

PAPER DETAILS

TITLE: Kendileme Yoluyla Saflastirilmis Bazi Patlican Hatlarinin Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu

AUTHORS: Volkan TOPÇU,Filiz BOYACI,Hakan AKTAS

PAGES: 43-53

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/308596>

Kendileme Yoluyla Saflaştırılmış Bazı Patlıcan Hatlarının Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu

Volkan TOPÇU¹ Filiz BOYACI¹ Hakan AKTAŞ^{2*}

¹ Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Sebzeçilik Bölümü, Antalya

² Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Isparta

* Sorumlu yazar: aktashakan@sdu.edu.tr

Geliş tarihi: 12.02.2016, Yayına kabul tarihi: 29.03.2016

Özet: Bu çalışmada, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Sebzeçilik Bölümünde ıslah programlarında kullanılan 100 adet patlıcan hattının, morfolojik ve moleküler olarak karakterizasyonu yapılmıştır. Morfolojik karakterizasyon için UPOV ve TTSM tarafından belirtilen kriterler dikkate alınarak belirlenen 32 adet morfolojik özelliğe ait gözlem ve ölçümler yapılmış ve bunun neticesinde genotiplerin 17 gruba ayrıldığı tespit edilmiştir. Moleküler karakterizasyon ise 5 adet RAPD ve 2 adet SSR primeri kullanılarak yapılmış ve toplam 28 bant elde edilmiştir. Bu bantların 26 adedi polimorfik, 2 adedi ise monomorfik olarak belirlenmiş ve polimorfizm oranının %92.8 olduğu tespit edilmiştir. Morfolojik ve moleküler özelliklere ait verilerin analizi sonucunda elde edilen benzerlik matrisinin UPGMA gruplandırması ile gen havuzunda bulunan patlıcan saf hatlarının arasındaki genetik ilişkinin seviyesi belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Patlıcan, ıslah, SSR, RAPD, UPGMA

Morphological and Molecular Characterization of Eggplant Pure Lines Obtained by Inbreeding

Abstract: In this study, morphological and molecular characterizations were done for a total of 100 eggplant inbred lines used in breeding programs at the Batı Akdeniz Agricultural Research Institute. The observations and measurements of 32 traits determined taking into account the criteria set by TTSM and UPOV for morphological characterization were done and consequently these genotypes were divided into 17 groups. A total of 28 bands were obtained from molecular characterization by using 5 RAPD and 2 SSR primers and 26 of these bands were determined to be polymorphic and 2 bands monomorphic, and the proportion of polymorphism to monomorphism was 92.8%. Genetic relationships among inbred lines were determined by using UPGMA grouping of similarity matrix obtained from statistical analysis of morphological and molecular features.

Key words: Eggplant, breeding, SSR, RAPD, UPGMA

Giriş

Patlıcan (*Solanum melongena* L.) 1000'den fazla türü içerisinde barındıran geniş genotipik ve fenotipik varyasyona sahip olan *Solanum* cinsi içerisinde yer almaktadır (Fukuoka ve ark., 2010). Küçük, yuvarlak, yeşil, kalın kabuklu, sert etli ve meyvelerinin tadı acı olan Afrika yabani türlerinden *Solanum incanum* L.'dan geliştiği düşünülmektedir (Barchi ve ark., 2010). Orijini ve gen merkezi olan

Hindistan'da M.Ö. 3. yüzyıldan beri bilindiği ve 1500 yıldan beri de Asya'da kültürünün yapıldığı sanılmaktadır (Kashyap ve ark., 2003). Hindistan'ın doğal bitkisi olan patlıcan tropik bölgelerde çok yıllık ve bu iklim kuşağının dışındaki bölgelerde ise tek yıllık olarak yetiştirilmektedir (Kalloo, 1993). Patlıcan sanıldığı gibi aksine vitamin ve mineral içeriği bakımından diğer sebzeler kadar değerlidir ve meyveleri güçlü bir

antioksidan kaynağıdır. Ayrıca mineraller, vitaminler ve bazı polifenoller bakımından da zengindir (Sudheesh ve ark., 1999; Nisha ve ark., 2009). Bu nedenle ülkemiz dahil pek çok ülkede büyük ekonomik değere sahiptir. 2013 yılı FAO verilerine göre; Dünya toplam patlıcan üretimi yaklaşık 49 milyon ton olmuş ve bu üretimin % 94'ü Asya'da, %3'ü Afrika'da ve yaklaşık %2'si Avrupa'da gerçekleşmiştir. Dünya'da en fazla patlıcan yetiştiriciliği yapılan ülke 28 milyon ton üretime sahip olan Çin'dir. Bunu 13 milyon ton ile Hindistan takip etmekte, ülkemiz ise yaklaşık 800 bin ton üretim ile beşinci sırada yer almaktadır (Anonim, 2015). Artan dünya nüfusuyla birlikte patlıcan üretimi de diğer sebzelerde olduğu gibi yıldan yıla artmaktadır. Üretimin büyük bölümünün gerçekleştiği Asya kıtası, tüketimde de büyük pay sahibidir. Dünya üzerinde patlıcan üretiminde ilk sırada bulunan ülkeler üretimlerinin neredeyse tamamını kendi iç pazarlarında tüketmektedirler. Ülkemizde de yapılan üretimin büyük kısmı iç piyasada tüketilmektedir. İç pazarda istikrarlı bir fiyat gösteren patlıcanın ihracat değeri de diğer sebzelerle göre daha yüksektir (Topçu ve Boyacı, 2008). Ülkemiz patlıcan yetiştiriciliği için elverişli bir ekolojiye sahiptir. Dünya'da ve ülkemizde ise yetiştiricilikte en önemli faktörlerin başında verim ve kalite gelmektedir. Bunun için ise yetiştirme tekniklerinin iyi uygulanması ve genetik olarak üstün niteliklere sahip çeşitlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu da ancak üstün niteliklere sahip olan genotiplerin melezlenmesiyle (hibrit çeşit) ile mümkün olup, bu durumda stabil ve sürekli olarak aynı kalite niteliklerine sahip üretim yapılma olanağı sağlamaktadır. Hibrit çeşitler üstün özellikler birarada toplanabilmekte, verimin artırılmasının yanında biyotik ve abiyotik stres faktörlerine dayanıklılık, meyve kalitesi ve benzeri olumlu özelliklerde birleştirilebilmektedir. Hibrit çeşit ıslahında ise ilk olarak çalışmanın yapılacağı gen havuzunun genetik çeşitliliğinin niteliklerinin belirlenmesi gerekmektedir. Son yıllara kadar ıslah çalışmalarında genetik çeşitliliğin tanımlanması sadece morfolojik nitelikler kullanılırken, günümüzde moleküler alanda yaşanan

