

Patlıcanda Kotiledon Eksplantından Organogenezis Sağlanması Üzerinde Çalışmalar

Berna TUNÇAY¹ Şebnem KUŞVURAN^{2*} Ferah ERTEKİN¹ Şebnem ELLİALTIOĞLU¹

¹Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü – Ankara

²Çankırı Karatekin Üniversitesi Kızılırmak MYO – Çankırı

*Sorumlu yazar
e-mail: skusvuran@gmail.com

Geliş Tarihi: 02 Aralık 2013
Kabul Tarihi: 21 Aralık 2013

Özet

In vitro koşullarda elde edilen veya çoğaltılmasına ihtiyaç duyulan sınırlı sayıda bitkisel materyalden vejetatif çoğaltma yapılabilmesi önem taşımaktadır. Bu çalışmada, patlıcanda *in vitro* bitki regenerasyonu için uygun besin ortamı bileşiminin belirlenmesi ve ayrıca genotip etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bitkisel materyal olarak iki adet açık döllenmiş patlıcan çeşidi (Long Purple ve Topan), bir adet yerli melez genotip (3x8) ve bir yabancı tür (*Solanum integrifolium*) kullanılmıştır. *In vitro* koşullarda çimlendirilen patlıcan tohumlarından elde edilen fidelerden kotiledon parçaları eksplant olarak kullanılmıştır. Besin ortamı olarak MS temel besin ortamı kompozisyonu seçilmiş; bu ortam iki farklı karbonhidrat kaynağı ile (%1.5 oranında glukoz veya %2 oranında sakaroz) zenginleştirilmiştir. “2 mg/l zeatin ve 0.01 mg/l NAA”, “4 mg/l NAA”, “10 mg/l NAA” ise, büyüme düzenleyici katkısı olarak kullanılmıştır. Tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulan denemede her bir uygulamada 50’şer adet kotiledon parçası olacak biçimde yapılan eksplant dikimlerinden sonra kültürler iklim odasında karanlıkta 3 hafta süreyle tutulmuş ve daha sonra fotoperiyodik düzene alınmıştır. Bir aylık kültürlerde yapılan gözlemlerde kallus oluşturma oranı, organogenezis varlığı (sürgün ve kök oluşumu) belirlenerek eksplant başına oluşan miktarları saptanmıştır. Genotiplere göre besin ortamı bileşiminin etkisinde farklılıklar belirlenmiştir. Genel olarak G3, G2, G1 ve S3 ortamlarının sürgün oluşturma oluşturmaya teşvik ettiği gözlenmiştir. 3x8 melezi, sürgün oluşturma kapasitesi en yüksek genotip olarak dikkati çekmiştir. Tüm çeşitlere uygun tek bir besin ortamı kompozisyonu belirlemek oldukça zor olduğu halde, 4 ve 10 mg/L NAA içeren ortamlarda doğrudan kallus ve meristematik doku farklılaşması oluşabileceği belirlenmiştir. NAA içeren ortamlarda kallus uyartımı sağlandıktan sonra sitokin içeren ortamlara aktarılması halinde oluşan meristematik dokuların sürgüne dönüşme oranı artabilecektir. Bu konuda devam eden çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Patlıcan, rejenerasyon, genotip, kotiledon, besin ortamı

The Studies on Organogenesis from Cotyledon Explants of Eggplant

Abstract

Vegetatif propagation of plant materials obtained *in vitro* conditions or in a limited number can be made important. In this study, we aimed to determinate the composition of aculture medium suitable for *in vitro* plant regeneration of eggplants also to investigate the effect of genotypes to regeneration capacity. As plant material two open pollinated eggplant varieties (Long Purple and Topan), one local hybrid genotype (3x8) and a wild species (*Solanum integrifolium*) was used. Cotyledon pieces of seedlings were used as explants and that seedlings were obtained from eggplant seeds which are germinated *in vitro* conditions. The composition of the basic MS medium was used and this medium was enriched with two different carbohydrate sources (glucose, 1.5% or 2% sucrose). "2 mg/l zeatin and 0.01 mg/l NAA," "4 mg/l NAA," "10 mg/l NAA", are added as growth regulators. Experiment was established according to randomized block experimental design. 50 cotyledon piece explants were cultured for each application. The cultures were placed in a climate room in the darkness for 3 weeks and then photoperiodic system was applied. After one month observations made in cultures, callus formation rate, presence of organogenesis (shoot and root formation) was determined and the amounts per explant was detected. Different response among genotypes was observed on to effect of culture medium composition. For the formation of shoots, it could be necessary to transfer the callus tissues into the new media compositions including cytokinins. It is required the further investigations about the optimization of this method.

