T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

VACCARIA HISPANICA (MILL) RAUSCHERT TÜRÜNDE APETAL ÇİÇEK KARAKTERİNİN KALITIMI VE *IN VITRO* ANDROGENESİS YOLUYLA DOUBLED HAPLOİD BİTKİ ÜRETİMİ

Ahmet İZMİRLİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

ŞUBAT 2026

ANTALYA

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

VACCARIA HISPANICA (MILL) RAUSCHERT TÜRÜNDE APETAL ÇİÇEK KARAKTERİNİN KALITIMI VE *IN VITRO* ANDROGENESİS YOLUYLA DOUBLED HAPLOİD BİTKİ ÜRETİMİ

Ahmet İZMİRLİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

ŞUBAT 2026

ANTALYA

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VACCARIA HISPANICA (MILL) RAUSCHERT TÜRÜNDE APETAL ÇİÇEK KARAKTERİNİN KALITIMI VE *IN VITRO* ANDROGENESİS YOLUYLA DOUBLED HAPLOİD BİTKİ ÜRETİMİ

Ahmet İZMİRLİ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR KOORDİNASYON MERKEZİ (BAP) tarafından FDK-2023-6478 nolu proje ile desteklenmiştir.

ŞUBAT 2026

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VACCARIA HISPANICA (MILL) RAUSCHERT TÜRÜNDE APETAL ÇİÇEK KARAKTERİNİN KALITIMI VE *IN VITRO* ANDROGENESİS YOLUYLA DOUBLED HAPLOİD BİTKİ ÜRETİMİ

Ahmet İZMİRLİ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez 05/02/2026 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Esin ARI (Danışman)

Prof. Dr. Bülent UZUN

Prof. Dr. Nedim MUTLU

Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU

Prof. Dr. Serpil TANGOLAR

ÖZET

VACCARIA HISPANICA (MILL) RAUSCHERT TÜRÜNDE APETAL ÇİÇEK KARAKTERİNİN KALITIMI VE *IN VITRO* ANDROGENESİS YOLUYLA DOUBLED HAPLOİD BİTKİ ÜRETİMİ

Ahmet İZMİRLİ

Doktora Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Esin Arı

Şubat 2026; 126 sayfa

Vaccaria hispanica (Mill.) Rauschert, yüksek nişasta, saponin ve biyoaktif bileşen içeriği nedeniyle gıda, kozmetik ve farmasötik sektöründe kullanım potansiyeli bulunan önemli bir tıbbi-endüstriyel bitki adayıdır. Islah programlarında erkencilik, yüksek tohum verimi ve hastalıklara dayanıklılık gibi özelliklerle birlikte apetal çiçek karakteri**;** verim ve bitki sağlığı açısından önemli bir ideotip bileşeni olarak değerlendirilmektedir. Ancak sözkonusu bu türde apetal çiçek karakterinin kalıtımı ve hızlı saf hat elde edilmesine yönelik çalışmalar sınırlıdır. Bu doktora tezinde, *V. hispanica*'da apetal çiçek karakterinin kalıtımının belirlenmesi ve *in vitro* androgenesis yöntemleri kullanılarak doubled haploid (DH) bitki üretim potansiyelinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Araştırma, *in vivo* ıslah çalışmaları ve *in vitro* androgenesis çalışmaları olmak üzere iki ana bölümde yürütülmüştür. *In vivo* çalışmalarda, farklı petal yapısına sahip genotipler ebeveyn olarak kullanılmış; apetal ve petalli genotipler arasında yapılan melezlemeler sonucunda elde edilen F_1, F_2, F_3, F_4 ve BC_1F_3 generasyonlarında petal tipleri fenotipik olarak değerlendirilmiştir. F_2 ve F_3 generasyonlarında elde edilen segregasyon oranları ki-kare (χ^2) testi ile analiz edilerek apetal çiçek karakterinin genetik kontrolü incelenmiştir. Ayrıca ebeveyn, F_4 ve BC_1F_3 hatlarında agronomik özellikler de karşılaştırılmış ve generasyonlar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

In vitro çalışmalar kapsamında, seçilen genotiplerde anter kültürü ve mikrospor kültürü denemeleri yürütülmüştür. Androgenesis çalışmalarında mikrospor gelişim evresi, genotip ve indüksiyon ortamı faktörlerinin embriyo oluşumu ve rejenerasyon üzerine etkileri araştırılmıştır. Anter kültürü denemelerinde kallus, embriyo ve sınırlı sayıda sürgün oluşumu sağlanmıştır. Mikrospor kültürü çalışmalarında ise embriyo oluşumu elde edilmiş olmakla birlikte, sürgün rejenerasyonu sınırlı kalmıştır. Buna rağmen, bazı mikrospor kaynaklı sürgünlerde çiçeklenme gözlemlenmiş ve tohum oluşumunu teşvik etmeye yönelik alternatif kültür yaklaşımları uygulanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışma ile *V. hispanica*'da apetal çiçek karakterinin kalıtımına ilişkin önemli bulgular elde edilmiş ve F_4 ile BC_1F_3 generasyonlarında yeni apetal çeşit

aday adayları geliştirilmiştir. Ayrıca androgenesis yoluyla saf hat geliştirme potansiyeli ve bu süreçte karşılaşılan bazı kısıtlamalar ortaya konulmuştur. Elde edilen sonuçların, bu türde yürütülecek ileri ıslah çalışmaları ile endüstriyel kullanım amaçlı çeşit geliştirme programlarına bilimsel bir altyapı sağlayacağı değerlendirilmektedir.

ANAHTAR KELİMELER: Anter kültürü, Apetal, Bitki ıslahı, Kalıtım, Mikrospor kültürü, *Vaccaria hispanica*

JÜRİ: Prof. Dr. Esin ARI

Prof. Dr. Bülent UZUN

Prof. Dr. Nedim MUTLU

Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU

Prof. Dr. Serpil TANGOLAR

ABSTRACT

INHERITANCE OF THE APETALOUS FLOWER TRAIT AND DOUBLED HAPLOID PLANT PRODUCTION VIA *IN VITRO* ANDROGENESIS IN *VACCARIA HISPANICA* (MILL.) RAUSCHERT

Ahmet İZMİRLİ

PhD Thesis in Agricultural Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Esin ARI

February 2026; 126 pages

Vaccaria hispanica (Mill.) Rauschert is a promising candidate for a medicinal and industrial plant with considerable potential for use in the food, cosmetic, and pharmaceutical industries due to its high starch, saponin, and bioactive compound content. In breeding programs, the apetalous flower trait**,** together with characteristics such as earliness, high seed yield, and disease resistance, is considered an important component of an ideotype in terms of yield and plant health. However, studies addressing the inheritance of the apetalous flower trait and the application of biotechnological approaches for rapid development of homozygous lines in this species are limited. Therefore, the objectives of this doctoral study were to elucidate the inheritance of the apetalous flower trait in *V. hispanica* and to evaluate the potential for doubled haploid (DH) plant production using *in vitro* androgenesis techniques**.**

The research was conducted in two main parts: *in vivo* breeding studies and *in vitro* androgenesis studies**.** In the *in vivo* experiments, genotypes with different petal phenotypes were used as parental material, and petal types were phenotypically evaluated in the F_1, F_2, F_3, F_4 and BC_1F_3 generations obtained from crosses between apetalous and petalous genotypes. Segregation ratios observed in the F_2 and F_3 generations were analyzed using the chi-square (χ^2) test to investigate the genetic control of the apetalous flower trait. In addition agronomic traits were compared in seeds obtained from the parent, F_5, and BC_1F_3 lines, and differences among generations were statistically evaluated.

Within the scope of the *in vitro* studies, anther culture and microspore culture experiments were carried out using selected genotypes. In the androgenesis experiments, the effects of microspore developmental stage, genotype, and induction media on embryo formation and regeneration were investigated. In anther culture experiments, callus, embryo, and a limited number of shoots were obtained. In microspore culture experiments, although embryo formation was achieved, shoot regeneration remained limited. Nevertheless, flowering was observed in some microspore-derived shoots, and alternative culture approaches were applied to promote seed formation.

In conclusion, this study provided significant findings regarding the inheritance of the apetalous flower trait in *Vaccaria hispanica*, and new apetalous cultivar candidates were developed in the F_4 and BC_1F_3 generations. Furthermore, the potential

and current limitations of developing homozygous lines through androgenesis were demonstrated. The results obtained are expected to provide a scientific basis for future advanced breeding studies and for the development of cultivars intended for industrial applications in this species.