gelişmeler ve bu alanda yapılan çalışmaların artması sayesinde genetik çeşitlilik tanımlamaları moleküler olarak da yapılmaya başlanmıştır. Bu çalışmada genetik çeşitliliği dar olan patlıcanda daha önce değişik kaynaklardan toplanmış hat olma niteliği kazanmış olan yaklaşık 100 adet patlıcan genotipinin moleküler ve morfolojik karakterizasyonu yapılarak genotiplerin birbirleriyle olan akrabalık ilişkileri belirlenmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Araştırma Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ne ait sera ve laboratuvarlarda yürütülmüştür. Bitkisel materyal olarak ülkemizin farklı bölgelerinden Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Araştırmacıları tarafından toplanan bitkisel materyalin kendilenmesiyle elde edilen saflaştırılmış ıslah hatları (100 adet) kullanılmıştır. Moleküler çalışmalarda ise 5 adet RAPD (Random Amplified Polymorphic DNAs) primeri; OPO10, OPL04, OPH02, OPB07, OPL16 ve 3 adet SSR (Simple Sequence Repaeats) primeri; EMH11O01, EMB01H20 ve EMF21C11 kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan 100 adet patlıcan saf hattına ait tohumlar steril torf ile doldurulmuş plastik çimlendirme kaplarına ekilip, çimlendirilmiştir. Fideler 3-4 gerçek yapraklı duruma gelince 100x50x60 cm aralık ve mesafe ile çift sıralı ve her hattan 20 adet bitki olacak şekilde seraya dikimleri yapılmıştır. Yetiştirme periyodu boyunca gerekli bakım işleri ve hastalık, zararlılarla ilaçlı mücadele yapılmıştır.

Morfolojik karakterizasyon

Hatların karakterizasyonu için; UPOV (Uluslararası Yeni Bitki Çeşitlerini Koruma Birliği) kurallarınca belirlenmiş olan ve T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'na 2007 yılında yürürlüğe giren "Bitki Özellikleri Hakkındaki Tebliği", International Board for Plant Genetic Resources (IPGRI), Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Merkezi Müdürlüğü (TTSM)'nce yayınlanmış "Tarımsal Değerleri Ölçme Denemeleri Teknik Talimatı"nda belirtilen kriterler

doğrultusunda belirlenen 32 adet morfolojik karakter dikkate alınmıştır.

Morfolojik karakterizasyon verilerinin analizi ve dendrogramların

değerlendirilmesinde aşağıda belirlenen kriterler kullanılmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Morfolojik karakterizasyonda kullanılan parametreler

Table 1. The parameters used in the morphological characterization

N o	Parametreler	Bitkideki durum
1	Bitki Habitusu/ <i>Plant canopy</i>	(1)açık/ <i>sparse</i> ; (3)kapalı/ <i>dense</i> ; (5)yarı açık/ <i>intermediate sparse</i>
2	Bitki Boyu/ <i>Plant height</i>	(1)uzun/ <i>erect</i> ; (3)orta/ <i>prostrate</i> ; (5)kısa/ <i>compact</i>
3	Gövde Kalınlığı/ <i>Stem diameter</i>	(1)kalın/ <i>thick</i> ; (3)orta/ <i>middle thick</i> ; (5)ince/ <i>thin</i>
4	Gövde Tüylülüğü/ <i>Stem pubescence</i>	(1)çok/ <i>dense</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)az/ <i>sparse</i>
5	Gövde Rengi/ <i>Stem color</i>	(1)grimsi/ <i>grayish</i> ; (3)yeşil/ <i>green</i> ; (5)yeşil mor/ <i>green purple</i> ; (7)grimsi yeşil/ <i>grayish green</i>
6	Sürgün Ucu Rengi/ <i>Shoot tip colour</i>	(1)grimsi/ <i>grayish</i> ; (3)yeşil/ <i>green</i> ; (5)yeşil mor/ <i>green purple</i> ; (7)grimsi yeşil/ <i>grayish green</i>
7	Boğum Arası Uzunluğu/ <i>Node distance</i>	(1)uzun/ <i>long</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)kısa/ <i>short</i>
8	Yaprak Rengi/ <i>Leaf colour</i>	(1)açık yeşil/ <i>light green</i> ; (3)yeşil/ <i>green</i> ; (5)koyu yeşil/ <i>dark green</i>
9	Yaprak İriliği/ <i>Leaf size</i>	(1)iri/ <i>big</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)küçük/ <i>small</i>
10	Yaprak Tüylülüğü/ <i>Leaf pubescence</i>	(1)çok/ <i>dense</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)az/ <i>sparse</i>
11	Yaprak Sapı Dikenliliği/ <i>Leaf stem thorny</i>	(1)çok/ <i>dense</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)az/ <i>sparse</i> ; (7)yok/ <i>absent</i>
12	Tomurcuk İriliği/ <i>Bud size</i>	(1)iri/ <i>big</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)küçük/ <i>small</i>
13	Tomurcuk Tüylülüğü/ <i>Bud pubescence</i>	(1)çok/ <i>dense</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)az/ <i>sparse</i>
14	Tomurcuk Dikenliliği/ <i>Bud thorny</i>	(1)çok/ <i>dense</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)az/ <i>sparse</i> ; (7)yok/ <i>absent</i>
15	Çiçek Rengi/ <i>Flower colour</i>	(1)açık mor/ <i>light purple</i> ; (3)mor/ <i>purple</i> ; (5)koyu mor/ <i>dark purple</i>
16	Çiçek İriliği/ <i>Flower size</i>	(1)iri/ <i>big</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)küçük/ <i>small</i>
17	Çanak İriliği/ <i>Calyx size</i>	(1)iri/ <i>big</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)küçük/ <i>small</i>
18	Meyve Şekli/ <i>Fruit shape</i>	(1)uzun/ <i>elongate</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)kısa/ <i>oval</i> ; (7)oval/elliptical; (9)armudi/ <i>pearly</i> ; (11)yuvarlak/ <i>round</i> ; (1) pembe/ <i>pink</i> ; (3)açık mor/ <i>light purple</i> ; (5)mor/ <i>purple</i> ; (7)siyah/ <i>black</i> ; (9)çizgili/ <i>striped</i> ; (11)yeşil/ <i>green</i> ; (13)beyaz/ <i>white</i> ;
19	Meyve Rengi/ <i>Fruit colour</i>	(1)uzun/ <i>long</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)kısa/ <i>short</i>
20	Meyve Sapı Uzunluğu/ <i>Fruit pedicel</i>	(1)az/ <i>sparse</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)çok/ <i>dense</i> ; (7)yok/ <i>absent</i>
21	Meyve Sapı Dikenliliği/ <i>Fruit pedicel horny</i>	(1)parlak/ <i>bright</i> ; (3)mat/ <i>matt</i>
22	Meyve Parlaklığı/ <i>Fruit brightness</i>	(1)küt/ <i>blunt</i> ; (3)sivri/ <i>pointed</i> ; (5)yuvarlak/ <i>round</i>
23	Meyve Ucu Şekli/ <i>Fruit shape at blossom end</i>	(1)büyük/ <i>big</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)küçük/ <i>small</i>
24	Meyve Ucu Dügme İriliği/ <i>Fruit tip button size</i>	(1)2.6-6.3; (3)6.3-10; (5)10-13.7; (7)13.7-17.4; (9)17.4-21.1
25	Meyve Uzunluğu (cm)/ <i>Fruit length(cm)</i>	(1)37.3-50.8; (3)50.8-64.3; (5)64.3-77.8; (7)77.8-91.3; (9)91.3-104.9
26	Meyve Çapı (mm)/ <i>Fruit diameter(mm)</i>	(1)30-130; (3)130-230; (5)230-330; (7)330-430
27	Ort. Meyve Ağırlığı (g)/ <i>mean fruit weight(g)</i>	(1)var/available; (3)yok/ <i>absent</i>
28	Meyvede Damarlılık/ <i>Fruit string</i>	(1)var/available; (3)yok/ <i>absent</i>
29	Partenokarpiye Eğilimi/ <i>Trends parthenocarpic</i>	(1)yeşilimsi/ <i>grayish</i> ; (3)yeşilimsi krem/ <i>grayish cream</i> ; (5)beyaz/ <i>white</i> ; (7)beyaz krem/ <i>white cream</i> ; (9)yeşil beyaz/ <i>grayish white</i> ; (11)krem/ <i>cream</i>
30	Meyve Eti Rengi/ <i>Fruit pulp colour</i>	(1)çok/ <i>dense</i> ; (3)orta/ <i>intermediate</i> ; (5)az/ <i>sparse</i>
31	Meyvede Tohum Miktarı/ <i>Number of seeds per fruit</i>	(1) var/available; (3)yok/ <i>absent</i>
32	Meyvede Eğrilik/ <i>Fruit curves</i>	

