlerinden daha farklı çıkmıştır. Yabani genotipler ise kültür enginarlarından oldukça farklı olarak ayrılmışlar ve iki farklı noktada yer almışlardır.

Genotiplerin arasındaki genetik ilişkinin açıklanmasında 3 boyutlu temel bileşen analizi yöntemi uygulanmıştır (Şekil 4.29). Şekilde de görüldüğü gibi farklılığın büyük bir kısmı (%59) kültür enginarları ile yabaniler arasındaki varyasyondan kaynaklanmaktadır. Sakız çeşidi ve varyantları birbirlerine çok yakın olarak gözlenirken, Bayrampaşa bu genotiplere en yakın genotip olarak bulunmuştur. Kıbrıs Karası ise Sakız ve Bayrampaşadan oldukça farklı bulunmuştur.



Şekil 4.28. Enginar genotiplerine ait genetik farklılıkların gösterildiği “Average Linkage” metoduna göre oluşturulmuş dendrogram



Şekil 4.29. RAPD markırları ile elde edilmiş farklıların temel bileşen analizi

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

2001–2004 yılları arasında Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde yürütülen bu çalışmada Sakız enginar çeşidinde bitki tipindeki değişimler fenolojik, fizyolojik, sitolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılmıştır. Sakız çeşidi olan fakat fenotipte farklı görünen Ara tip ve Yerli tip diye adlandırılan bitki tipleri ile Sakız çeşidinin genetik yapı bakımından farklılıkları RAPD yöntemiyle araştırılmıştır.

Erkenci enginar çeşitlerinin genel bir özelliği olan ve yıldan yıla bitkinin fenolojisindeki değişimler ile kendini gösteren bu sorunun arazi koşullarındaki durumu morfolojik olarak gözlenmiş ve yıldan yıla büyük oranlarda dönüşümün olduğu görülmüştür. 1998 yılında hepsi Sakız çeşidi parsellerinden seçilen ve bütün yapraklı özellik gösteren klonlarla kurulan parselde 2000 yılında yapılan bitki tipi gözlemlerine göre, toplam 130 ocaktan 73 adedi (%56) bütün yapraklılık özelliğini korumuş, geriye kalan 19 ocak (%15) Ara tip, 13 ocak (%10) Yerli tip ve 25 ocak (%19) karışık tipte bitkiler vermiştir (S+A, S+Y ve A+Y).

Yine enginar klonlarındaki bitki tiplerinin erkencilikleri incelendiğinde, Sakız tipi bitkiler ortalama 145.10 gün, Ara tip bitkiler 171.79 gün, Yerli tip bitkiler, 197.85 gün, karışık tipte bitki veren ocaklardan S+A tip bitkiler 143.82 gün, A+Y tip bitkiler 200 gün ve S+Y tip bitkiler ise 173 günde hasat edilecek enginar başları oluşturmuşlardır.

Yapılan GA₃ uygulamaları ile geriye dönüşüm ile oluşmuş Ara tip ve Yerli bitkilerde yeni oluşan yapraklar bütün halde çıkmıştır. Yaprak genişliği ve yaprak uzunluğu ölçümleri GA₃ uygulamalarının yaprakların daha dar ve parçasız gelişmesini teşvik ettiğini göstermiştir. Yine GA₃ uygulaması ile belli oranlarda erkencilikler de elde edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre Sakız tipi bitkilerde GA₃ uygulaması ile 12 gün, Ara tip 14-16 gün ve Yerli tip bitkilerde de 14 günlük bir erkencilik sağlanmıştır.

Enginarın toprakaltı gövdesinin düşük sıcaklık koşullarında muhafazaya alınmasıyla dönüşümün önlenemediği görülmüştür. Bütün yapraklı özellik gösteren bitkilerin dinlenme döneminde düşük sıcaklık koşullarında (12°C) muhafaza edilmesi ve uyandırma sulama zamanında araziye dikilerek tekrar sürdürülmesi ile yine

hepsinin bütün yapraklılık özelliğini koruduğu gözlenmiştir. Bu durumda enginar bitkilerinin dinlenme döneminde yaz sıcaklıklarından korunması ile dönüşümün önlenebileceği düşünülebilir.

Sakız enginar çeşidinde meydana gelen geriye dönüşümünde stres enzimlerinin etkisinin araştırılması amacı ile katalaz enzim aktivitesi analiz edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre Sakız çeşidi ve varyantları arasında az da olsa bir farklılık gözlenmiş ancak bu farklılık istatistiksel olarak önemli çıkmamıştır.