KEYWORDS: Anther culture, Apetalous, Inheritance, Microspore culture, Plant breeding, *Vaccaria hispanica*

COMMITTEE: Prof. Dr. Esin ARI

Prof. Dr. Bülent UZUN

Prof. Dr. Nedim MUTLU

Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU

Prof. Dr. Serpil TANGOLAR

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında; *Vaccaria hispanica* türünde apetal çiçek karakteri kalıtımının ortaya konulması, ıslahı ve androgenesis yöntemlerinin kullanımıyla uygun genotiplerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın başlangıç materyallerini üstün özelliklere sahip 10 farklı *V. hispanica* genotipi oluşturmuştur. Androgenesis ile ilgili uygulamalar *in vitro*, kalıtımın ortaya konulmasına yönelik ıslah çalışmaları ise *in vivo* koşullarda yürütülmüştür. Bu çalışma ile apetal çiçek yapısına ve yüksek saponin, nişasta ve siklopeptid içeriğine sahip *V. hispanica* hatlarının geliştirilmesi ve böylece Türkiye'de henüz yeterince değerlendirilmemiş olan bu doğal türün endüstriyel bir bitki olarak ekonomiye kazandırılması hedeflenmiştir.

Tez çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve başarıyla tamamlanması sürecinde, laboratuvar çalışmalarımda her türlü imkânı sağlayarak bilgi ve deneyimleriyle bana rehberlik eden, bilimsel vizyonumun şekillenmesinde büyük katkı sunan değerli danışman hocam Prof. Dr. Esin ARI'ya (Akdeniz Üniversitesi) en içten teşekkür, şükran ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam boyunca her aşamada desteğini hissettiren, sorularımı sabırla yanıtlayarak bana yol gösteren ve Tez İzleme Komitesi (TİK) sürecinde değerli katkılarını sağlayan değerli Hocalarım Prof. Dr. Bülent UZUN'a (Akdeniz Üniversitesi) ve Prof. Dr. Nedim MUTLU'ya (Akdeniz Üniversitesi) en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez savunma jürimde yer alarak değerli tavsiye ve yorumlarıyla tezime son şeklinin verilmesini sağlayan, kıymetli Hocalarım Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU (Gazi Üniversitesi) ve Prof. Dr. Serpil TANGOLAR (Çukurova Üniversitesi)'a teşekkürlerimi sunarım.

Fide üretim aşamasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak desteğini esirgemeyen Ziraat Yüksek Mühendisi Gülsün TAVALI'ya (Akdeniz Üniversitesi) ve sera ile laboratuvar çalışmalarında değerli katkılarını sunan Dr. Ahmad Ratib SHARAFAT'a (Seyyid Cemaleddin Afgani Üniversitesi) teşekkür ederim.

Bitkisel materyal üretiminde sağladıkları katkı ve desteklerinden dolayı Kırcami Fide'ye teşekkürlerimi sunarım.

Doktora öğrenimim süresince sağladıkları destek ve katkılarından dolayı Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Öğretim Üyelerine ve proje desteği için Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP)'ne şükranlarımı sunarım.

Son olarak, hayatım boyunca her zaman yanımda olan, maddi-manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen aileme ve kardeşlerime teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT iii
ÖNSÖZ v
İÇİNDEKİLER vi
AKADEMİK BEYAN viii
SİMGELER VE KISALTMALAR ix
ŞEKİLLER DİZİNİ xi
ÇİZELGELER DİZİNİ xiv
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK TARAMASI 8
2.1. Apetal karakter kalıtımı ile ilgili çalışmalar 8
2.2. Caryophyllaceae familyasında yapılan haploidi çalışmaları 15
3. MATERYAL VE METOT 20
3.1. Materyal 20
3.1.1. Bitki materyali 20
3.1.1.1. Seleksiyon çalışmalarında kullanılan materyaller 20
3.1.1.2. Apetal çiçek karakteri kalıtım çalışmalarında kullanılan materyaller 20
3.1.1.3. Backcross ve melezleme çalışmalarında kullanılan materyaller 21
3.1.1.4. Androgenesis çalışmalarında kullanılan materyaller 21
3.1.2. Androgenesis çalışmalarında kullanılan besin ortamı kimyasalları 23
3.1.3. Anter kültürü denemelerinde kullanılan besin ortamları 24
3.1.4. Mikrospor kültürü denemelerinde kullanılan besin ortamları 25
3.2. Deneme alanına ait iklim verileri 26
3.3. Metot 27
3.3.1. Seleksiyon çalışmaları 27
3.3.2. Apetal çiçek karakteri kalıtım çalışmaları 27
3.3.3. Backcross ve melezleme çalışmaları 29
3.3.4. Ki-Kare analizi 31
3.3.5. Agronomik özelliklerin belirlenmesi 31
3.3.6. Araştırma tasarımı ve veri analizi 32

3.3.7. Androgenesis çalışmaları için mikrosporların uygun gelişim aşamalarının belirlenmesi 32
3.3.8. Yüzey dezenfeksiyonu 34
3.3.9. Anter kültürleri 34
3.3.10. Mikrospor kültürleri 34
3.3.11. Bitki rejenerasyonu, köklendirme ve aklimatizasyonu 35
3.3.12. Androgenesis çalışmalarının araştırma tasarımı ve veri analizleri 36
4. BULGULAR 37
4.1. Seleksiyon çalışmaları 37
4.2. Apetal çiçek karakteri kalıtımı çalışmaları 38
4.3. Backcroos ve melezleme çalışmaları 45
4.3.1. Backcross melezlemeleri 51
4.3.2. Melezleme çalışmaları 55
4.3.3. Hasat sonrası incelenen agronomik özellikler 73
4.4. Androgenesis çalışmaları bulguları 80
4.4.1. Anter kültürü deneme bulguları 80
4.4.1.1. I. Grup anter kültürü deneme bulguları 80
4.4.1.2. II. Grup anter kültürü deneme bulguları 83
4.4.1.3. III. Grup anter kültürü deneme bulguları 92
4.4.2.Mikrospor kültürü deneme bulguları 94
4.4.2.1. I. Grup mikrospor kültürü deneme bulguları 94
4.4.2.2. II. Grup mikrospor kültürü deneme bulguları 99
4.4.2.3. III. Grup mikrospor kültürü deneme bulguları 101
4.4.3. Rejenerasyon, köklendirme ve aklimatizasyon bulguları 103
5. TARTIŞMA 110
6. SONUÇLAR 115
7. KAYNAKLAR 118
ÖZGEÇMİŞ

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum "*Vaccaria hispanica* (Mill.) Rauschert Türünde Apetal Çiçek Karakterinin Kalıtımı ve *In vitro* Androgenesis Yoluyla Doubled Haploid Bitki Üretimi" adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