Moleküler karakterizasyon

Çalışmada PCR esaslı RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) ve SSR (Basit Dizi Tekrarlaması) markör analiz yöntemi kullanılmıştır. Genotiplere ait bitkilerin sürgün uçlarından yaprak örnekleri alınarak alüminyum folyoya sarılıp soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılmış ve -85 oC'de muhafaza edilmiştir. DNA izolasyonu Aldrich ve Cullis (1993)'e göre CTAB yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

RAPD yöntemi ve kullanılan primerler; Poliformik oldukları daha önce yapılan çalışmalarda belirlenen 5 adet RAPD (Random Amplified Polymorphic DNAs) primeri (OPO10, OPL04, OPH02, OPB07, OPL16) kullanılmıştır (Çizelge 2).

Çizelge 2. RAPD yönteminde kullanılan primerler

Table 2. The primers used in the RAPD method

Primer	Baz Dizini (5'-3')
OPO10	TCAGAGCGCC
OPL04	GACTGCACAC
OPH02	TCGGACGTGA
OPB07	GGTGACGCAG
OPL16	AGGTTGCAGG

DNA amplifikasyonu (PCR); PCR (Thermo Scientific Arktik Thermal Cycler) reaksiyonunda primer bağlanma noktaları arasındaki küçük DNA parçacıklarının milyonlarca kez çoğaltılması sağlanmaktadır. 25 µl son hacimli reaksiyonda hedef genomik DNA (20 ng) protokol esaslarına göre RAPD primerleri ve

reaksiyon bileşenleri ile karıştırılarak termalcycler içerisinde reaksiyona sokulmuştur.

SSR yöntemi ve kullanılan primerler; Poliformik oldukları daha önce yapılan çalışmalarda belirlenen 3 adet SSR (Simple Sequence Repaeats) primeri; EMH11O01, EMB01H20, EMF21C11 kullanılmıştır. Kullanılan primerlere ait detaylar Çizelge 3 ve Çizelge 4’de verilmiştir.

DNA amplifikasyonu (PCR); Yaklaşık 25 µl son hacimli reaksiyonda hedef genomik DNA (15 ng) protokol esaslarına göre SSR primerleri ve reaksiyon bileşenleri ile karıştırılarak termalcycler içerisinde reaksiyona sokulmuştur.

DNA görüntüleme; RAPD ve SSR PCR ürünleri, moleküler ağırlıklarına göre ayrılmanması için etidyum bromide ile boyanmış % 1,3 agaroz jelde 75 V’da 45 dakika elektroforez cihazında (Thermo scientific EC 300 xL2) yürütülmüştür ve elde edilen bantlar E BOX Vx-2/20 Mx Vilber Lourmet marka görüntüleme cihazı ile UV altında görüntülenmiştir. Primerlerin dayanıklı ve duyarlı DNA kümesinde (bulk)

oluşturduğu değişik parmakizleri, bant varlığı (1) veya yokluğu (0) şeklinde belirlenmiştir (Staub ve ark., 1997; Garcia ve ark., 1998; Stepansky ve ark., 1999; Garcia-Mas ve ark., 2000; Staub ve ark., 2000; Tümbilen ve ark., 2011).

DNA Sentezlenmesi: Başlangıç DNA denatürasyonu 94 °C’de 5 dakika, Primer bağlanması ve polimerizasyon: 94 °C’ de 30 saniye, 35 °C’ de 1 dakika ve 72 °C’ de 45 saniye olmak üzere toplam 35 döngü, Son çoğaltma evresi: 72 °C’ de 8 dakika olacak şekilde ayarlanmıştır.