Erkenci enginar çeşitlerinde meydana gelen geriye dönüşüm ile bitkilerin ploidi düzeyi farklılıkları değişik yöntemlerle araştırılmaya çalışılmıştır. Flow sitometri analizleri ve kök ucu kromozom sayımları ile yapılan incelemeler sonucunda Sakız tipi ve varyantlarının ploidi düzeylerinin aynı ve diploit olduğu belirlenmiştir.

RAPD marker analizleri sonucunda gözlemlediğimiz bant görüntüleri Sakız çeşidi ve geriye dönüşümü ile oluşmuş bitkiler arasında çok düşük düzeyde farklılık olduğunu göstermiştir. Ara tip ve Yerli tip arasındaki genetik uzaklık katsayısı 0.015 iken Sakız ile Ara ve Yerli tip arasındaki genetik uzaklık katsayıları sırası ile 0.020 ve 0.025 olarak bulunmuştur. Bu sonuç Sakız ve varyantlarının genetik olarak birbirine çok benzediğini fakat identik olmadığını göstermektedir. RAPD bant görüntülerine göre oluşturulan dendogramda da zaten Ara tip ve Yerli tip aynı grup içerisinde yer almış ve buna çok yakın bir grup içerisinde de Sakız yer almıştır. Sakız çeşidi ve geriye dönüşümü ile oluşmuş Ara tip ve Yerli tip diye adlandırılan bitkiler arasındaki genetik bakımdan farklılıkların olup olmadığını incelemek amacıyla gerçekleştirdiğimiz moleküler çalışmada kullandığımız RAPD yöntemi çeşitler arası varyasyonu ortaya çıkarmada iyi sonuçlar vermiştir. Nitekim Bayrampaşa ve Kıbrıs Karası enginar çeşitlerinin Sakız ve varyantlarından ayrı birer grup olduğu yapılan çalışma sonucu görülmüştür. Ancak Sakız ve varyantları arasında çok küçük farklılıklar gözlenmiştir. İtalya’da yapılan bir çalışmada (Lanteri ve ark., 2001) RAPD yönteminin enginarda populasyonlar arası ve populasyon içi farklılıkların ortaya konmasında başarılı olduğu vurgulanmıştır. Yaptığımız bu çalışmada da çeşitler arası farklılıklar belirgin olarak ortaya konurken nedeni henüz bilinmeyen geriye dönüşüm ile oluşmuş bitki tipleri arasındaki farklılıklar tam olarak ortaya

çıkarılamamıştır. Bu yöntem ile elde edilen bulgular Sakız ve varyantlarının çok küçük farklılıklar ile birbirinden farklı olduğunu ortaya koymuştur (tek RAPD bant farklılığı). Ancak bu bulgu da az da olsa bu bitki tipleri arasında genetik bir farklılığın olduğunu göstermektedir. Bu da bitkilerde çok küçük mutasyonların olabileceği düşüncesini oluşturmaktadır. Ancak çeşit içi veya klonlar arasındaki DNA düzeyindeki farklılıkların daha detaylı incelenebilmesi için mikrosatellit markır tekniğinin kullanılmasının daha uygun olacağı görüşüne varılmıştır. Ayrıca Türkiye'nin değişik bölgelerinde yetiştirilen ve Sakız çeşidi olarak bilinen enginarların da örneklenip DNA düzeyinde incelenmesiyle ve bunların genetik benzerliklerinin ortaya konmasıyla çeşit karmaşasının önlenmesinde mikrosatellit markır tekniği detaylı bilgi vermesi bakımından önem arz etmektedir.

Elde edilen tüm bu bulgular ışığında Sakız enginar çeşidinde meydana gelen geriye dönüşümün en aza indirilebilmesi için bazı kültürel önlemlerin alınabileceği düşünülebilir. Enginar bitkisel özelliği bakımından toprak altı gövdesi çok yıllık bir sebze türüdür. Toprak altı gövdesi üzerinde çok sayıda göz bulunur ve ertesi yılın bitkisel özelliğini bu gözler tayin eder. Bu gözlerde oluşması muhtemel bir mutasyon ve bu gözlerden oluşan sürgünlerin farklı bir tip bitki gibi görünmesini sağlayabilir. Erkenci enginarlarda gözlenen bitki tipi değişimlerinin sebebi her ne kadar tam olarak bilinmese de çevresel koşulların etkili olduğu açıktır. Sezon sonunda bitki sıralarının saman malçı ile kapatılması yazın kavurucu sıcaklığından toprak altı gövdesinin korunmasını sağlayabilir ve uyandırma sulamasından sonra bitki çıkışları daha homojen olabilir. Bu gibi kültürel önlemler ve uyandırma sulaması zamanının iyi ayarlanması ile bitki tipi değişimlerinin en aza indirilebileceği düşünülebilir. Bunun yanında ertesi yılın fidelerinin üretilmesi amacı ile alınan sürgünlerin alım zamanının da bitki tipi değişimlerinde önemli rol oynayabileceği daha önceden yapılan çalışmalarda belirtilmektedir (Koçer, 1993).