05/02/2026

Ahmet İZMİRLİ

İmzası

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

cm : Santimetre

g/L : Gram/Litre

mg/L : Miligram/Litre

ml : Mililitre

mm : Milimetre

µM : Mikromolar

< / > : Büyükden / Küçükden

°C : Santigrad derece

% : Yüzde

Kısaltmalar

$AgNO_3$**:** Gümüş Nitrat

BAP : Benzil amino purin

BGD : Bitki gelişim düzenleyicisi

B5 : B5 (Gamborg, 1968) besin ortamı

CHB : CHU (Chu 1990 vd.) besin ortamı

CHU : CHU (Chu 1981) besin ortamı

DAPI : 4'6-Diamidino-2 phenylindole

DH : Doubled haploid

IAA : Indol-3-asetik asit

ISTA : Uluslararası tohum test birliği

KIN : Kinetin

MS : Murashige ve Skoog (1962) besin ortamı

MGM : Meteroloji Genel Müdürlüğü

NAA : Naftalen asetik asit

NLN : Lichter (1982) besin ortamı

NN : Nitsch ve Nitsch (1969) besin ortamı

SSD : Tek tohum ilerletme

2,4-D : 2,4-diklorofenoksi asetik asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 *Vaccaria hispanica* bitkisi ve çiçek yapısının genel görünümü (Orijinal: A. İzmirli) 1
Şekil 1.2 Petal bakımından farklı *V. hispanica* bitkileri: (a, c) Petalli *V. hispanica* bitkisi, ve çiçek yapısı (b, d) Apetal *V. hispanica* bitkisi ve çiçek yapısı 4
Şekil 1.3. *In vitro* haploid bitki elde etme yöntemleri (orjinal: A.İzmirli) 5
Şekil 3.1. Apetal karakter kalıtımında kullanılan ebeveyn bitkiler; a) Petalli V53/1 genotipi; b) Apetalli V53/2 genotipi 21
Şekil 3.2. 2022 Nisan dönemi çalışmalarının yürütüldüğü seradan görüntüler; (a) Seranın ekime hazırlanması; (b) Uygun gelişim aşamasındaki bitkilerin kendilenmesi 27
Şekil 3.3. Melezleme aşamalarından görüntüler; a) Emaskülasyon işlemi; b) Melezleme işlemi; c) Melezlenen tomurcukların tül kese ile kapatılması 28
Şekil 3.4. 2024 yılı Nisan döneminde yetiştirilen F_2 bireylerinde, çiçeklenme döneminde gerçekleştirilen kendileme işlemleri 29
Şekil 3.5. Backcross melezlemeleri için ebeveyn ve F_1 hatların yetiştirildiği seradan görüntüler; a) Sera hazırlığı; b) Dikime hazır hale gelen uygun fide; c) Melezleme ve kendileme aşamasına gelmiş ebeveyn bitkileren genel görünüm 30
Şekil 3.6. Kendileme ve BC melezlemeleri yapılan F_1 bitkilerinden görüntüler; a) Kendileme yapılan F_1 bitkileri; b) BC melezi yapılan F_1 bitkisi 31
Şekil 3.7. Çeşitli taksonomik ve morfolojik gözlemlerin yapılması; a) Bitki boyunun ölçülmesi; b) 1000 dane ağırlığının hesaplanması 32
Şekil 3.8. Uygun tomurcuk aşamasının belirlenmesi çalışmaları; a) Farklı boyutlardaki tomurcuklar; b) 1 nolu tomurcuklardan izole edilen mitoz aşamasındaki mikrosporlar; c) 2 nolu tomurcuklardan izole edilen geç tek çekirdek aşamasındaki mikrosporlar; d) 4 nolu tomurcuklardan izole edilen geç çift çekirdekli aşamasındaki mikrsoporlar (polenler) 33
Şekil 3.9. Mikrospor kültürü aşamaları ve mikrospor bölünmeleri 35
Şekil 4.1. Seleksiyon sonucu seçilen bitkilerden görüntüler; a) V53/2 genotipine ait apetal bitki; b) V53/1 genotipine ait petalli bitki; c) V35/2 genotipine ait bitkide kuruma aşamasındaki kapsül çatlaması; d) Apetal özellikteki V53/2 genotipine ait bitkideki kapsül yapısı 37
Şekil 4.2. F_2 bitkilerinden elde edilen populasyonlardaki petal farklılıkları; a-d) Petalli F_2 bitkisi ve petali; b-e) Yarı petalli F_2 bitkisi ve petali; c-f) Apetal F_2 bitkisi ve tomurcuğu 38
Şekil 4.3. 2024 İlkbahar-yaz döneminde yetiştirilen F_3 bitkilerinden görüntüler; a) kendileme işlemi yapılan F_3 bitkileri, b) yarı petalli F_3 bitkisi 40
Şekil 4.4. F_3 bitkilerinin petal tipleri; a) 97 numaralı apetal olan F_2 bitkisinden elde edilen apetal F_3 progenisi; b) 27 numaralı yarıpetalli olan F_2 bitkisinden elde edilen yarıpetalli F_3 progenisi 44

Şekil 4. 5. *V. hispanica'*da apetal çiçek karekteri kalıtımının punnet karesi 45
Şekil 4.6. F1 melezleme sonucu tohum bağlayan kapsüllerden görüntüler..... 46
Şekil 4.7. V53/2 ve V53/1 melezi ve ebeyenlerinin bitki gelişim aşamasındaki görüntüsü..... 50
Şekil 4.8. V8 x V46 melezi ve ebeveynlerinin çiçek dönemindeki görüntüleri 51
Şekil 4.9. Farklı melezlemelerden elde edilen F_1 bitkilerinin ebeveynlere kıyasla petal özellikleri bakımından farklılıkları..... 51
Şekil 4.10. Gövde erimesi olan bitkilerden görüntüler..... 55
Şekil 4.11. F_2 bitkilerinden görüntüler; a) Petalli ve apetalli bitki, b)Petalli ve yarıpetalli bitki 56
Şekil 4.12. I. Grup anter kültürü sonucu elde edilen direkt embriyolar..... 82
Şekil 4.13. I. Grup anter kültürü sonucu elde edilen kalluslar ve sürgünler..... 83
Şekil 4.14. II. Grup anter kültürü sonucu elde edilen direkt embriyo ve kotiledon aşamasındaki embriyolar..... 87
Şekil 4.15. II. Grup anter kültürü denemelerinde oluşan embriyolar ve gelişimleri 90
Şekil 4.16. Elde edilen direkt embriyoların rejenerasyon ortamındaki gelişimleri 92
Şekil 4.17. III. Grup anter kültürü denemelerinde elde edilen direkt ve indirekt emriyolar 93
Şekil 4.18. I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde V53 genotipinde farklı ortamlarda kültüre alınan mikrosporlardan elde edilen embriyolar; A) pH: 5.9 (Kontrol); B) pH:5.9 + 200 mg /Timentin; C) pH:6.5; D) pH: 6.5 + Aktif karbon 96
Şekil 4.19. I.Grup mikrospor kültürü denemeleri kapsamında elde edilen embriyolar; a-b) Globular embriyolar, c-d) kotiledon embriyolar. 98
Şekil 4.20. II. Grup mikrospor denemelerinde 3 nolu indüksiyon ortamında (CHB) elde edilen embriyolar..... 101
Şekil 4.21. III. Grup mikrospor kültürü çalışmaları sonucu elde edilen embriyolar ... 102
Şekil 4.22. I. Grup anter kültürü denemeleri sonucu rejenerasyon ortamına alınan kalluslardan gelişen sürgünler..... 103
Şekil 4.23. II. Grup anter kültürü denemeleri sonucu aklimitizasyon aşamasına gelmiş bitki ve aklimitizasyon edilen bitki 103
Şekil 4.24. I. Grup mikrospor kültürü denemeleri sonucu rejenerasyon ortamına alınan embriyo ve kalluslardan gelişen embriyo ve sürgünler..... 104
Şekil 4.25. I. Grup mikrospor kültürü denemeleri sonucu köklendirme ortamına alınan sürgünler; a) ½ MS ortamına alınan sürgünler (kültüre alındıktan 3 hafta sonra); b) ½ MS + 1 mg /L NAA ortamına alınan sürgünler (kültüre alındıktan 3 hafta sonra); c) ½ MS ortamına alınan sürgünler (kültüre alındıktan 6 hafta sonra) 105
Şekil 4.26. I. Grup mikrospor kültürü denemeleri sonucu bitkilerin aklimitizasyon aşamaları..... 107
Şekil 4.27. II. Grup mikrospor kültürü deneleri sonucu elde edilen sürgünlerin çiçek gelişmleri ve kapsül oluşumu 108

Şekil 4.28. *In vitro* şartlarda yetiştirilen sürgünlerden elde edilen kapsüller; a) Tohum içermeyen kapsül (V8 genotip); b) Tohum içeren kapsül (V42 genotip); c) *In vitro* kuşullarda elde edilen tohumlar (V42 genotip) 109