Keywords: Eggplant, regeneration, genotype, cotyledon, nutrient medium.

GİRİŞ

Patlıcan; domates, hıyar ve biberden sonra dünya sebze üretiminde '1 milyon 676 bin 893 hektar alanda 42 milyon 944 bin 212 ton' ile dördüncü sırada yer almakta olup, birçok sebze türünde olduğu patlıcanı da dünya üzerinde en fazla üreten ülke Çin'dir [5]. Hindistan, Mısır ve İran'dan sonra TÜİK verilerine göre 2011 yılında 821.770 ton'luk patlıcan üretimiyle Türkiye, dünya genelinde beşinci sırada yer almıştır. Türkiye'deki patlıcan üretimi, tek başına, Avrupa ülkelerinin toplamından daha fazladır (Eggnet, 2013). Miktar fazla olmakla birlikte kullanılan çeşitlerin özellikleri bakımından üstün yanlar oldukça az olup yöresel aksesyonlar, açık tozlanan standart çeşitler ve çoğu yabancı kökenli F1 hibritler yetiştirilmektedir. Genel olarak sebze ıslahında ve özelde de patlıcan türünde çeşit geliştirme çalışmalarına hız verilmesi ve modern teknolojilerin kullanılması zorunlu hale gelmiştir. Doku kültürü koşullarında elde edilen az sayıdaki kıymetli bitkisel materyalin vegetatif olarak çoğaltılması ve kaybetme riskine karşı yedekleme çalışmaları açısından *in vitro* klonal çoğaltma önem taşımaktadır. Özellikle patlıcanda haploid bitkilerin veya dihaploidlerin yedeklenmesi açısından olduğu kadar gen aktarımı çalışmalarına esas teşkil etmek üzere de *in vitro* bitkilerin vegetatif olarak çoğaltılması gerekli olmaktadır.

Patlıcan bitkisinde rejenerasyon çalışmaları 1960'lı yıllara kadar uzanmaktadır. Patlıcanda somatik embriyo oluşumu ilk kez zigotik embriyoların eksplant olarak kullanıldığı IAA ilave edilmiş MS ortamında belirlenmiştir [21]. Öte yandan Kamat ve Rao [11], IAA içeren MS ortamında hipokotil eksplantlarından sürgün farklılaşmasını rapor etmiştir. Araştırmacılar NAA veya NOA kullanıldığında hipokotil eksplantlarından kallus ve kök oluşumunun görüldüğünü, ancak bunun sürgün oluşumunu tamamıyla engellediğini bildirmektedirler. Matsuoka ve Hinata [13] ise NAA içeren ortamlarda hipokotilden oluşturulan kallus üzerinde hem organogenezis, hem de somatik embriyogenezis elde etmişlerdir. Gleddie ve ark. [8], NAA'nın oldukça yüksek dozlarında patlıcanın rejenerasyon yeteneğinin yüksek olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar değiştirilmiş MS ortamını kullandıkları çalışmalarında yedi farklı patlıcan çeşidinde yaprak dokularından 21 günlük kültür periyodu süresince çok sayıda

somatik embriyo elde etmişlerdir. Ellialtıoğlu [2], Kemer patlıcan çeşidinde sürgün ucu, gövde segmenti ya da yaprak parçalarından doku kültürü yoluyla yeni bitkilerin oluşturulması için gerekli koşulları incelemiştir. IAA, NAA ve BAP'in değişik dozlarının denendiği araştırmada IAA'nın yalnız başına bulunduğu ortamlarda sürgün uçları gelişip tam bitkiye dönüşmüş, gövde segmentlerinden istenen gelişme sağlanamazken, yaprak eksplantları çok sayıda somatik embriyo ve adventif sürgün oluşturmuştur. Fari ve ark. [6], 'Kecskemeti lila' Macar patlıcan çeşidinde genetik transformasyon konusunda çalışmışlar ve sürgün rejenerasyonu için değişik besin ortamı bileşimleri kullanmışlardır. Buna göre temel ortam olarak MS mineral tuzları ve B5 vitaminlerini tercih eden araştırmacılar, %1.5 oranında glukoz ilave edilen ortamlara üç farklı büyüme düzenleyici madde (literatür bilgilerini esas alarak) ilave etmişlerdir: a. Kallus oluşumu ve indirekt organogenezis amacıyla 2 mg/l zeatin ve 0.01 mg/l NAA [18]; b. Kallus oluşumu olmaksızın direkt organogenezis amacıyla 2 mg/l kinetin [14]; c. Kallus oluşumu üzerinden somatik embriyogenezis amacıyla 4 mg/l NAA [8]. Bu uygulamalardan (a) ve (c)'den bitki elde edebilmişlerdir. Kırıcıoğlu [12] Aydın Siyahı patlıcan çeşidiyle yaptığı rejenerasyon çalışmalarında kotiledon eksplantlarından sürgün farklılaşması elde etmiş, bunun için mineral tuzları MS, vitaminleri B5 bileşiminde olan, %1.5 oranında glukoz, 2 mg/l zeatin ve 0.01 mg/l NAA içeren ortamların en iyi sonucu verdiğini bildirmiş; ancak farklı çeşitlerin de denemelere ilave edilmesinden sonra genotip etkisinin patlıcan rejenerasyonunda başta gelen unsurlardan birisi olduğunu vurgulamıştır.