KAYNAKLAR

- ABAK, K. 1987.** Enginar ve Kuşkonmaz Yetiştiriciliği. Tav. Yayın No: 15, 64 s.
- ABBATE, V. and NOTO, G. 1981.** Variabilita ambientale e genotipica in popolazioni siciliane di *Cynara scolymus* ed isolamento di nuovi cloni di violetto di sicilia. Proc. Atti 3. Congr. Int. di Studi sul Carciofo, Bari. Industria Grafica Laterza, Bari: 843-852.
- ACQUADRO, A., PORTIS, E. and LANTERI, S. 2003.** Isolaton of microsatellite loci in artichoke (*Cynara scolymus* L. var. *scolymus*). Mol. Ekol. Notes, 3: 37-39.
- ANONİM 2003.** <http://www.fao.org>.
- BASNIZKI, J. 1979.** Researchs on growth physiology of the artichoke. Estratto da Atti 3° Congr. Int. di Studi sul Carciofo, Bari. 27-30.
- BASNIZKI, J. and GOLDSCHMITH, E. 1994.** Further examination of gibberillin GA₃ effects on flowering of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) under controlled environment and field conditions. Israel J. of Plant Sci. 42: 159-166.
- BAYRAKTAR, K. 1981.** Sebze Yetiştirme, Cilt III. Kültür Sebzeleri, E.Ü.Z.F. Yayınları, No: 169.
- BONNET, A. 1959.** Contribution a l'étude de l'artichaut. Thèse présentée a la Fac. de Sciences de l'Univ. De Toulouse.
- BUCAN, L., GORETA, S. and PERICA, S. 2000.** Influence of transplant age and type on growth and yield of the seed propagated artichoke. IV International Congres on Artichoke, October 17-21. Valenzano- Bari, Italy, 2000. Abstract.
- CALABRESE N., DE PALMA E. and BIANCO V.V. 2000(a).** Yield and quality of seed propagated artichoke hybrid cultivars grown for four years. IV International Congres on Artichoke, October 17-21. Valenzano- Bari, Italy, 2000. Abstract.
- CALABRESE, N., DE PALMA E. and BIANCO V.V. 2000(b).** Gibberellic acid and earliness of new seed propagated artichoke cultivars. IV International Congres on Artichoke, October 17-21. Valenzano- Bari, Italy, 2000. Abstract.

- CHAUX, C.L. and FOURY, C. 1994.** Productions Legumieres, 2: 405-438.
- COINTRY, E.L., LÓPEZ ANIDO, F.S., CRAVERO, V.P., GATTI, I., GARCIA, S.M. and FIRPO, I.T. 2000.** Estimation of reproductive values and selection of elite plants in artichoke. IV International Congress on Artichoke, October 17-21. Valenzano- Bari, Italy, 2000. Abstract.
- DE ANGELIS, J. 1970.** Effect of gibberillic acid treatments on globe artichoke. Israel J. Agric. Res. 20(4): 149-157.
- DEIDDA, M. 1967.** Contributo al miglioramento genetico del carciofo. Proc. Atti 1^o Congr. Int. di Studi sul Carciofo, Bari. Ediz. Minerva Medica, Torino: 157-174.
- DELLACECCA, V.V., MAGNIFICO, V., MARZI V., PORCEDDU, E. and SCARASCIA MUGNOZZA, G.T. 1976.** Contributo alla conoscenza delle varietà di carciofo coltivate nel mondo Proceed. Internat. Congress on Artichoke, Bari 1973. Minerva Medica, Torino (in Italian),. 199–316.
- DOEL, H.J.H. and MARTINOLLI, A. 1976.** Further knowledge of gibberillic acid application on artichokes. Nuovi Studi sul carciofo. Proc. 2nd Intern. Congr. Artichoke Studies. 643-653.
- DOLEŽEL J., SGORBATI S and LUCRETTI S. 1992.** Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. *Physiologia Plantarum* 85: 625–631.
- DOS SANTOS, J.B., NIENHUIS, J., SKROCH, P., TIVANG, J. and SLOCUM, M. 1994.** Comparison RAPD and RFLP genetic markers in determining genetic similarity among *Brassica oleracea* L. genotypes. Theor. Appl. Genet. 87: 909-915.
- EKBİÇ, E. 1998.** Biberlerde Patates Y Virüsüne (PVY) Dayanıklılık Özelliği İçin Bulk Segregant Analizi (Bsa)Tekniği ile Rapd (Random Amplified Polymorphic DNA) Marker'larının Araştırılması. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- ELIA, A. and MICCOLIS, V. 1996.** Relationships among 104 artichoke (*Cynara scolymus* L.) accessions using cluster analysis. Adv. Hort. Sci. 10: 158–162.