Verilerin analizi ve hatların akrabalık derecelerinin belirlenmesi

Morfolojik ve moleküler karakterizasyon sonucunda elde edilen verilerin analizi için NTSYS (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System) 2.1 bilgisayar paket programı kullanılmış, Rohlf (1998), metoduna göre elde edilen benzerlik matrisinin UPGMA (Unweigted Pair Group Method Arithmetic Average) gruplandırması ile genetik ilişkinin seviyesi belirlenmiştir.

Çizelge 3. SSR yönteminde kullanılan forward primerleri

Table 3. The forward primers used in the SSR method

Primer	Forward Primers
EMH11O01	ATTGTGTCGATGAGATTTTGGTCA
EMB01H20	TCTTGTTCCCAGTCTATCGCTAATCA
EMF21C11	AGGTTGGAGCCATGATTACTTGAA
EMH11O01	ATTGTGTCGATGAGATTTTGGTCA
EMB01H20	TCTTGTTCCCAGTCTATCGCTAATCA

Çizelge 4. SSR yönteminde kullanılan reverse primerleri

Table 4. The reverse primers used in the SSR method

Primer	Forward Primers
EMH11O01	GTTTAGCTACGTTGGTTTGGTGCTGA
EMB01H20	ATCCGAATTTAGTCGGGCTTCAAT
EMF21C11	GTTTGCTACCTATCAAACAGGCGGAA

Bulgular

Bitkisel özelliklere ait bulgular

Bitki habitus bakımından 3 hat açık, 12 hat kapalı ve 85 hat ise yarı açık olarak gözlemlenmiştir. Hatlardan 16 adedi uzun, 64 adedi orta, 20 adedi ise kısa bitki boyuna sahiptir. Gövde kalınlığı olarak 70 hat orta gövde kalınlığına sahip iken 12 hat kalın 18 hat ise ince olarak gözlenmiştir. Gövde

tüylülüğü bakımından 47 hat az 29 hat orta ve 24 hat ise çok tüylü gövde yapısına sahiptir. 72 hat yeşil, 10 hat yeşil mor, 15 hat grimsi yeşil, 2 hat grimsi yeşil ve 1 hattın grimsi gövde renginde olduğu gözlemlenmiştir. Sürgün ucu rengi bakımından 1 hat grimsi, 25 hat yeşil 35 hat yeşil mor, 21 hat grimsi yeşil mor, 17 hat

grimsi yeşil ve 1 hat grimsi mor renktedir. 73 hat orta, 2 hat uzun ve 25 hattın kısa internod uzunluğuna sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Çiçek ve yaprak yapısı ile ilgili gözlem bulguları

Hatların çiçek ve yaprak gözlemleri sonuçlarına göre; 53 hat mor, 34 hat koyu mor, 13 hat açık mor çiçek rengine sahiptir. Çiçek iriliği bakımından 87 hat orta, 8 hat iri, 5 hat ise küçük olarak gözlenmiştir. Çanak iriliğinde ise 8 hat iri, 91 hat orta iri, 1 hat küçük olarak tespit edilmiştir. Tomurcuk iriliği bakımından 6 hat iri tomurcuğa sahip iken 11 hat küçük ve 83 hat orta tomurcuk iriliğine sahip olduğu gözlenmiştir. 68 hat orta tomurcuk tüylülüğüne sahip iken, 12 hat çok tüylü ve 20 hat az tüylü olarak belirlenmiştir. Tomurcuk dikenliliği bakımından 9 hat çok dikenli, 35 hat orta dikenli, 40 hat az dikenli olarak gözlenmiş, 16 hatta diken görülmemiştir. Yaprak rengi bakımından ise 73 hat yeşil yaprak rengine sahipken 13 hat açık yeşil yaprak renginde, 14 hattın ise

koyu yeşil renkte olduğu gözlenmiştir. 22 hat iri yaprağa sahipken 74 hat orta irilikte, 4 hattın ise küçük yapraklı olduğu tespit edilmiştir. Yaprak tüylülüğü bakımından 45 hat orta tüylü, 1 hat çok tüylü ve 54 hat az tüylü olarak gözlemlenmiştir. Yaprak sapındaki diken miktarlarında ise 1 hattın orta dikenli, 7 hattın az dikenli, 92 hattın dikensiz olduğu ve çok dikenli yaprak sapına sahip hattın bulunmadığı belirlenmiştir.

Meyve yapısı ile ilgili gözlem ve ölçüm bulguları

Yapılan gözlemler sonucunda 6 adet meyve şekli, 8 adet meyve rengi tespit edilmiştir. 32 hat uzun meyve şekline, 31 hat orta, 15 hat kısa, 4 hat oval, 8 hat armudi ve 10 hat ise yuvarlak meyve şekline sahip olduğu gözlemlenmiştir. Meyve rengine bakılarak yapılan gözlem sonucunda 2 hat pembe, 9 hat açık mor 56 hat mor, 27 hat siyah, 2 hat çizgili pembe, 1 hat yeşil, 2 hat beyaz ve 1 hat yeşil mor olduğu tespit edilmiştir. Farklı meyve tipindeki bazı hatlara ait resimler Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Bazı patlıcan hatlarına ait meyve resimleri

Figure 1. Some lines of eggplant fruit pictures

Meyve sap uzunluğu ve dikenliliği bakımından 16 hattın uzun meyve sapına, 64 hattın orta meyve sapına, 20 hattın kısa meyve sapına sahip olduğu ve 43 hattın meyve sapında az diken bulunduğu, 43 hattın orta derecede dikenli olduğu, 7 hattın meyve sapının çok dikenli olduğu, 7 hattın meyve sapında ise hiç diken bulunmadığı gözlenmiştir. Meyve parlaklığı bakımından 80 hattın parlak, 20 hattın ise mat olduğu

tespit edilmiştir. Meyve ucu şekline göre 38 hattın meyve ucunun küt olduğu, 24 hattın meyve ucunun sivri olduğu, 38 hattın meyve ucunun ise yuvarlak olduğu gözlemlenmiştir. Meyve ucundaki düğme iriliğine göre ise 33 hatta bu kısmın büyük olduğu, 39 hatta orta ve 28 hatta küçük olduğu görülmüştür. 20 hatta meyvede damarlılık var iken 80 hatta tespit edilmemiştir. 3 hatta partenokarpiye eğilim