Patlıcanda *in vitro* bitki rejenerasyonunu etkileyen faktörler üzerinde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ortak olan husus ise, hem kallus oluşumu hem de eksplantlardan doğrudan rejenerasyon için besin ortamlarında mutlaka büyüme düzenleyici maddelerin uygun kombinasyonları ve dozlarının bulunması gerektiğidir [17]. Hitomi ve ark. [9], patlıcanda somatik embriyogenezis elde etme üzerinde yaptıkları çalışmalarda NAA'nın 2,4-D'ye göre embriyo oluşumu üzerinde daha etkin olduğunu belirlemiştir. *Solanum nigrum* türünde sürgün ucu, gövde, yaprak ve kök segmentlerinden hazırlanan eksplantları kullanarak kallus ve bitki oluşumu konusunda çalışan Jahan ve

Hadiuzzaman [10]; en iyi kallus oluşumunu 0.5 mg/L NAA ve 2.0 mg/L BAP içeren MS ortamındaki yaprak dokularından elde etmişlerdir. Anwar ve ark. [1] yaprak eksplantlarını 2 mg/l dozunda IAA, BA, IBA, NAA veya 2,4-D içeren MS ortamında kültüre almıştır. NAA, çok çabuk gelişen yeşil renkli kallus oluşturmuş, 2,4-D petiolden erken kallus oluşumu sağlamış, BA ise yaprak ayasının üst yüzeyinden yeşil kallus oluşturmuştur. NAA veya IBA içeren ortama 0.5 mg/l BA ilave edilince kallus oluşumunun miktarı artmış ve sürgün rejenerasyonu meydana gelmiştir. Ferdousi ve ark. [7], Jhumki ve İslampuri patlıcan çeşitlerinde kallus uyartımı ve somatik embriyogenezisi sağlamışlardır. 2 mg/l NAA'ın kallus oluşumunda, 0.5 mg/l BAP'in sürgün rejenerasyonunda etkili olduğu belirlenmiştir. Rejenere olan bitkiler arasında somaklonal varyasyon olma olasılığı ve bunun bitki ıslahında kullanımı konusunda yöntemin etkin olabileceği ifade edilmiştir.

Ray ve ark [17], patlıcanın anavatan bölgesi içerisinde yer alan Bengaldeş'te yetiştirilen Jhumki çeşidinde kallus uyartımı ve bitki rejenerasyonu üzerinde çalışmışlardır. Bu çalışmada genotip ve besin ortamı bileşiminin patlıcanda *in vitro* rejenerasyon üzerindeki etkilerini araştırmak, her genotipte az veya çok sayıda ancak kullanılabilir nitelikte bitki elde edilmesine olanak sağlayacak bir besin ortamı belirlemek amaçlanmıştır. BAP ve NAA'ın dozlarını denendiği araştırmada en yüksek kallus oluşum oranı (%48.6) 2 mg/l BA+0.5 mg/l BAP içeren MS ortamından elde edilmiştir. Kalluslardan bitki elde edilmesinde de en iyi sonuç yine aynı ortamdan alınmış olup (%23.8) 38.8 gün içerisinde ve gövdeden gelişen kalluslar üzerinde meydana gelmiştir.