- ESER, B. ve ÖZEN, Ş. 1998.** Sakız enginar çeşidinde (*Cynara scolymus* L. cv. Sakız) görülen tek yönlü değişimin nedenleri üzerinde bir araştırma. Tübitak Projesi (TOGTAG-1509) Sonuç Raporu. 143 s.
- ESER, B. and ÖZEN, Ş. 2000.** Possible reasons of one-way variation in artichoke. IV International Congress on Artichoke, October 17-21. Valenzano- Bari, Italy, 2000. Abstract.
- FOURY, C. 1967.** Study of floral biology of artichoke *Cynara scolymus* L. with application of selection. Part I. Ann. Amélior. Plantes V. 17 :357-373.
- FOURY, C. 1969.** Etude de la biologie florale de l'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Application a la sélection 2^o partie. Etude des descendances obtenues en fécondation contrôlée. Ann. Amélior. Plantes 19 (1) : 23-52.
- FOURY, C. 1979.** Some practical aspects of single plant selection in globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). I. Creation of lines. Estratto da Atti del 2. Cong. Int. di Studi Sul Carciofo Bari, 321-333.
- FOURY, C. 1987.** Quelques aspects du developpement de l'artichaut (*Cynara scolymus* L.) issue de semences; analyse plus particulière de la floraison en conditions naturelles. Thèse Doc. és Sciences Naturelles Univ. Orsay, 189 p.
- FOURY, C. 2000.** Advantages and difficulties relating to F₁ varieties. . IV International Congress on Artichoke, October 17-21. Valenzano- Bari, Italy, 2000. Abstract.
- FOURY, C. and MARTIN, F. 1974.** Etude des possibilites de creation et d'utilisation de varietes d'artichaut issues de semences. Atti 2. Cong. Int. Sul Carciofo, Bari. 667-669.
- GOODMAN, M.M. and STUBER, C.W. 1980.** Genetic identification of lines and crosses using isoenzymes electrophoresis. Proc. 35th Annu. Corn Sorghum Res. Conf. 35: 10-31.
- HALTER, L., HABEGGER, R. and SCHNITZLER, W.H. 2000.** Gibberellic acid on artichokes cultivated in Germany to promote earliness and to increase productivity. IV International Congress on Artichoke, October 17-21. Valenzano- Bari, Italy, 2000. Abstract.

JANIN, J.P. 1979. Contribution a l'etude de l'artichaut (*Cynara scolymus* L.).

Travail de diplome d'ingenieur horticole, Technicum Horticole Lutlier.

KOÇER, G. 1993. Sakız enginar çeşidinde (*Cynara scolymus* L. cv. Sakız) verim dağılımına bitki yaşı, uyandırma sulaması veriliş zamanı ve gibberillik asit uygulamalarının etkilerinin belirlenmesi üzerinde bir araştırma. Doktora Tezi, E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 1993. 226 s.

KOÇER, G. and ESER, B. 2000. Atrophic head formation and earliness in artichoke production. IV International Congress on Artichoke, October 17-21. Valenzano- Bari, Italy, 2000. Abstract.

KÜTAHYALI, S. 1971. Aydın ilinin enginar yetiştiriciliği yönünden etüdü ve enginar yetiştirmenin genel esaeları. E.Ü.Z.F. Bitirme Tezi. Bornova.

LANTERI, S., DI LEO, I., LEDDA, L., MAMELI, M.G. and PORTIS, E. 2001. RAPD variation within and among populations of globe artichoke cultivar Spinoso sardo. Plant Breeding, 120: 243-246.

LAUMONNIER, R. 1964. Cultures Maraichères. J.B. Bailliere et Fils Edt. Paris.