görüldürken 97 hatta partenokarpiye eğilim görülmemiştir. Meyve et rengi bakımından yapılan gözlem sonucunda 18 hat yeşilimsi meyve et rengine, 49 hat yeşilimsi krem, 3 hat beyaz, 14 hat beyaz krem, 3 hat yeşilimsi krem, 13 hat ise krem meyve et rengine sahip olduğu belirlenmiştir. Meyveler kesilerek tohum taslağı içerip içermediği incelenmiş ve 36 hatta çok, 55 hatta orta, 9 hatta ise az olarak gözlenmiştir. 47 hattın meyvesinin eğri olduğu, 53 hattın meyvesinin ise düzgün olduğu gözlemlenmiştir. Hasat olgunluğundaki 10 meyvede meyvenin ucu ile çanağın üst kısmı arasında kalan bölüm dijital kumpasla ölçülmüş ve ortalama meyve uzunluğu cm cinsinden saptanmıştır. Buna göre meyve uzunlukları incelendiğinde 3 hattın meyvesinin 6.3 cm'den kısa olduğu, 6.3-10 cm meyve uzunluğuna sahip 10 hattın bulunduğu, 10 cm - 13.7 cm uzunluğunda 30 hattın, 13.7 cm - 17.4 cm uzunluğunda 38 hattın ve 17.4 cm'den daha uzun meyveye sahip 19 hattın bulunduğu tespit edilmiştir. 10 meyvede en geniş bölge dijital kumpasla ölçülmüş ve ortalama meyve çapı mm cinsinden saptanmış ve yapılan ölçümler sonucunda 33 hattın meyve çapının 37.3 mm - 50.8 mm arasında olduğu, 42 hattın meyve çapının 50.8 mm - 64.3 mm arasında olduğu, 64.3 mm - 77.8 mm aralığında meyve çapına sahip 13 adet hattın bulunduğu, 8 hattın 77.8 mm - 91.3 mm çapında olduğu ve 4 adet hattın meyve çapının 91.3 mm'den büyük olduğu tespit edilmiştir. Parselden alınan 10 meyvenin ağırlıkları alınmış, ortalama meyve ağırlığı kg cinsinden hesaplanmıştır. Bu hesaplama sonucunda ortalama meyve ağırlığı 0.13 kg'dan az olan 7 hat, 0.13 kg - 0.23 kg meyve ağırlığına sahip 73 hattın bulunduğu, 17 hattın 0.23 kg - 0.33 kg arasında olduğu ve ortalama meyve ağırlığı 0.33 kg'dan fazla olan 3 hattın olduğu belirlenmiştir.

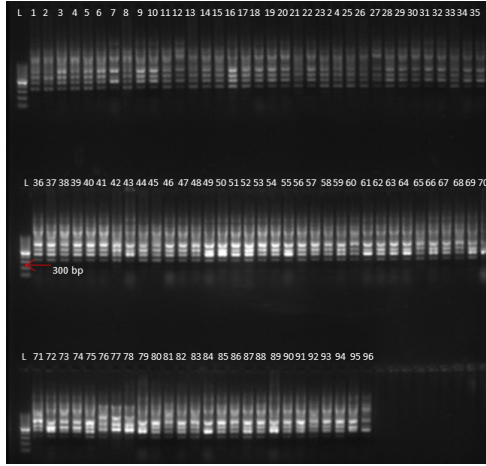
Çalışmada 5 adet RAPD primeri ve 3 adet SSR primeri kullanılmıştır. Kullanılan 5 adet RAPD primerinden 20 adedinin polimorfik, 2 adedinin ise monomorfik olduğu tespit edilmiş ve bu bantların

büyükliklerinin 300-1400 bp arasında olduğu belirlenmiştir. Kullanılan 3 adet SSR primerleri ile yapılan analiz sonucunda ise 6 polimorfik bant elde edilmiş ve bant büyükliklerinin ise 100-600 bp arasında olduğu tespit edilmiştir. OPB07 primerinden toplam 4 bant edilmiş ve bu bantların 2 adedinin polimorfik, 2 adedinin ise monomorfik olduğu belirlenmiştir (Şekil 2). OPO10 primerinden toplam 6 bant edilmiş ve bu bantların tamamının polimorfik olduğu belirlenmiştir (Şekil 3).

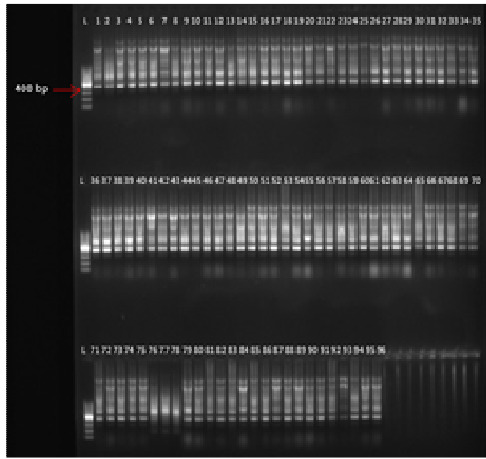
OPH02 primerinden toplam 5 bant elde edilmiş ve bu bantların tamamının polimorfik olduğu belirlenmiştir. OPL04 primerinden toplam 4 bant elde edilmiş ve bu bantların tamamının polimorfik olduğu saptanmıştır. OPL16 primerinden toplam 3 bant edilmiş ve bu bantların tamamının polimorfik olduğu belirlenmiştir. EMH11O01, EMB01H20 ve EMF21C11 primerinden 2'şer adet bant edilmiş ve bu bantların polimorfik olduğu belirlenmiştir.