Bu çalışmanın amacı, patlıcanda *in vitro* koşullarda direkt bitki rejenerasyonu ve klonal çoğaltma yapmak için en uygun büyüme düzenleyici kombinasyonunu belirlemek, organogenezis üzerinde genotipin etkisini araştırmaktır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırmada bitkisel materyal olarak dört farklı patlıcan genotipi kullanılmıştır. Açık döllenmiş patlıcan çeşitleri Long Purple ve Topan'ın haricinde kullanılan diğer genotiplerden bir tanesi, yerli yöresel patlıcan populasyonlar arasında yapılan melezleme

sonucu elde edilen bir melez (Burdur Bucak x Giresun) (3x8) genotip, ikincisi ise yabancı patlıcan türü *Solanum integrifolium*'dur.

Besin ortamı olarak MS [15] temel ortam bileşimi kullanılmıştır. Tohum çimlendirme aşamasında hormonsuz MS ortamına %2 sakaroz ve %0.7 agar ilave edilmiş ve pH 5.7'ye ayarlanmıştır. Patlıcan tohumları, %20'lik ticari sodyum hipoklorit içinde 20 dakika çalkalanarak yüzeysel sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bunun ardından, 3 defa 5'er dakika steril saf su ile durulama işlemi yapılmıştır. *In vitro* koşullarda çimlendirilen tohumlardan gelişen fidelerden hazırlanan eksplantlar sekiz farklı yapıdaki besin ortamına dikilmiştir. Bu ortamların bileşimi şöyledir:

- S-1: MS temel besin ortamı + %2 Sakaroz (hormonsuz)
- S-2: MS temel besin ortamı + %2 Sakaroz + 2 mg/l zeatin ve 0.01 mg/l NAA
- S-3: MS temel besin ortamı + %2 Sakaroz + 4 mg/l NAA
- S-4: MS temel besin ortamı + %2 Sakaroz + 10 mg/l NAA
- G-1: MS temel besin ortamı + %1.5 Glukoz (hormonsuz)
- G-2: MS temel besin ortamı + %1.5 Glukoz + 2 mg/l zeatin ve 0.01 mg/l NAA
- G-3: MS temel besin ortamı + %1.5 Glukoz + 4 mg/l NAA
- G-4: MS temel besin ortamı + %1.5 Glukoz + 10 mg/l NAA

1'er cm² büyüklüğünde hazırlanan kotiledon parçaları her uygulama grubunda 50'şer adet olacak şekilde alt yüzeyleri besin ortamına degecek şekilde besin ortamlarına yerleştirilmiştir. Yeni oluşan ve 0.5-0.7 cm uzunluğa ulaşan yeni sürgünler, eksplant üzerinden ayrılarak hormonsuz G1 veya S1 ortamlarında alt kültüre alınmışlardır. Sürgünler 3-5 cm uzunluğa ulaştığında köklendirme ortamlarına aktarılmışlardır. Köklendirme ortamı olarak mineral tuzları ½ oranında azaltılmış, şeker olarak sadece %2 sakaroz içeren, hormonsuz ortamlar kullanılmıştır.

BULGULAR

Dört adet patlıcan genotipine ait *in vitro* fidelerin kotiledon dokularından hazırlanan eksplantların, sekiz değişik ortam bileşimine sahip besin ortamında kültüre alınması sonucunda elde edilen sayısal değerlendirmeler Çizelge 1'de verilmektedir.

Hormon katkısı bulunmayan ve karbon kaynağı olarak da %1.5 oranında glukoz içeren G1 ortam bileşiminde, dört genotip içerisinde sadece Topan çeşidi için olumlu sayılabilecek sonuçlar vermiştir. Topan çeşidinin kotiledonlarında dikimi yapılan eksplantların %97'sinde gelişme olmuş, her bir kotiledon eksplantı üzerinde 73.8 ± 12.7 adet yeşil meristematik doku (sürgün tomurcuğu= shoot bud) meydana gelmiştir. Ancak 1 cm'den daha büyük olan ve alt kültüre alınarak bitkiye dönüştürülebilecek kapasiteye sahip sürgün sayısı sadece 3.2 ± 1.1 adet olabilmıştır. 3x8 melezinin kotiledon eksplantlarında bir miktar sürgün tomurcuğu oluşmuş olmakla birlikte (18.2 ± 1.9 adet), bu genotipte ve diğer iki genotipte G1 ortamının performansı çok yetersiz kalmıştır. Hatta Long Purple çeşidi, bu ortamda hiç gelişme göstermemiş, yabancı türün kotiledonları da kallus dahi oluşturmadan aynı dikim yapıldığı durumda kalmıştır.