MACIT, F. ve ŞALK, A. 1970. Enginar. E.Ü.Z.F. Teknik No: 14, Bornova.

MACUA, J.I., LAHOZ, I. and SANTOS A. 2000. Agronomic and qualitative influence of different artichoke cultivars in sucker fields with one-year and multi-year crops. IV International Congress on Artichoke, October 17-21. Valenzano- Bari, Italy, 2000. Abstract.

MAUROMICALE, G. 1994. Influenza del genotipe e dell'ambiente sul calendario di produzione del carciofo propagato per'seme. L'Inf. Agr. 50: 61-65.

MAUROMICALE, G. and LERNA, A. 1995. Effects of gibberillic acid and sowing date on harvest time and yield of seed grown globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). Agronomi1: 527-538.

MAUROMICALE, G., LERNA, A. and CAVALLARO, V. 2000. Effects of vernalization and gibberellic acid on floral induction and harvest time of seed-grown artichoke. IV International Congress on Artichoke, October 17-21. Valenzano- Bari, Italy, 2000. Abstract.

MESSEGUE, N. 1973. Tabiat Haklıdır. (Çeviri: S.M. Yurdanur). E Yayınları, İstanbul.

- MIGLIORI, A. 1995.** L'artichaut donnees generales. INRA Centre de Rennes Le Rheu. Station Pathologie Vegetale.
- MILLER, T. 1975.** New artichoke clones. New Zealand J. Agr. 131 (1): 33.
- MULLER, A., DIEMANN, E. and SASSENBERG, P. 1988.** Chromium contents in medicinal plants used for treating diabetes mellitus type II. Naturwissenschaften, 75 (3):155-156.
- NEI, M., and W. LI. 1979.** Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 76:5269–5273.
- NIENHUIS, J., SLOCUM, M.K., DE VOS, D.A. and MUREN, R. 1993.** Genetic similarity among *Brassica oleracea* L. genotypes as measured by restriction fragment length polymorphisms. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 118: 298-303.
- PÉCAUT, P. 1983.** Amélioration des variétés d'artichaut : variétés à multiplication végétative, variétés à multiplication par semences clones sans virus issus de multiplication *in vitro*. Procès-verbal de la Séance de 12 janvier. Académie D'agriculture de France: 69-78.
- PÉCAUT, P. 1993.** Globe artichoke *Cynara scolymus* L. Genetic improvement of vegetable crops, G. Kalloo, B.O. Bergh (Eds.): 737-746.
- PÉCAUT, P. and MARTIN, F. 1993.** Variation occurring after natural and in vitro multiplication of early Mediterranean cultivars of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). Agronomie, 13: 909-919.
- RYDER, E.J., DEVOS, N.E. and BARI M.A. 1983.** The globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). HortScience, Vol. 18(5): 646-653.
- SARI, N. 1994.** Karpuzlarda Işınlanmış Polen Uyartımıyla Haploid Bitki Eldesi Üzerine Genotipin ve Mevsimin Etkisi ile Işınlama Yerine Geçebilecek Uygulamalar Üzerinde Araştırmalar. Ç.Ü.Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Doktora Tezi, 244 s.
- SCARASCIA MUNOZZA, G.T. and PACUCCI G. 1976.** Tipi de potenziale valore pratico isolati nell'ambito di un programma per il miglioramento genetico del carciofo. Proc. Atti 2. Congr. Int. di Studi sul Carciofo, Bari. Ediz. Minerva Medica, Torino: 721-732.