Moleküler karakterizasyon verilerinin analizi

Analizler sonucunda elde edilen jel resimleri değerlendirilip bant varlığı durumunda (1), bant yokluğunda (0) ve amplifikasyonun olmadığı durumda ise (9) değeri verilerek oluşturulan tablo, NTSYS bilgisayar paket programı kullanılarak benzerlik matrisi oluşturulmuş ve bu matrisden de bir dendrogram oluşturulmuştur (Şekil verilmemiştir). Oluşturulan bu dendrogram sonucunda birbirine en yakın genotipler ise 5 ve 45, 4 ve 6, 20 ve 40, 38 ve 41, 17 ve 18, 30 ve 51, 46 ve 48, 22 ve 50, 96 ve 54, 97 ve 100 nolu hatlar olarak belirlenmiştir. Yürütmüş olduğumuz çalışmada, 5 RAPD primerinden toplam 22 bant elde edilmiş ve bu bantların 20 adedi polimorfik olarak bulunmuştur. Polimorfizm oranı ise % 90 olarak belirlenmiştir. Kullanılan 3 SSR primerinden 6 adet bant elde edilmiş ve bu bantların hepsi poliformik olarak bulunmuştur. Poliformizm oranı ise % 100 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 2. OPB07 primerine ait jel görüntüsü
Figure 2. The primer gel image belonging to OPB07

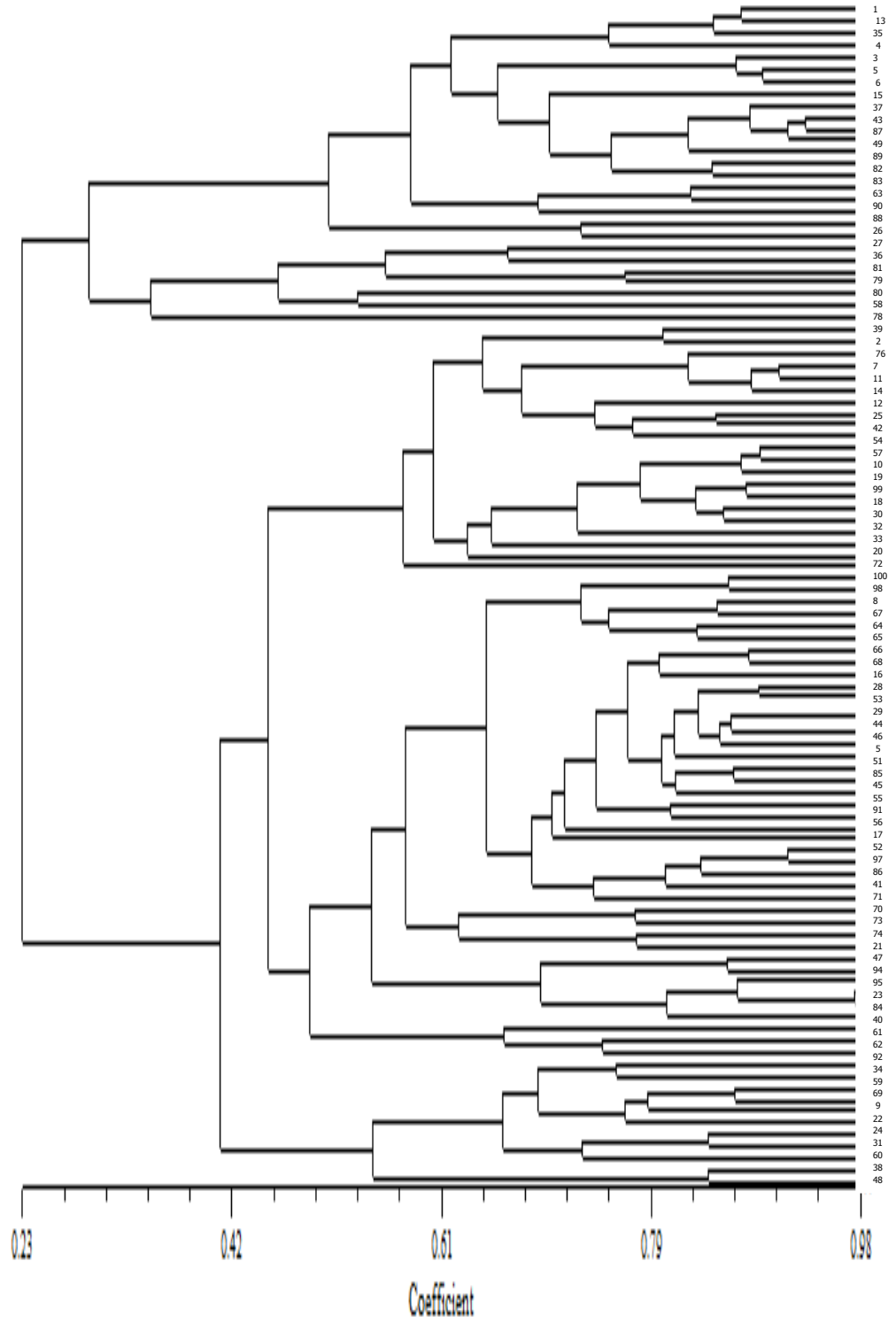


Şekil 3. OPO10 primerine ait jel görüntüsü
Figure 3. The primer gel image belonging to OPO10

Tartışma ve Sonuç

Hatların morfolojik karakterizasyonu için materyal ve metod kısmında belirtilen 32 adet özelliğin verileri alınmış, NTSYS bilgisayar paket programı kullanılarak dendrogram oluşturulmuştur, elde edilen dendrogramın katsayı ortalaması (benzerlik ortalaması) 0.61 olarak bulunmuş ve bu ortalama göre 17 grup meydana gelmiştir (Şekil 4). Oluşan bu gruplar incelendiğinde meyve parlaklığı, meyve şekli ve meyve rengi bakımından birbirine benzeyen hatların aynı grup içerisinde yer aldığı görülmüştür. Genel olarak hatların 2 ana