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Androgenesis çalışmalarında kullanılan genotipler ve bu genotiplerin yetiştirilme dönemleri 22
Çizelge 3.2. Androgenesis indüksiyonu denemelerinde kullanılan temel besin ortamı ve içerikleri (mg/L) 23
Çizelge 3.3. I. Grup anter kültürü denemesinde kullanılan indüksiyon ortamları 24
Çizelge 3.4. II. Grup anter kültürü denemelerinde kullanılan indüksiyon ortamları 24
Çizelge 3.5. I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde kullanılan ortamların içerikleri..... 25
Çizelge 3.6. II. Grup mikrospor kültürü denemelerinde kullanılan ortamların içerikleri 25
Çizelge 3.7. Androgenesis çalışmalarında kullanılan kimyasalların stok çözelti bilgileri 26
Çizelge 3.8. 2023–2025 yılları arasında Antalya'da farklı generasyonların yetiştirme sezonlarına ait iklim verileri (MGM, 2026)..... 26
Çizelge 4.1. 2023 Sonbahar-2024 kış döneminde yetiştirilen bitkilerden ki kare analizi 39
Çizelge 4.3. F_2 bitkilerinden elde edilen F_3 progenilerinde petal tiplerine göre fenotipik dağılım 41
Çizelge 4.3'ün devamı 42
Çizelge 4.4. F_2 yarıpetalli bitkilerin kendilemelerinden elde edilen F_3 progenilerinde petal tipi için ki-kare analizi 43
Çizelge 4.5. F_2 petalli bitkilerin kendilemelerinden elde edilen F_3 progenilerinde petal tipi için ki-kare analizi 43
Çizelge 4.6. 2022 sonbahar-2023 kış döneminde melezleme yapılan ebeveyn genotipler ve F_1 tohum sayıları 47
Çizelge 4.7. 2023 ilkbahar-yaz döneminde seraya ekimi yapılan ebeveynler 48
Çizelge 4.8. 2023 sonbahar-2024 kış döneminde ebeveyn olarak kullanılan genotiplerin çimlenme oranları 48
Çizelge 4.9. 2023 sonbahar-2024 kış döneminde ekimi yapılan F_1 tohumlarının çimlenme oranları 49
Çizelge 4.10. V6 ve V35/1 genotipleri ile yapılan melezleme sonucu elde edilen tohumlar 50
Çizelge 4.11. BC melezlemeleri sonucu elde edilen tohum sayıları ve seraya dikilen fide sayıları 52
Çizelge 4.12. 2024 yılı sonbahar-2025 kış döneminde yetiştirilen BC_1F_2 bitkilerinin petal bakımından farklılıkları..... 54
Çizelge 4.13. 2024 ilkbahar-yaz döneminde F_2 bitkilerinin çimlenme yüzdeleri..... 55
Çizelge 4.14. F_1 bitkilerinin kendilenmesi sonucu elde edilen F_2 bireylerinde petal tiplerinin fenotipik dağılımı 56
Çizelge 4.15. F_3 tohumlarının çimlenme sayıları 57

Çizelge 4.16. V8 x V6 ve V8 x V35/1 genotiplerinden elde edilen F_2 bitkilerin çimlenme oranları 57
Çizelge 4.17. Ebeveynere ait çimlenme ve hasat tarihleri 58
Çizelge 4.18. F_4 ve BC_1F_3 bitkilerinin ait çimlenme ve hasat tarihleri 61
Çizelge 4.18' in devamı... 62
Çizelge 4.19. Ebeveyn genotiplerin bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler 63
Çizelge 4.20. Ebeveyn genotipler (V8, V46), (B4/5-F_4) ve backcross hattı (40-1 BC_1F_3) genotiplerinin bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler. 64
Çizelge 4.21. Ebeveyn genotipler (V8, V42) ve (B5/3-F_4) hattının bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler 65
Çizelge 4.22. Ebeveyn genotipler (V8, V42/2) ve (B2/5-F_4) hattının bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler 66
Çizelge 4.23. Ebeveyn genotipler (V8, V57) ve (B3/4-F_4) hattının bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler 67
Çizelge 4.24. Ebeveyn genotipler (V8, V6) ve (H1-F_3) hattının bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler 67
Çizelge 4.25. Ebeveyn genotipler (V53/2, V8) ve (C3-F_4) hattının bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler 68
Çizelge 4.26. Ebeveyn genotipler (V53/2, V53/1), (97-F_4)ve backcross (18-A - BC_1F_3) genotiplerin bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler 69
Çizelge 4.27. Ebeveyn genotipler (V53/2, V42), (C4-F_4)ve DH V42 genotiplerin bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler 69
Çizelge 4.28. Ebeveyn genotipler (V53/2, V46), (C5-F_4)ve backcross (32-1A - BC_1F_3) genotiplerin bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler 70
Çizelge 4.29. Ebeveyn genotipler (V53/2, V49/2) ve (C7/2-F_4) hattının bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler 71
Çizelge 4.30. Ebeveyn genotipler (V53/2, V35/2) ve (C1-F_4) hattının bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler 71
Çizelge 4.31. Ebeveyn genotipler (V53/2, V57), (C6-F_4)ve backcross (42-1-A - BC_1F_3) genotiplerin bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler 72
Çizelge 4.32. Ebeveyn genotiplerin hasat sonrası verim ve verim bileşenlerine ait agronomik özellikleri 73
Çizelge 4.33. V8 ebeveyni, farklı ebeveyn genotipleri ve bu genotiplerden elde edilen F_4 ve BC hatlarının hasat sonrası agronomik özellikleri 74
Çizelge 4.34. V53/2 ebeveyni, farklı ebeveyn genotipleri ve bu genotiplerden elde edilen F_4 ve BC hatlarının hasat sonrası agronomik özellikleri 77

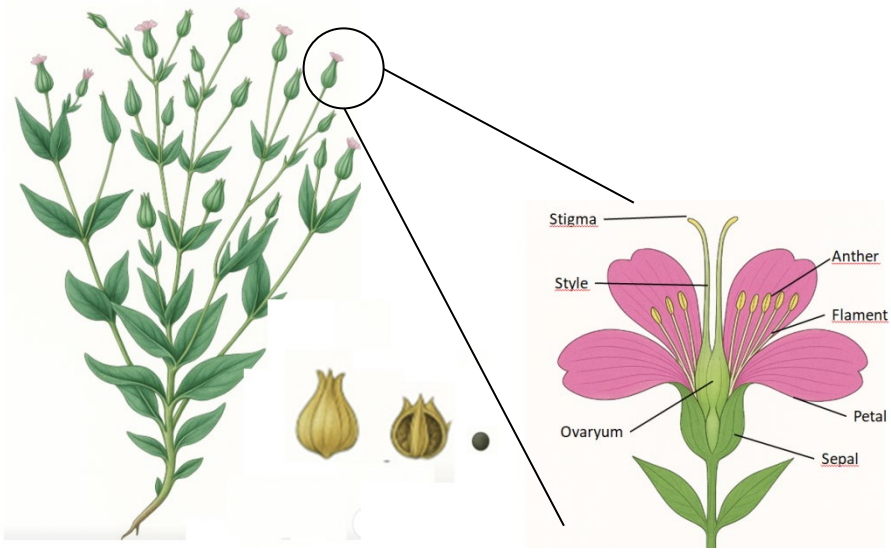
Çizelge 4.35. I. Grup anter kültürü denemelerinde genotip ve indüksiyon ortamlarının kallus, embriyo ve sürgün sayısı / 100 anter üzerine etkileri 80
Çizelge 4.36. I. Grup anter kültürü denemelerinde genotip x ortam interaksiyonunun kallus, embriyo ve sürgün sayısı / 100 anter üzerine etkileri* 81
Çizelge 4.37. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip ve ortamların kallus oluşturan anter sayısı/100 anter üzerine etkileri* 83
Çizelge 4.38. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip x ortam interaksiyonunun kallus oluşturan anter sayısı/100 anter üzerine etkileri* 84
Çizelge 4.39. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip ve ortamların direkt embriyo sayısı / 100 anter üzerine etkileri 86
Çizelge 4.40. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip x ortam interaksiyonunun direkt embriyo sayısı / 100 anter üzerine etkileri* ... 87
Çizelge 4.41. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip ve ortamların indirekt embriyo sayısı / 100 anter üzerine etkileri 88
Çizelge 4.42. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip x ortam interaksiyonunun indirekt embriyo sayısı / 100 anter üzerine etkileri* 89
Çizelge 4.43. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip ve ortamların sürgün sayısı / 100 anter üzerine etkileri 90
Çizelge 4.44. II. Grup anter kültürü denemlerinde genotip x ortam interaksiyonunun sürgün sayısı / 100 anter üzerine etkileri* 91
Çizelge 4.45. III. Grup anter kültürü denemelerinde farklı genotiplerin kallus oluşturan anter sayısı, direkt ve indirekt embriyo sayısı /100 tomurcuk üzerine etkileri* 92
Çizelge 4.46. I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde genotip ve ortamların embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri 94
Çizelge 4.47. I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde genotip x ortam interaksiyonunun embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri* 95
Çizelge 4.48. I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde genotip ve ortamların kotiledon embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri 97
Çizelge 4.49. I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde genotip x ortam interaksiyonunun kotiledon embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri* 97
Çizelge 4.50. I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde V57 genotipinde arabinogalaktan proteinlerinin embriyo sayısı ve kotiledon embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri* 98
Çizelge 4.51. II. Grup mikrospor kültürü denemelerinde genotip ve ortamların embriyo sayısı ve kotiledon embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri* 99

Çizelge 4.52. II. Grup mikrospor kültürü denemelerinde genotip x ortam interaksiyonunun embriyo sayısı ve kotiledon embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri* 100
Çizelge 4.53. III. Grup anter kültürü denemelerinde farklı genotiplerin embriyo sayısı ve kotiledon embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri* . 102
Çizelge 4.54. Aklimatizasyonu yapılan genotipler ve bitki sayıları 106

1. GİRİŞ

Küresel nutrasötik pazarı, 2024 yılında 105,15 milyar ABD doları iken, 2029 yılına kadar 136,13 milyar ABD dolarına ulaşması öngörülmektedir (Markets & Markets 2022). Nutrasötik pazarının büyümesi; tüketicilerde her geçen gün yaygınlaşan sağlık bilincine bağlı artan gıda talebindeki büyümeden kaynaklanmaktadır. Nutrasötik pazarında son zamanlardaki popüler bitkilerden birisi de içeriğinde yüksek oranda nişasta, saponin ve çeşitli fitokimyasalları içeren *Vaccaria hispanica* (Mill) Rauschert'tir (Kernan ve Ferrie 2006). *V.hispanica*'nın en değerli bileşenleri çoğunlukla tohumlarında bulunur ve bu türün tohumları %60-65 nişasta, %11-14 protein, %10-11 lif, %9-11 kül, %3-4 yağ, %2-4 saponinler, %0,4-1 fenolikler ve % 0,3-1 oranında da siklopeptidler içerir (Balsevich 2008; Çam 2018).