G2 olarak adlandırılan, 2 mg/l zeatin ve 0.01 mg/l NAA bulunduran, karbon kaynağı olarak da % 1.5 oranında glukoz içeren ortam bileşiminde Yabancı tür *S.integrifolium*'un kotiledonlarında 36.8 ± 6.89 ; 3x8 melezinin kotiledonları üzerinde de 41.4 ± 11.5 adet adet/eksplant meristematik doku oluşumuna neden olmuştur. Bu ortamda oluşan sürgün tomurcuları, aynı ortam bileşimi hazırlanarak alt kültürlere alınmıştır. Bu ortam üzerinde melez genotipte sürgün farklılaşması oldukça başarılı bulunmuştur (sırasıyla 4.4 ± 3.7 ve 5.21 ± 4.3 adet/eksplant) (Şekil 1a ve b). Long Purple çeşidinin kotiledonlarında krem renkli, sürgüne dönüşmeyen farklılaşmalar oluşturmuştur. Topan çeşidi ise bu ortama yanıt vermemiştir.

4mg/l NAA bulunduran, karbon kaynağı olarak da %1.5 oranında glukoz içeren G3 ortam bileşimi, dört genotipte de denemenin olumlu etkilerinden birine sahip olmuştur. Tüm genotiplerde kallus, sürgün tomurcuğu veya doğrudan sürgün gelişimi gibi rejeneratif yanıtlar alınmıştır. Topan çeşidinde eksplant başına ortalama 21.8 ± 3.7 adet meristematik doku sayılmış, bunlardan çok az bir kısmı (0.2 ± 1.6 adet) gelişerek alt kültüre alınacak durumda bulunmuştur.

Long Purple çeşidinde eksplantlar oldukça yoğun bir yeşillenme olduğu halde (28.9 ± 3.7 adet), bunlardan az bir kısmı alt kültüre alınabilmiştir. *S. integrifolium* kotiledonları bu ortamda yeşil kalmış, 79.3 ± 10.3 adet sürgün

tomurcuğu oluşturmuştur. Gelişen sürgünler alt kültüre alınarak bitkiye dönüştürülmüştür. 3x8 melezlerine ait eksplantlardan 95.0 ± 17.1 adet sürgün tomurcuğu oluşmuştur. Dokular alt kültüre alınmıştır. Long Purple ve 3x8 melezlerinde sürgün uçları aynı ortama aktarılarak dikildiğinde, farklılaşma ve bitkiye dönüşüm meydana gelmemiş, kallus dokusu gelişimi olmuştur (Şekil 2a).

G4 ortamı olarak kodlanan ve %1.5glukoz ilavesi ile birlikte 10 mg/l NAA içeren ortamlardaki kotiledon eksplantlarından meristematik doku farklılaşması sadece 3x8'de bir miktar hareketli bulunmuş, diğer çeşitlerde tatminkar olmamıştır. 3x8 genotipinde oluşan sürgün uçları diğer deneme kısımlarında yapıldığı gibi aynı bileşimdeki taze ortamlara aktarılmıştır. Ancak sürgün uçlarının 10 mg/l NAA içeren ortamlara aktarılması, kallusun daha da gelişmesine neden olmuş, bitkiye dönüşme olmamıştır (Şekil 2 b).



Şekil 1. G2 ortamında oluşan ve alt kültüre alınan; a. 3x8 genotipine, b. *S.integrifolium* türüne ait meristematik dokuların gelişerek sürgüne dönüşümü



Şekil 2. a. G3 ortamında oluşan ve alt kültüre alınan; b. G4 ortamında oluşan ve alt kültüre alınan 3x8 genotipine ait rejeneratif kalluslarında gelişen meristematik kallus dokusu

Hormonsuz ve karbon kaynağı olarak %2 oranında sakaroz içeren S1 ortam bileşiminde sadece 3x8 melez genotipine ait kotiledonlarda farklılaşma ortaya çıkmış ve sürgün tomurcuğu oluşumu gözlenmiştir. Ancak bitkiye dönüşüm sağlanamamıştır. S2 olarak adlandırılan, 2 mg/l zeatin ve 0.01 mg/l NAA bulunduran, karbon kaynağı olarak da % 2 oranında sakaroz içeren

ortam bileşiminde Topan ve *S.integrifolium*'da çok az sayıda sürgün farklılaşması sağlanabilmiştir. S2 ortamı genel olarak sürgün elde edilmesi bakımından performansı yüksek bir ortam olarak görülmemiştir.