gruba ayrıldıkları ve bu grupların kendi arasında alt gruplara ayrıldığı görülmektedir, oluşan bu 2 ana grubun birincisini armudi ve yuvarlak meyve şekline sahip patlıcan hatları oluşturmuştur diğer grubu ise yarı uzun ve uzun meyve şekline sahip hatlar oluşturmaktadır. Buna göre armudi ve yuvarlak meyve şekline sahip olan 1, 13, 35, 4, 3, 5, 6, 15, 37, 43, 87, 49, 89, 82, 83, 63, 90, 88, 26, 27, 36, 81, 79, 80, 58, 78, 39 numaralı hatların 1. grupta olduğu, uzun ve yarı uzun meyve şekline sahip olan 2, 76, 7, 11, 14, 12, 25, 42, 54, 57, 10, 19, 99, 18, 30, 32, 33, 20, 72, 100, 98, 8, 67, 64, 65, 66, 68, 16, 28, 53, 29, 44, 46, 50, 51, 85, 45, 55, 91, 56, 17, 52, 97, 86, 41, 71, 70, 73, 74, 21, 47, 94, 95, 23, 84, 40, 61, 62, 92, 34, 59, 69, 9, 22, 24, 31, 60, 38, 48, 93, 96, 75, 77 numaralı hatların ise 2. grupta yer aldığı belirlenmiş ve birbirine en yakın genotiplerin 46 ve 50, 61 ve 62, 43 ve 87, 11 ve 14, 41 ve 71, 5 ve 6, 10 ve 19, 29 ve 44 numaralı hatlar olduğu tespit edilmiştir. Patlıcanda morfolojik karakterizasyon konusunda yaptığımız bu çalışmada, ıslah hatlarının benzerliklerinin belirlenmesinde en önemli özelliğin meyve şekli olduğu görülmüştür. Hatların moleküler karakterizasyonu için yapmış olduğumuz çalışmada ise; OPB07, OPH10, OPH19, OPH20 ve OPH03 RAPD primerleri kullanılmıştır, bu 5 RAPD primerinden toplam 22 bant elde edilmiş ve bu bantların 20 adedi polimorfik olarak bulunmuştur. Polimorfizm oranı ise % 90 olarak belirlenmiştir. Yüksek polimorfizm oranı elde etmemizin nedeni daha önce yapılan çalışmalarda polimorfizm oranı yüksek olarak belirlenen primerlerin seçilmesi olduğu düşünülmektedir. Demir vd. (2010), yaptıkları çalışmada OPB07 primerin %64 oran ile en polimorfik bant veren primer olduğunu, OPH10, OPH19, OPH20 ve OPH03 primerlerinin ise %50 oranında polimorfizm gösteren bant verdiğini belirlemişlerdir. SSR çalışmalarında; EMH11O01, EMB01H20 ve EMF21C11 SSR primerleri kullanılmış ve her primerden 2 adet olmak üzere toplamda 6 adet bant elde edilmiştir.



Şekil 4. Morfolojik karakterizasyon verilerine göre genotipler arasındaki akrabalık ilişkisi
 Figure 4. Relationship between the genotypes according to the morphological characterization data

Elde edilen bu bantların hepsi polimorfik olarak belirlenmiştir. Demir vd. (2010), yaptıkları çalışmada ise; 5 SSR lokusunun çoğaltılmasına göre 19 patlıcan genotipinde primer başına allel sayısını 2 ile 10 arasında ve toplam allel sayısını 24 olarak bulmuştur. Allel sayılarını emf21H22, emh11O01, emb01H20, emf21C11 primerlerinde sırasıyla 10, 5, 3, 4 olarak belirlemiştir. Lokus başına allel gen sayısının ortalamasını 4.8 olarak belirlemişlerdir. Analizler sonucunda elde edilen jel resimleri değerlendirilip elde edilen verilerle NTSYS bilgisayar paket programı kullanılarak dendrogram oluşturulmuştur, elde edilen dendrogramın benzerlik ortalaması 0.78 olarak bulunmuş ve bu ortalama göre 15 grup meydana gelmiştir. Oluşturulan dendrogram sonucunda birbirine en yakın genotipler: 5 ve 45, 4 ve 6, 20 ve 40, 38 ve 41, 17 ve 18, 30 ve 51, 46 ve 48, 22 ve 50, 96 ve 54, 97 ve 100 nolu hatlar olarak belirlenmiştir. Morfolojik karakterizasyon sonucunda oluşturulan dendrogramda görülen meyve şekline göre benzerlik grupları moleküler karakterizasyon sonucu oluşturulan dendrogramda görülmemiştir. Morfolojik karakterizasyon sonucu oluşturulan dendrogram incelendiğinde 46 ve 50 nolu hatların morfolojik olarak %98 benzer oldukları, ancak moleküler olarak 46 nolu hattın 48 nolu hat ile %96 oranında benzeştiği, 61 ve 62 nolu hatların morfolojik olarak %97 benzer oldukları ancak moleküler olarak 61 ve 62 nolu hattın %89 oranında benzeştiği tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan SSR ve RAPD moleküler markörlerin materyallerin UPGMA ile gruplandırma çok da başarılı olmadığı, morfolojik gözlemler kriterleri ile elde edilen gruplandırmanın ayırtmada daha başarılı olduğu tespit edilmiştir. Bunun sebebi olarak materyallerin aynı tür içerisinde yer alması düşünülmektedir. Moleküler markörlerin oluşturduğu polimorfik bantlar kullanılarak genetik çeşitliliğin belirlenmesi çalışmalarında farklı türlerin yer aldığı materyallerle yapılan gruplandırmanın daha güvenilir olduğu yapılan çalışmalarda görülmüştür. Meyer vd. (2012), yaptığı çalışmada 23 farklı patlıcan türüne ait 94 patlıcan genotipinin akrabalık derecelerini belirlemiş ve türler arasındaki

genetik çeşitliliği yapılan gruplama ile ortaya koymuştur. Isshiki vd. (2008), yaptığı çalışmada 12 adedi farklı patlıcan türlerinden 8 adedi ise ticari patlıcan çeşitlerinden oluşan toplam 20 patlıcan genotipinin akrabalık derecelerini belirlemiş ve ticari patlıcan çeşitlerinin aynı grup içerisinde yer aldığını ve diğer türlerin ise ayrı grup oluşturduğunu belirlemiştir. Oluşturulan dendrogramlar sonucunda belirli gruplarda yer alan bireylerin kendi içlerinde, incelenen karakter açısından daha yüksek benzerlik oranına sahip olduğu ve bu nedenle akrabalık ilişkilerinin daha yüksek olduğu söylenebilir. Benzerlik oranları morfolojik karakterizasyonda; 0.23 ile 0.98 arasında, moleküler karakterizasyonda ise 0.56 ile 1.00 arasında dağılım göstermiştir. Morfolojik karakterizasyondan elde edilen verilerle belirlenen hatların akrabalık derecelerinin moleküler karakterizasyondan elde edilen akrabalık derecelerinden daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Bunun sebebinin moleküler karakterizasyonda kullanılan primerlerin yetersizliğinden ve kullanılan primer sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bundan sonra yapılacak moleküler karakterizasyon çalışmalarında daha çok sayıda polimorfik bant verebilecek daha fazla sayıda primerle çalışılmasının daha iyi sonuçlar verebileceği düşünülmektedir. Ayrıca kullanılan SSR primerlerinin verdiği bant uzunluklarının birbirine çok yakın değerlerde olmasından dolayı bantların çıplak gözle birbirinden ayırt edilebilmeleri çok zor olmakta ve birbirine çok yakın uzunluk değerlerinde olan bantların tek bir bantmış gibi görünmesine yol açmaktadır. Bu çalışma ile hibrit çeşit geliştirmek üzere oluşturulan gen havuzundaki hatların morfolojik ve moleküler yaklaşımlarla genetik çeşitliliği ve akrabalık ilişkileri ortaya konularak hatların akrabalık derecelerini gösteren gruplar belirlenmiştir. Hatların akrabalık derecelerinin belirlenmesi için yapılan karakterizasyon sonucunda 1 ve 13 nolu hattın, 75 ve 77 nolu hat ile hem morfolojik hemde moleküler olarak en uzak akrabalık derecesine sahip olduğu belirlenmiştir. Araştırma sonucunda kullanılan patlıcan gen havuzunun büyük bir genetik çeşitlilik barındırdığı yapılan bu çalışmayla ortaya