V. hispanica, Caryophyllaceae familyasına ait, boyu genellikle 70 cm'ye kadar ulaşabilen tek yıllık otsu bir türdür. Bitki dik bir gelişim gösterir; gövde çoğunlukla üst kısımlarda dallanır, boğumlar belirgindir ve yapraklar karşılıklı dizili, sapsız, tüysüz**,** kenarları düz, mızraksı-yumurta biçimli yapıda olup gövdeyi kısmen kavrar (Memon vd. 2013). Çiçekler hermafrodit olup, beş taç yapraklıdır ve iki stilusu bulunur. Çiçek durumu (inflorescence) bitkinin üst kısımlarında yoğunlaşan, eksen boyunca karşılıklı dallanarak yayılan ve her bir yan dal üzerinde kısa saplı çok sayıda çiçek taşıyan geniş, çok dallı bir yapıdır; düzenleniş çoğu kez iki çatallı (dikaz/dichasial**)** salkım biçimindedir (Cullen 1967). Çiçekler genellikle pembe tonlardadır ve populasyon ile çevresel koşullara bağlı olarak açık–koyu pembe arasında değişim gösterebilir (Arı vd. 2022a). Tohumlar şekil ve büyüklük bakımından kanola tohumlarına benzeyen küçük ve sert yapılı haldedir (Mazza vd. 1992). Kök sistemi belirgin bir kazık kök yapısı sergiler ve genç dönemde hızlı gelişerek bitkiye kurak koşullara karşı dayanıklılık kazandırır (Fletcher 1897; Duddu vd. 2015).



Şekil 1.1 *Vaccaria hispanica* bitkisi ve çiçek yapısının genel görünümü (Orijinal: A. İzmirli)

V. hispanica'dan elde edilen nişastalar ince taneli (0.5 – 1.5 µ) ve kremsi bir yapıda olduğundan arzu edilen üstün yapısal kaliteyi sağlamakta, bu özelliğinden dolayı da kozmetik ve gıda sektöründe kullanılabilmektedir (Ferrie vd. 2009; Arı vd. 2016). *V.hispanica'*yı önemli kılan diğer bir bileşen içeriğinde bulunan saponin bileşikleridir (Balsevich 2008). Saponinler, endüstriyel sanayide köpürtücü özelliğinden dolayı sabun, deterjan yapımında, yangın söndürme köpüğü ve madenlerden ağır metallerin ayrıştırılmasında; gıda sanayisinde içeceklerde köpürtücü olarak, tahin helvası, köpük helvası ve lokum yapımında; tıbbi olarak ise ilaç yapımında ve aşı katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bu türün tohumlarında bulunan siklopeptid bileşenleri; antifungal, antibakteriyel ve antiviral özellikte (Condie vd. 2011) olup, son çalışmalar kanser önleyici, iltihap önleyici, tromboz önleyici ve idrar söktürücü özelliklerinden dolayı ek tıbbi uygulamaları üzerinde durulmaktadır (Ferrie vd. 2009; Arı vd. 2016).

Tıbbi amaçlı kullanımdan gıdaya, kozmetikten endüstriye kadar birçok sektörde kullanım potansiyeli olan bu türdeki çalışmalar Kanada'da yoğunlaşmıştır. Kanada'da 2003 yılında kurulan SAPONIN şirketi tarafından mikrospor kültürü yoluyla "PRAIRIE CARNATION" adlı doubled haploid bir çeşit geliştirilerek, bu türün tohum üretimi çiftçilere sözleşmeli olarak yaptırılmıştır. Şirket, yaptığı çalışmalar sonucunda geliştirdiği ürünlerini de ilk olarak 2008 yılında piyasaya sürmüştür (Oelck, 2008; Arı vd., 2016). 2011 yılında devralınan bu şirket (Willenborg vd. 2013) 2012 yılından itibaren "Canadian Carnation BioProducts Company (CCC)" adı altında nişasta, saponin ve peptid içerikli ürünlerin ticaretini yapmaya devam etmekte ve daha verimli, hastalıklara karşı dirençli ve özel siklopeptid içeriği daha yüksek hatlar elde etmek için çalışmalarını sürdürmektedir (Anonim 2022).

Türkiye'deki bitkisel saponin üretimi çöven (*Gypsophila* sp.) bitkilerinin köklerinden elde edilmekte ve ihracatı da çöven kökleri ve son zamanlarda çöven suyu şeklinde yapılmaktadır. 2007-2017 yılları arasında 55,167 - 890,195 dolarlık ihracat değeri değişiklik gösteren çövenlerin, 2017 yılında ise ihraç değeri 683,261 dolar olmuştur (Kurt ve İmren 2018). Bazı çöven türlerinin endemik ve büyük çoğunluğunun da doğadan orman köylüleri tarafından bilinçsiz bir şekilde sökülmesi, endemik olan türlerin neslinin tükenme tehlikesini artırmakta ve sürdürülebilir ekonomik kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu nedenle, çöven bitkilerinin kültürel üretiminin yapılması veya bu bitkilere alternatif olarak saponin yönünden zengin bitkilerin bulunması önerilmektedir (Özçelik ve Yıldırım 2011; Arı vd. 2016) Türkiye'deki *V. hispanica* genotiplerinin ıslah edilerek saponin içeriğinin artırılması durumunda çövenlere alternatif bir saponin bitkisi olabileceği belirtilmiştir (Arı vd. 2016). Bu türün gerekli ıslah metotları kullanılarak tohumlarının diğer önemli bileşenlerinin de iyileştirilmesi, yüksek tohum verimi, erkencilik, apetal çiçek karakter, hastalık ve zararlılara karşı direnç gibi yetiştiricilikte önemli olan özelliklerin de kazandırılmasıyla ve verim ile kalitenin arttırılmasıyla, vejetasyon süresi yaklaşık 3- 3.5 ay olan *V. hispanica* yetiştiriciliğinin yapılması ve yaygınlaştırılması potansiyeli yüksek görülmektedir.