S3 ortamı, yani bileşiminde 4mg/l NAA bulunduran, karbon kaynağı olarak da %2 oranında sakaroz içeren ortam bileşimi kotiledon eksplantları üzerinde sürgün tomurcuğu oluşturma kapasitesi bakımından dört genotipte de olumlu sonuçlar vermiştir. Bu özellik bakımından ilk sırada 3x8 melez genotipi yer almış ve eksplant başına ortalama 179 ± 21.5 adet yeşil sürgün ucu meristematik dokusu oluşumunu sağlamıştır. İkinci sırada 116 ± 10.8 adet sürgün ucu ile Long Purple çeşidi yer almış, ancak bu çeşitteki sürgün uçlarının büyük çoğunluğunun uç kısmında yeşil büyüme konisinin bulunmadığı, renginin krem-beyaz olduğu dikkati çekmiştir. 82.3 ± 8.8 adet sürgün ucu değeriyle *S.integrifolium* 3. sırada yer almıştır. Ancak bu türde oluşan canlı ve yeşil renkli sürgün uçlarının gelişimi ve sürgün elde edilme oranı yüksek olmuştur. S3 ortamında en düşük meristematik doku oluşturma kapasitesini Topan çeşidi vermiştir. 28.5 ± 8.5 adet/eksplant sürgün ucu oluşumu değerine karşılık, bunlardan sürgüne dönüşüm olmamıştır.

S4 ortamı olarak kodlanan ve %2 sukroz ilavesi ile birlikte 10 mg/l NAA içeren ortamlarda nitelikli meristematik doku farklılaşması sadece 3x8 melez genotipinden elde edilmiştir (118.0 ± 9.5 adet sürgün ucu). 21.0 ± 6.3 adet/eksplant sürgün ucu oluşturan Long Purple çeşidinin kotiledonlarındaki sürgün uçları yeşil renkli ve sağlıklı göründükleri halde, sayı olarak daha yüksek değere sahip olan Topan çeşidinin kotiledonları üçüncü sırada değer almıştır (36.7 ± 8.4 adet/eksplant). Çünkü bu çeşitte oluşan sürgün ucu farklılaşmaları veya buna benzeyen oluşumlar, çoğunlukla beyaz renkli kalmıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Patlıcanda *in vitro* koşullar altında organogenezis gibi doku farklılaşmalarının üzerinde en önemli etkiye sahip olan faktör genotip olarak belirlenmiştir. Tamamen aynı bileşime sahip besin ortamlarında dört farklı genotipten elde edilen sonuçlar, hem sayısal olarak hem de oluşan farklılaşmaların niteliği ve kalitesi bakımından birbirinden tamamen farklıdır. Bu nedenle herhangi bir genotiple

çalışmaya başlarken, mutlaka rejenerasyon sisteminin işleyip işlemediği kontrol edilmelidir.

NAA'in patlıcanda rejenerasyon üzerinde olumlu etki yaptığı önceden rapor edilmiştir [8]. Bizim çalışmamızda da bazı genotiplerde NAA'in yüksek dozu ya da daha düşük dozu, sürgün ucu oluşumunu yüksek oranda sağlamıştır. Ancak bu sürgün uçlarının aynı ortam bileşimi üzerinde yani NAA içeren ortamda devamlı tutulması, sürgün gelişimi ve bitkiye dönüşümü engellemiştir. Sürgün gelişim için besin ortamında sitokin bulunması çok olumlu etki yapmıştır. Perrone ve ark, [16] da, besin ortamında sitokin bulunmasının patlıcanda somatik embriyogenezis üzerinde çok olumlu etki yaptığından bahsetmektedir. G2 ve S2 ortamlarında oluşan meristematik doku sayıları NAA'li ortamlardaki kadar olmasa da, bu ortamlarda oluşan meristematik sürgün ucu, değişkenlik göstererek bazı genotiplerde gelişmesine devam ederek sağlıklı sürgünler vermiştir.

Denemede yer alan genotipler içerisinde 3x8 olarak gösterilen ve yöresel iki ayrı populasyonun melezlenmesinden elde edilen F1 döl kademesindeki bitkilere ait eksplantlarda genel olarak diğerlerine oranla daha yüksek bir rejenerasyon kapasitesi olduğu fark edilmiştir. Bu durum hibrit gücü etkisinin yalnızca verim, erkencilik gibi ileri bitki aşamalarındaki özellikler üzerinde değil, *in vitro* rejenerasyon yeteneği üzerinde de etkili olabileceği yönünde bilgi vermiştir. Benzer durum anter kültüründe yanıt alınamayan çeşitlerin rejenerasyon kapasitesini artırmak için de kullanılmaktadır. Anter kültürü yanıtı çok yetersiz olan bir çeşit, bu açıdan üstün nitelikli bir başka çeşitle melezlendiğinde elde edilen F1 döllerine ait bitkilerin anter kültürüne yanıt verme oranında artış olduğu bilinmektedir [3].