- SCROCH, P. and NIENHUIS, J. 1995.** Impact of scoring error and reproductibility of RAPD data on RAPD based estimates of genetic distance. Theor. Appl. Genet. 91: 1086-1091.
- ŞENSOY, S. 2005.** Türkiye Kavunlarındaki Genetik Varyasyonun ve Fusarium Solgunluğuna Dayanıklılığın Fenotipik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. YYÜ. Fen Bilimleri Est. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Doktora Tezi. 164 s.
- SMITH, J.J., SCOTT-CRAIG, J.S., LEADBETTER, J.R., BUSH, G.L. ROBERTS, D.L. and FULBRIGHT, D.W. 1994.** Characterization of random amplified polymorphic DNA (RAPD) products from *Xantomonas campestris* and some comments on the use of RAPD products in phylogenetic analysis. Mol. Phylo. Evol. 3: 135-145.
- SMITH, J.S.C. 1984.** Genetic variability within US hybrid maize: Multivariate analysis of isozyme data. Crop Sci. 24: 1041-1046.
- SMITH, O.S., SMITH, J.S.C., BOWEN, S.L. TENBORG, R.A. and WALL, S.J. 1990.** Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F1 grain yield, grain yield heterosis and RFLPs. Theor. Appl. Genet. 80: 833-840.
- SONNANTE, G., DE PAOLIS, A., LATTANZIO, V. and PERRINO, P. 2002.** Genetic variation in wild and cultivated artichoke revealed by RAPD markers. Genet. Res. Crop Evol. 49 (3): 247-252.
- SPOONER, D.M., TIVANG, J.G., NIENHUIS, J., MILLER, J.P., DOUCHES, D.S. and CONTRERAS, A.M. 1996.** Comparison of four molecular markers in evaluating accessions of the wild potato relatives *Solanum* section *Etuberosum* (subgenus Potatoe). Theor. Appl. Genet. 92: 532-540.
- STEVENS, K.L., WITT, S.C. and TURNER, C.E. 1990.** Polyacetylenes in related thistles of the subtribes centaureinae and carduinae. Biochem. Syst. Ecol. 18: 229-232.
- SYNDER, M. 1981.** Investigations of propagational techniques for artichokes. Atti Del. 3° Congr. Internaziale Sul Carciofo, Nuovi Studi Sul Carciofo. Industria Grafica Laterza. 347-355.

- SYNDER, M.J., WELCH, N.C. and RUBATZKY, V.E. 1971.** Influence of gibberillin on time of bud development in globe artichoke. HortScience v. 6. 484-485.
- TESI, R. 1976.** Primi risultati del miglioramento genetico nelle varietà toscane de *Cynara cardunculus* v. *scolymus*. Proc. Atti 2. Congr. Int. di Studi sul Carciofo, Bari. Ediz. Minerva Medica, Torino: 747-763.
- TESI, R. and LENZI, A. 2000.** Artichoke propagated by seed for spring production in Tuscany. IV International Congress on Artichoke, October 17-21. Valenzano- Bari, Italy, 2000. Abstract.
- THORMANN, C.E., FERREIRA, M.E., CAMARGO, L.E.A., TIVANG, J.G. and OSBORNE, T.C. 1994.** Comparison of RFLP and RAPD genetic relationships within and among cruciferous species. Theor. Appl. Genet. 88: 973-980.
- TIAGTONG, C. 2000.** The effects of gibberellic acid (GA₃) on flowering and yield of artichokes. IV International Congress on Artichoke, October 17-21. Valenzano- Bari, Italy, 2000. Abstract.
- TIVANG, J., SCROCH, P.W., NEINHUIS, J. and DE VOS, N. 1996.** Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) variation among and within artichoke (*Cynara scolymus* L.) cultivars and breeding populations. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 121(5): 783-788.
- WEEDEN, N.F., TIMMERMAN, G.M., HEMMAT, M., KNEEN, B.E. and LODHI, M.A. 1992.** Inheritance and reliability of RAPD markers.
- WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A. and TINGEY, S.V. 1990.** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18: 6531-6535.
- ZOHARY, D. and BASNIZKI, J. 1975.** The cultivated artichoke (*Cynara scolymus*). It's probably wild ancestors. Econ. Bot. 29: 233-235.
- ZOSHCHUK, N.V., BADAIEVA, E.D. and ZELENIN, A.V. 2003.** History of modern chromosomal Analysis. Differential staining of plant chromosomes. Rus. Jour. Of Developmental Biol., V. 34 (1): 1-13.

ÖZGEÇMİŞ

1970 yılında Hatay'ın Kırıkhan ilçesinde doğdum. İlköğrenimimi Kırıkhan'da tamamladıktan sonra orta ve lise öğrenimimi Gaziantep'in Nizip ilçesinde tamamladım. 1989 yılında Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümüne girdim ve 1993 yılı haziran ayında "Ziraat Mühendisi" olarak mezun oldum. 1994 yılı Şubat ayında Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans programına başladım. Yüksek Lisans dönemi boyunca 1 yıl İspanya ve 4 ay Fransa'da değişik çalışmalar amacı ile bulundum. 27 Ekim 1997 tarihinde Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü'nün Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı'nda açmış olduğu "Araştırma Görevliliği" sınavını kazanarak göreve başladım. 26 Eylül 2002 tarihinde Adana Ziraat Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünde Ziraat Mühendisi olarak göreve başladım. Halen aynı kuruluştaki fitopatoloji konusunda görevime devam etmekteyim.