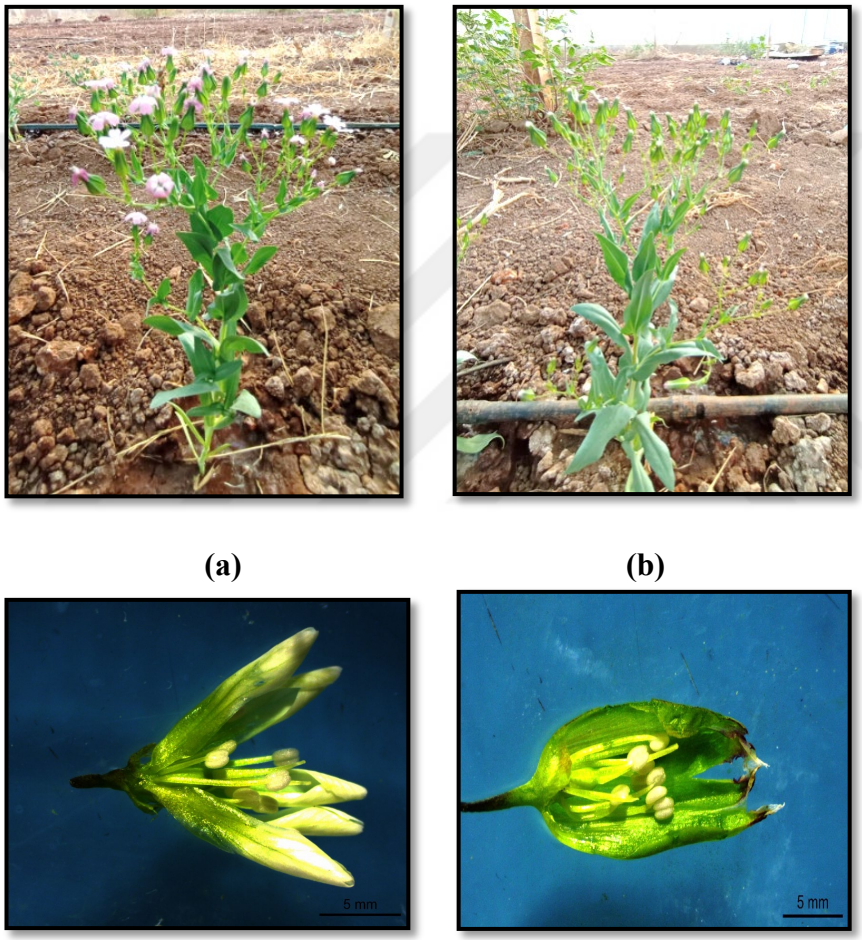
Bitkisel üretimde erkencilik; küresel ısınmanın etkisiyle iklim şartlarında meydana gelen değişimlerden dolayı artan sıcaklık ve kuraklık stresinin önlenmesinde önemli bir role sahiptir. Ayrıca erkencilik ile vejetasyon süresi kısaldığından, vejetasyon süresi kısa olan türlerin yüksek rakımlı bölgelerde sonbahar erken donlarından zarar görmesi engellenirken, kıyı ve geçit iklime sahip bölgelerde ise özellikle buğday hasadından sonra ikincil ürün olarak (Haziran-Ekim arası) bitkisel

üretim yapılabilmektedir. Çoğu bitki türünün uzun üretim süresinin sıcaklık ve kuraklık stresinden etkileneceği, gelecekteki gıda taleplerinin karşılanmasında ve ıslah araştırmalarının uygulanmasında bir darboğaz oluşturacağı düşünülmektedir (Ghosh vd. 2018). Doku kültürü tekniklerinden biri olan embriyo kurtarma tekniği ve Speed Breeding teknolojisi ile bazı bitki türlerinde kısa vejetasyon süresine olanak sağlanmakta, ancak uzmanlık becerisi ve yüksek maliyetler nedeniyle bu tekniklerin her yerde kullanılması sınırlı kalmaktadır. Bu nedenle, daha ucuz ve daha kolay erişilebilir olan genetik yönden erkenci çeşitlerin geliştirilmesi gerekmektedir (Sarı vd. 2021).

Özellikle tohumu endüstride kullanılan türler için bitkisel üretimde önemli olan diğer parametreler yüksek tohum verimliliği ve bazı farklı özelliklerdir. Örneğin birçok çalışmada Apetal çiçek karakteri, yüksek verimlilik ideotipinin bir bileşeni olarak kabul edilmiştir (Mendham vd. 1991; Fu vd.1991,1996; Habekotte 1997; Zhang vd. 1998; Zhao ve Wang 2004; Zhou vd. 2008). *Brassica napus*'ta yapılan çalışmalarda apetal çiçek karakterinin, bitkide daha iyi bir ışık dağılımı sağlayarak daha verimli fotosentez ve daha düşük bir Sclerotinia hastalığı indeksi sağladığı bildirilmiştir (Lu ve Fu 1990; Jiang 2001; Zhao ve Wang 2004; Young ve Werner 2012). Sclerotinia; tarla bitkileri, meyve bitkileri, süs bitkileri, ağaçlar, çalılar ve çok sayıda yabani ot dâhil olmak üzere dünya çapında 500'den fazla bitki türünü enfekte eden bir fungustur (Saharan vd. 2008). Doğrudan yaprak yüzeyinde çimlenemeyen Sclerotinia askosporları (Jamaux ve Spire 1999), bitkilerin toprak üstü kısımlarında, özellikle ilk enerji kaynağı olarak hizmet eden petallerde filizlenir ve petaller bitkiyi enfekte etmek için birincil inokulum kaynağıdır (Krüger 1975; Jiang 2007; Saharan vd. 2008; Reich ve Syama 2022). Petalleri enfekte eden funguslar, uzun süreli serin ve nemli ortamlarda bitkide yayılarak semptomları arttırır ve konukçunun besinini tüketerek ekonomik kayıplara neden olur (Reich ve Syama 2022). Ekonomik olarak şimdiye kadar serin/soğuk iklim koşullarında yetiştirilen *V. hispanica* türünde Sclerotinia hastalığına ilişkin bugüne kadar literatürde herhangi bir rapor bulunmamaktadır. Bu çalışmanın ıslah aşamalarında yetiştirilen *V. hispanica* bitkilerinde Sclerotinia hastalığının ilk kez tespit edilmesiyle, türün ılıman iklim koşullarında da söz konusu patojene duyarlı olabileceği ortaya konulmuştur (Izmirli vd. 2026). Benzer şekilde, aynı familya üyesi *Dianthus caryophyllus* türünde de bu hastalık Arjantin'de (Carranza 2003) ve Hindistan'da (Kumar vd. 2015) bildirilmiştir Petallerin hastalığın yayılmasındaki rolü sadece Sclerotinia ile sınırlı olmayıp, aynı zamanda çiçeklenme sırasında veya çiçeklenmeden kısa bir süre sonra semptomlara neden olan *Botrytis cinierea* ve *Peronospora parasitica* gibi diğer bazı patojenler içinde geçerlidir. Bunların sporlarının petallerde çoğaldığı, en çok apetal çiçeklere sahip bitkilerin bu hastalıklardan korunma avantajına sahip olabileceği belirtilmiştir (Jiang 2007).

Bitkilerde belirli bir özelliği kontrol eden karakterin; kalitatif veya kantitatif gen etkisini, genler arasındaki linkagelik (bağlantı) durumunu, birbirinin alleli olan veya olmayan genler arasındaki interaksiyonlarını, genin pleotropik etkisini ve genlerin maternal/sitoplazmik etkisi gibi kalıtsal özelliklerini bilmek ıslah çalışmalarında çok önemlidir. Tohum rengi ve şekli gibi Mendel kalıtımı olan karakterlerin ıslahı kolayken, tohum verimi gibi kalıtımı çok sayıda, ancak her birinin etkisi zayıf olan genlerle idare edilen karakterlerin ıslahı daha zor ve uzun zaman almaktadır. Apetal çiçek karakterinin kalıtımını belirlemek için şimdiye kadar yapılan çalışmalar Brassica türlerinde yoğunlaşmış ve karakterin doğada kendiliğinden meydana gelebildiği, tür içi/türler arası

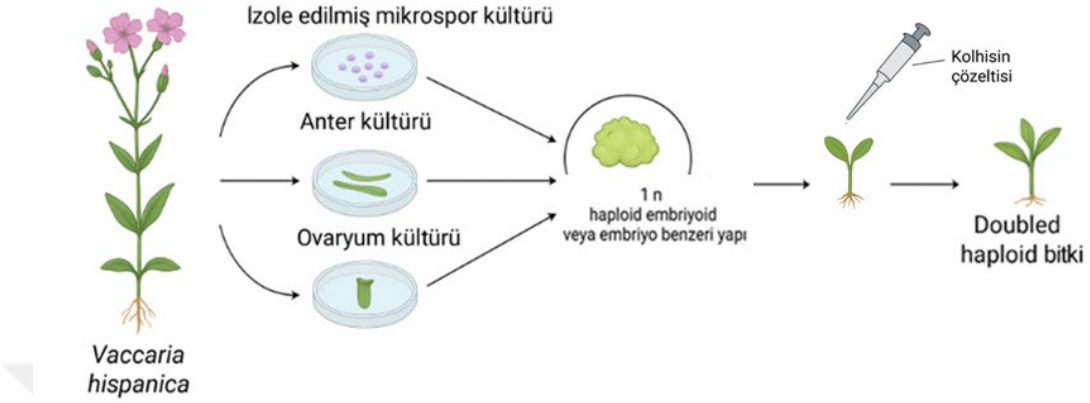
melezleme veya kimyasal mutajenez yoluyla da yapay olarak meydana getirilebildiği belirtilmiştir (Jiang 2007). *Brassica rapa'*da apetal çiçek karakter özelliğinin kalıtımının 1 lokus (Ramanujum 1940; Singh 1961; Cours ve Williams 1977.), *B. napus*'ta 2 lokus (resesif) (Buzza 1983; Rakow ve Se´guin-Swartz 1999) ve 4 lokus (Lu ve Fu 1990) tarafından kontrol edildiği belirtilirken, ayrıca karakterin kalıtımında sitoplazmik etkinin de olduğu ve erkek kısırlığı ile bağlantılı olduğu rapor edilmiştir (Zhang vd. 2005). Farklı bir bitki türü olan *Capsella bursa-pastoris* de ise apetal özelliğin 2 lokus tarafından kontrol edildiği belirtilmiştir (Klepikova vd. 2021). *V. hispanica*'da yapılan bir çalışmada (Arı vd. 2016), Türkiye'de farklı bölgelerden toplanan 66 genotip içerisinden bir genotipin apetal çiçek karakterinde olduğu belirlenmiş olup, ancak özelliğin kalıtımının nasıl gerçekleştiği şimdiye kadar ortaya konulmamıştır.