Aynı genotiplerle ve deneme düzeni kullanılarak hipokotil eksplantlarıyla yapılan denemelerden elde edilen sonuçlar, kotiledon eksplantlarına benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte bazı genotip ve ortam bileşimlerinde bazen hipokotil, bazen de kotiledon eksplantları daha olumlu organogenezis yanıtlarına sahip olmuştur. Kotiledon dokuları, genel olarak doğrudan rejenerasyona daha yatkın bulunmuştur [19]. Hipokotil dokuları kallus oluşumu için çok elverişli olmakla birlikte [4], rejenerasyon kabiliyeti bakımından kotiledon yapraklara göre daha düşük kapasiteye sahip olabilmektedir.

Nitekim Ray ve ark. [17] da, kotiledon yaprakların ve özellikle de sürgün ucu dokularının kallus oluşturma ve bu kalluslardan da sürgün rejenerasyonu sağlama konusunda hipokotillere göre üstün olduklarını belirlemiştir. Genotip etkisi, patlıcanda in vitro rejenerasyonda çok belirgin farklılığa sahip olmakla birlikte kullanılan eksplantın da etkisi diğer bir önemli faktör olabilmektedir [19].

Tüm patlıcan çeşitleri için önerilebilecek en uygun sürgün rejenerasyon ortamı vermek mümkün görülmemiştir. Bununla birlikte, NAA'in kallus oluşumu açısından çok etkin

olduğu, 4 veya 10 mg/L NAA ile birlikte glukoz kullanımının olumlu olabileceği, NAA ile birlikte daha düşük dozdaki sitokinin ilavesinin doğrudan sürgün rejenerasyonuna olumlu etki yapabileceği, kotiledon eksplantlarının doğrudan sürgün rejenerasyonu amacına uygun olduğu bilgilerine ulaşılmıştır. Bunun yanı sıra, meristematik doku farklılaşmasından sonra sitokinin içeren yeni bileşimdeki ortamlara aktarım yapılmasının bitkiye dönüşüm aşamasında başarıyı artırabileceği [7, 17], yöntemlerin optimizasyonu çalışmalarına devam edilmesi gerektiği sonucu elde edilmiştir.

Çizelge 1. Topan, Long Purple, *S.integrifolium* ve 3x8 patlıcan genotiplerinin kotiledon eksplantlarından meristematik doku farklılaşması ve sürgün oluşumu

Ortam	Genotip	GEO (%)	ST (adet)	SS (>1 cm)	Ortam	Genotip	GEO (%)	ST (adet)	SS (>1 cm)
G 1	Topan	97	73.8±12.7	3.2±1.1	G 2	Topan	0	0	0
	L.Purple	0	0	0		L.Purple	100	21.6±2.6	0
	<i>S.integrif</i>	0	0	0		<i>S.integrif</i>	100	36.8±6.89	5.21±4.3
	3 x 8	98	18.2±1.9	1.0±0.8		3 x 8	100	41.4±11.5	4.4±3.7
G 3	Topan	100	21.8±3.7	0.2±1.6	G 4	Topan	78	0	0
	L.Purple	100	28.9±3.7	0		L.Purple	86	0	0
	<i>S.integrif</i>	100	79.3±10.3	4.3±1.7		<i>S.integrif</i>	100	0	0
	3 x 8	100	95.0±17.1	0		3 x 8	100	164±11.4	0
S 1	Topan	0	0	0	S 2	Topan	100	5.1±2.4	2.3±1.1
	L.Purple	0	0	0		L.Purple	100	8.4±4.1	0
	<i>S.integrif</i>	0	0	0		<i>S.integrif</i>	100	8.2±2.6	1.7±1.4
	3 x 8	61	13.3±4.0	4.1±2.1		3 x 8	100	118.0±9.5	0
S 3	Topan	85	28.5±8.5	0	S 4	Topan	100	36.7±8.4	0
	L.Purple	100	116±10.8	0		L.Purple	100	21.0±6.3	0.4±0.5
	<i>S.integrif</i>	100	82.3±8.8	5.3±2.5		<i>S.integrif</i>	100	0	0
	3 x 8	100	179±21.5	0		3 x 8	100	35.2±3.4	0

GEO: Gelişen eksplant oranı, ST: Eksplant başına oluşan sürgün tomurcuğu, SS: Eksplant başına oluşan sürgün sayısı

KAYNAKLAR

[1] Anwar S, Sabana D, Siddiqui SA, Shahzad A, Din S (2002). Clonal propagation of brinjal, *Solanum melongena*, through young petiolated leaf culture. *Bionotes* 4(3): 61.