konmuş ve heterosis gösterebilecek hibrit kombinasyonlarının oluşturulabileceği belirlenmiştir. Ayrıca genotipler arasındaki akrabalık ilişkilerinde sadece moleküler testlemelerin yalnız başına yetersiz olabileceği buna ek olarak moleküler verilerin morfolojik gözlemler ile desteklenmesi gerektiği belirlenmiştir.

Açıklamalar

Bu araştırma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından SDÜ BAP 3512-YL-13'nolu yüksek lisans projesi kapsamında desteklenmiştir. Makale Volkan Topçu'un Yüksek Lisans Tezi sonuçlarından üretilmiştir.

Kaynaklar

- Aldrich, J., Cullis, C. A., 1993. RAPD analysis in flax: Optimization of yield and reproducibility using KlenTaq 1 DNA polymerase, chelex 100 and gel purification of genomic DNA. *Plant Molecular Biology Reporter*, 11(2): 128-141.
- Anonim, 2015. FAO Statistical Database. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. (Erişim Tarihi: 22.12.2015).
- Barchi, L., Lanteri, S., Portis, E., Stägel, A., Valè, G., Toppino, L., Rotino, G., L., 2010. Segregation Distortion and Linkage Analysis in Eggplant (*Solanum melongena* L.). *Genome*, 53: 805-815.
- Demir, K., Bakır, M., Sarıkamış, G., Acunalp, S., 2010. Genetic Diversity of Eggplant (*Solanum melongena*) Germplasm from Turkey Assessed by SSR and RAPD Markers. *Genetics and Molecular Research*, 9 (3): 1568 - 1576.
- Fukuoka, H., Yamaguchi, H., Nunome, T., Negoro, S., Miyatake, K., Ohyama, A., 2010. Accumulation, Functional Annotation, and Comparative Analysis of Expressed Sequence Tags in Eggplant (*Solanum melongena* L.), the Third Pole of the Genus *Solanum* Species After Tomato and Potato. *Gene*, 450(1-2): 76-84.
- Garcia, E., Jamilena, M., Alvarez, J.I., Arnedo, T., Oliver, J.L., Lozano, R., 1998. Genetic Relationships among Melon Breeding Lines Revealed by RAPD Markers and Agronomic Traits. *Theoretical and Applied Genetics*, 96: 878-885.
- Garcia-Mas, J., Oliver, M., Gomez-Paniagua, H., Vicente, M.C., 2000. Comparing AFLP, RAPD and RFLP markers for measuring genetic diversity in melon. *Theoretical and Applied Genetics*, 101: 860-864.
- Isshiki, S., Iwata, N., Khan, M M R., 2008. ISSR variations in eggplant (*Solanum melongena* L.) and related *Solanum* species. *Scientia Horticulturae*, 117: 186-190.
- Kaloo, G., 1993. Genetic Improvement of Vegetable Crops (Edited by: G. Kaloo and B. O. Bergh), Printed in Great Britain by BPCC wheatons Ltd, Exeter, ISBN 00 08 040826, 5: 587-604.
- Kashyap, V., Kumar, S. V., Collonnier, C., Fusari, F., Haicour, R., Rotino, G. L., Sihachakr, D., Rajam, R. M., 2003. Review Biotechnology of Eggplant, *Scientia Horticulturae*, 1-25.
- Meyer, S, R., Karol, K. G., Little D. P., Nee M. H., Litt, A., 2012. Phylogeographic relationships among Asian eggplants and new perspectives on eggplant domestication. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63: 685-701.
- Nisha, P., Nazar, P. A., Jayamurthy, P., 2009. A comparative study on antioxidant activities of different varieties of *Solanum melongena*. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2640-2644.
- Rohlf, F. J., 1998. NTSYS-PC Numerical Taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.00. Exeter software, Setauket, New York.
- Staub, J.E., Box, J., Meglic, V., Horejsi, T., Creight, J.D., 1997. Comparison of Isozyme and Random Amplified Polymorphic DNA Data for Determining Intraspecific Variation in Cucumis. *Genetic Resources and Crop Evaluation*, 44: 257-269.

- Staub, J.E., Danin-Poleg, Y., Fazio, G., Horeisi, T., Reis, N., Katzir, N., 2000. Comparative Analysis of Cultivated Melon Groups (*Cucumis melo* L.) Using Random Amplified Polymorphic DNA and Simple Sequence Repeat Markers. *Euphytica*, 115: 225-241.
- Stepansky, A., Kovalski, I., Perl-Treves, R. 1999. Intraspecific classification of melons (*Cucumis melo* L.) in view of their phenotypic and molecular variation. *Plant Systematics and Evolution*, 217: 313-332.
- Sudheesh, S., Sandhya, C., Koshy, A. S., Vijayalakshmi, N. R., 1999. Antioxidant activity of flavonoids from *Solanum melongena*. *Phytotherapy Research*, 13: 393-396.
- Tümbilen, Y., Frary, A., Daunay, M. C., Doğanlar, S., 2011. Application of EST-SSRs to examine genetic diversity in eggplant and its close relatives. *Turkish Journal of Biology*, 35: 125-136.
- Topçu, V., Boyacı, H. F., 2008. Patlıcan Yetiştiriciliğinin Dünya ve Türkiye'deki Durumu. *Tarımın Sesi*, 20: 18-21.