Şekil 1.2 Petal bakımından farklı *V. hispanica* bitkileri: (a, c) Petalli *V. hispanica* bitkisi, ve çiçek yapısı (b, d) Apetal *V. hispanica* bitkisi ve çiçek yapısı (orjinal)

Bitkilerde çeşitli özellikleri (erkencilik, apetal çiçek karakteri vb.) istenilen düzeyde değiştirmek için çeşitli ıslah yöntemleri kullanılmaktadır. Önemli ıslah metotlarından birisi olan doubled haploid (DH) teknolojisinde; bir genotipi saflaştırmak için gerekli olan 7-8 generasyon yerine sadece bir generasyonda 100 % homozigot hatlar elde edilmekte, ayrıca geriye melezleme sırasında kullanımı ile de yeni

özelliklerin hızlı bir şekilde genotiplere dâhil edilmesine olanak sağlanmaktadır. Bu teknoloji ile ayrıca nitel özelliklerin genetik haritalanması ve resesif özelliklerin ortaya çıkartılmasına olanak sağlanmaktadır (Seguí-Simarro 2010).



Şekil 1.3. *In vitro* haploid bitki elde etme yöntemleri (orjinal: A. İzmirli)

DH tekniklerinden biri olan mikrospor kültürü (izole edilmiş mikrospor kültürü), anterin içinde gelişen mikrosporların anterlerden izole edildikten sonra *in vitro* koşullarda sıvı besin ortamlarında kültüre alınmasıdır. Kültüre alınan mikrosporlar belirli stres faktörlerine maruz bırakılarak önce direkt embriyolar elde edilmekte, sonra da bu embriyoların rejenerasyonu ile H/DH bitkiler elde edilmektedir. Elde edilen bitkilerin kromozom sayıları donör bitkinin kromozom sayısının yarısı kadar ise yani haploid (H) ise kromozom katlama işlemi yapılarak DH bitkiler elde edilmektedir. Bazı bitkilerde kültür içerisinde kendiliğinden (spontan) katlanma gerçekleştiği için kromozom katlama işlemine gerek kalmamaktadır. Bazı türlerde spontan katlama oranı yüksekse kromozom katlama işlemine gerek duyulmayabilmektedir. Mikrospor kültüründe; mikrosporların kültür ortamındaki besinlerden daha iyi faydalanması, elde edilen embriyoların diploid karakterlerde olma riskini taşımaması gibi özellikler diğer haploid tekniklere göre avantaj sağlar (Ferrie ve Caswell 2011). Ayrıca yüksek verim potansiyeli nedeniyle son zamanlarda bu teknik üzerine çalışmalar yoğunlaşmakta ve tekniğin etkinliği arttırılmaya çalışılmaktadır.

İzole edilmiş mikrospor kültürü ilk kez *Brassica napus*'da, 1982 yılında Lichter tarafından yapılmış ve bu tarihten sonra; *Hordeum vulgare* (Hoekstra vd. 1993), *Triticum aestivum* (Mejza vd. 1993) *Nicotiana tabacum* (Touraev vd. 1996), *Solanum melongena* (Miyoshi 1996) ve *Malus domestica* (Höfer 2004) gibi birçok farklı bitki türlerinde çalışmalar yapılmış, çalışmalardan direkt veya indirekt yoldan H/DH bitkiler elde edilmiştir.

V. hispanica'da ise mikrospor kültürü çalışması (Ferrie vd. 2005) ilk olarak 2005 yılında rapor edilmiştir. Söz konusu çalışmada 80 den fazla baharat ve nutrasötik bitki türünün haploid performansı, Lichter (1982) tarafından geliştirilen mikrospor kültür protokolü ile test edilmiş ve bu türlerin çoğu tepkisiz kalırken, *V. hispanica*'nın embriyo veriminin 26/ 100 tomurcuk olduğu belirtilmiştir (Ferrie vd. 2005). Bu çalışmadan 1

sene sonra aynı araştırma grubu tarafından uygun bir protokol geliştirilerek yayınlanan çalışmada ise 50.000 mikrospor/ml yoğunluktaki kültürden elde edilen embriyo veriminin 352/100 tomurcuk olarak gerçekleştiği bildirilmiş (Kernan ve Ferrie 2006) ve daha sonra bu protokole patent alınmıştır (Ferrie vd. 2009). Türkiye'deki 66 *Vaccaria hispanica* genotipinin androjenik yeteneğini belirlemek için yapılan mikrospor kültürü çalışmasında ise 25.000 mikrospor/ml yoğunluktaki kültürlerde en yüksek embriyo verimi 300.6/100 tomurcuk olarak gerçekleşmiştir (Arı vd. 2022b).

Mikrospor kültürü çalışmalarında başarıyı etkileyen en önemli faktörün başında donör bitkilerin genotipi gelmekte ve bir tür içindeki farklı çeşitlerin, genotiplerin farklı tepkiler sergiledikleri birçok çalışmada belirtilmiştir (Dunwell 2010). Örneğin; Türkiye'deki 66 *V. hispanica* genotipinde yapılan mikrospor kültürü çalışmasında 66 genotip arasından 3 genotip hiçbir tepki göstermezken, 63 genotipte embriyo oluşumu gerçekleş, bu genotiplerin embriyo veriminin 2.6/100 tomurcuk ila 300.6/100 tomurcuk arasında değiştiği belirtilmiştir (Arı vd. 2022b).

Öte yandan, haploid bitki elde edilmek istenen fakat embriyo oluşturma başarısı düşük genotipleri, embriyo oluşturma başarısı yüksek genotipler ile melezleyerek, melez döllerden az veya daha çok embriyo elde etmek mümkün olabilmektedir. Ayrıca embriyo oluşturma başarısı düşük genotiplerin, kültür koşullarının optimizasyonunu sağlayarak da embriyo verimliliği artırmak mümkün olabilir (Ellialtıoğlu vd. 2001).

Mikrospor kültürlerinde donör bitkilerin yetiştirilme durumu, mikrosporların uygun aşaması, mikrospor yoğunluğu, tomurcuklara veya anterlere uygulanan ön muamele ve stres işlemleri, kültür ortamı ve bileşenleri de embriyo indüksiyonunu ve verimliliği etkiler. Donör bitkilerin yetiştirildiği sıcaklık önemli olup, kültürün farklı aşamalarındaki farklı sıcaklık stresleri daha yüksek bir mikrospor embriyogenesis frekansı ile sonuçlanabilmektedir (Ferrie ve Caswell 2011*). V. hispanica*'da yapılan mikrospor kültür çalışmasında; donör bitkilerinin 20/15 ºC (gündüz/gece) de yetiştirilen bitkilerden elde edilen embriyo verimi, 5/10 C (gündüz/gece) yetiştirilen bitkilerden daha yüksek bulunurken (Kernan ve Ferrie 2006), bu türde donör bitkilere herhangi ek bir stres uygulaması yapılmamıştır (Ferrie ve Caswell 2011). Bu türün olgunlaşmamış mikrospor tanelerinin gelişiminin eşzamansız olması en uygun mikrospor aşamasını belirlenmesini zorlaştırsa da (Kernan ve Ferrie, 2006), birçok türde olduğu gibi geç tek veya erken çift çekirdekli mikrospor aşamaları en uygun evre olup (Ferrie vd. 2005; Kernan ve Ferrie 2006; Arı vd. 2022b; Ferrie ve Ehlert 2021) mikrospor yoğunluğunun ise 25.000/ml olması önerilmektedir (Ferrie ve Ehlert 2021).