[2] Ellialtıoğlu Ő. (1994). Patlıcanda (*Solanum melongena* L.) *in vitro* vegetative çoğaltım üzerine bir araştırma. XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 6-8 Temmuz 1994, Edirne, s:232-238.

[3] Ellialtıoğlu Ő, Sarı N, Abak K (2000). Haploid Bitki Üretimi. (Bitki Biyoteknolojisi Cilt:I, Ed: Babaođlu, M., Gürel, E., Özcan, S.) s: 138-189, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya.

[4] Erdem ND, Ellialtıoğlu Ő, Üstün AS, Mehmetođlu Ü (1998). Biberde (*Capsicum annuum* L.) farklı eksplantlardan elde edilen kallus süspansiyon kültürlerinde kapsidiol oluşumu. 2. Sebze Tarımı Sempozyumu, 28-30 Eylül 1998, Tokat, s: 87-92.

[5] Faostat, 2009.<http://faostat.fao.org>

[6] Fari M, Nagy I, Csanyi M, Mityko J, Andrasfalvy A (1995). *Agrobacterium* mediated genetic transformation and plant regeneration via organogenesis and somatic embryogenesis from cotyledon leaves in eggplant (*Solanum melongena* L. cv. 'Keckskemeti lila'). *Plant Cell Reports* 15: 82-86.

[7] Ferdousi A, Nath UK, Das BL, Alam MS (2009). *In vitro* regeneration system in brinjal (*Solanum melongena*L.) for stress tolerant somaclone selection. *J. Bangladesh Agril. Univ.* 7(2): 253-258.

[8] Gleddie S, Keller WA, Setterfield G (1983). Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf explants and cell suspension of *Solanum melongena* L. (eggplant). *Can. J.of Bot.* 61: 656-666.

[9] Hitomi A, Amogai H, Ezura H (1998). The influence of auxin type of the array of somaclonal variants generated from somatic embryogenesis of eggplant (*Solanum melongena* L). *Plant Breed.*117(4): 379-383.

[10] Jahan MAA, Hadiuzzaman S (1996). Callus induction and plant regeneration from different explants of *Solanum nigrum*L. seedlings. *Plant Tissue Cult.* 6(1): 57-62.

[11] Kamat M, Rao P (1978). Vegetative multiplication of eggplant (*Solanum melongena* L.) using tissue culture techniques. *Plant Sci Letters* 13: 57-65.

[12] Kırıcıoğlu E (2001). Patlıcanda (*Solanum melongena* L.) *Agrobacterium* Aracılığı ile Gen Transferine Yönelik Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 75 s, Ankara.

[13] Matsuoka H, Hinata K (1979). NAA-induced organogenesis and embryogenesis hypocotyl callus of *Solanum melongena* L. *J. of Experimental Botany.* 30 (116): 363-370.

[14] Mukherjee SK, Rathinasabapathi B, Gupta N 1991. Low sugar and osmotic requirements for shoot regeneration from leaf pieces of *Solanum melongena* L. *Plant Tissue and Organ Culture.* 25:13-16.

[15] Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiol. Plant* 15: 473-497.

[16] Perrone D, Iannamico V, Rotino GL (1998). Rejuvenation of transgenic eggplant (*Solanum melongena* L.). *Capsicum and Eggplant Newsletter* No.17: 92-95.

[17] Ray BP, Hassan L, Nasiruddin KM (2011). *In vitro* regeneration of brinjal (*Solanum melongena* L.) *Bangladesh J. Agril. Res.* 36(3): 397-406.

[18] Rotino GL, Gleddie S (1990). Transformation of eggplant (*Solanum melongena* L.) using binary *Agrobacterium tumefaciens* vector. *Plant Cell Report*, 9: 26-29.

[19] Tunçay B (2007). Patlıcanda (*Solanum melongena* L.) Somatik Embriyogenezis ve Organogenezis Üzerinde Bir Araştırma, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 42 s, Ankara.

[20] Tüik (2011). <http://www.tuik.gov.tr>

[21] Yamada T, Nakagawa H, Sinoto Y (1967). Studies on the differentiation in cultured cells. I. Embryogenesis in three strains of *Solanum* callus. *Bot. Mag.* 80: 68-74