Çiçek tomurcuklarının veya anterlerinin soğuk ve sıcak stresleri ile ön muamelesi, birçok bitki türünde mikrospor embriyogenesisini indüklemek için en yaygın uygulanan stres uygulamalarından biridir. Bu stresler tomurcuğa veya antere uygulanabildiği gibi, izole edilen mikrosporların kültüre alınmasından sonra da uygulanabilmektedir (Shariatpanahi vd. 2006). *V. hispanica'*da bu zamana kadar yapılan çalışmalarda tomurcuk veya anterlere herhangi bir stres ile ön stres uygulama işlemi yapılmamış, sadece izole edilen mikrosporlar kültüre alındıktan sonra sıcaklık stresi uygulanmıştır.(Ferrie vd. 2005; Kernan ve Ferrie 2006; Arı vd. 2022b; Ferrie ve Ehlert 2021). Kernan ve Ferrie (2006)'nin kültüre alınan *V. hispanica* mikrosporlarına farklı sıcaklık ve sürelerinin (24°C de süresiz, 30 °C'de 3 gün, 32 °C'de 3 gün ve 35 °C'de 3

gün) etkilerini denediği çalışmada sadece 32 °C'de 3 gün karanlık koşullarında embriyo verimi gerçekleşmiştir.

Anterlerden izole edilen mikrosporların, anter dokularının yokluğunda uygun mikrosporların büyümesi ve gelişimi yalnızca ortam bileşimine bağlı olmaktadır. Bu nedenle, mikrospor kültürü için verimli bir protokol geliştirmek için, ortam bileşimi mikrosporların ihtiyaç duyduğu tüm elementleri içermeli ve bu ortam her türün mikrosporlarının özelliklerine göre ayarlanmalıdır (Seguí-Simarro vd. 2022). *V.hispanica'*da yapılan mikrospor kültürü çalışmalarında, kültür ortamına herhangi BGD ve katkı maddesi eklenmeksizin sadece NLN ortamında etkili sonuçlar alınmasına rağmen, bazı genotiplerde düşük embriyo verimliliğinin artırılması için kültür ortamına bazı kimyasalların eklenmesi ile embriyo verimi arttırılabilir. Son zamanlarda farklı bitkilerde yapılan mikrospor kültürü çalışmalarında çeşitli yöntemler kullanılarak aktif karbon (Prem vd. 2008; Shumilina vd. 2020), metilen mavisi (Chen vd. 2019), antibiyotik (Mineykina vd. 2020) ve putresin (Ahmadi vd., 2014) gibi kimyasal maddelerin eklenmesi ile embriyo verimlerinin arttırıldığı belirtilmiştir. Ayrıca *Brassica rapa*'da sadece ortam pH'sının 5.8'den 6.6 'ya çıkarılması ile embriyo veriminin %66 oranında arttığı, pH'sı 6.6 olan kültür ortamına aktif karbon eklenmesi ile kontrol (pH 5.8 ve aktif karbonsuz) ortamına göre %242.31 oranında embriyo artışı olduğu bildirilmiştir (Shumilina vd. 2020).

Mikrospor kültüründe sıvı kültür ortamlarının kullanılması, agar bazlı yarı katı ortamda gerçekleştirilen anter kültürlerine kıyasla kontaminasyon riskini arttırmaktadır (Seguí-Simarro vd. 2022). Özellikle ortam içeriğine eklenen β-laktam antibiyotiklerinin ortamdaki kontaminasyon riskini azalttığı ve bu antibiyotiklerin embriyo verimini artırabileceği de belirtilmektedir (Mineykina vd. 2020).

Mikrospor kültüründe elde edilen bitkiler haploid veya doubled haploid olarak (spontan olarak) elde edilmektedir. Kısır olan haploid bitkilerin ıslah programlarında kullanılabilmesi için çeşitli kimyasal maddeler ve uygulamalar ile kromozom katlama işlemleri yapılmaktadır. *V. hispanica'*da %50 oranında spontan katlanma gerçekleştiği, kromozom katlama işleminde ise en yaygın kullanılan kolhisinin faydalı olmadığı ve diğer antimitotik kimyasalların değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiştir (Ferrie ve Ehlert 2021).

Bu çalışma ile ülkemizde atıl bir genetik kaynağımız olan *V. hispanica*'da; klasik ıslah yöntemleriyle bitkisel üretimde önemli olan apetal çiçek özelliğinin nişasta, saponin, siklopeptid vb. gibi değerli bileşenleri yüksek genotiplere aktarılması, genetik olarak saf olmayan bu bitkilerden mikrospor kültürü ile kısa sürede %100 homozigot saf hatlar elde edilerek bileşenlerin miktarının artırılması, böylece bu türün agronomik ve fitokimyasal yönden daha yüksek verimlilikte yetiştiriciliğinin yapılmasının önünü açarak ülke ekonomisine kazandırılması hedeflenmektedir.

2. KAYNAK TARAMASI

Apetal bitkilerin verim açısından çeşitli avantajları vardır. *Brassica* cinsinde yapılan çalışmalar; kalın ve parlak renkli çiçeklerin güneş ışınlarının etkin kullanımını engellediğini ve petali bulunmayan çeşitlerde fotosentezin daha verimli gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Böylece apetal bitkilerin normal bitkilerden daha yüksek verim potansiyelleri vardır (Jiang 2007; Young vd. 2012). Ayrıca, apetal bitkilerde *Sclerotinia sclerotiorum* gibi petaller tarafından yayılan hastalıklardan kaynaklanan enfeksiyon oranı da daha düşük olabilir (Zhao 2004; Young ve Werner 2012).

Islah programlarında, bir özelliğin kaç gen tarafından kontrol edildiğinin belirlenmesi, programın buna uygun şekilde tasarlanması açısından önemlidir. Farklı amaçlara yönelik olarak farklı ıslah yöntemleri kullanılabilmektedir. Haploidi ıslahı, tek bir generasyonda homozigot hatların elde edilebilmesi ve sürecin kısa sürede tamamlanabilmesi açısından önemli avantajlar sağlamaktadır.

Bu çalışmada, ıslah açısından önemli bir özellik olan apetal karakterin *V. hispanica*'da kaç gen tarafından kontrol edildiğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, farklı petalli genotipler ile apetal genotipler melezlenmiş ve haploid bitki elde etme tekniklerinden olan androgenesis yöntemleri (anter ve mikrospor kültürü) kullanılarak, tek bir generasyonda doubled haploid (DH) hatların geliştirilmesi hedeflenmiştir. DH hatların elde edilememesi olasılığına karşı, back cross (BC) melezlemeleri yapılarak BC_1F_3 generasyonuna ve her bir F_1 bitkisi kendilenerek F_5 generasyonuna kadar ilerletilmiş ve bu hatlar arasından nişasta ve saponin içeriği yüksek, apetalli yeni çeşitlerin geliştirilmesi planlanmıştır. Böylelikle, ekonomik açıdan önemli olma potansiyeline sahip bu türde yürütülecek ıslah çalışmalarına bilimsel bir altyapı sağlanması amaçlanmıştır. Literatür taramasında, farklı türlerde daha önce gerçekleştirilen benzer çalışmalara aşağıda yer verilmiştir.

2.1. Apetal karakter kalıtımı ile ilgili çalışmalar

Ramanujum (1940), yonca tarlasında rastlantısal olarak keşfedilen apetal bir *Brassica* bireyini tanımlamıştır. Morfolojik olarak *Brassica rapa*'ya (şalgam) oldukça benzeyen bu bitki, çiçeklerinde petallerin tamamen eksik olmasıyla dikkat çekmiştir. Yapılan histolojik incelemelerde, çiçek tomurcuklarında stamenlerin doğrudan sepal halkasını takiben geliştiği, ancak petal halkasının tamamen yok olduğu belirlenmiştir. İlginç şekilde, bu birey hem kendine tozlaşma hem de doğal tozlaşma koşullarında yüksek tohum tutma kapasitesi göstermiştir. Sitogenetik analizler sonucunda kromozom sayısı n = 10 olarak tespit edilmiş ve bu değer, bitkinin *B. rapa* ile aynı genom yapısına sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışma, *Brassica* cinsinde doğal apetal varyantların varlığını ilk ortaya koyan gözlemlerden biri olup, petal gelişiminin genetik kontrolüne yönelik ileri araştırmalara öncülük etmiştir

Buzza (1983), *Brassica napus* (kolza) bitkisinde gözlenen apetal çiçek karakterinin kalıtımını araştırmıştır. F_1, F_2, BC_1P_1 ve BC_1P_2 nesillerinden elde edilen veriler, petali olmayan karakterin eksik baskınlığa sahip iki lokus tarafından kontrol edildiğini göstermiştir. Petalli normal bir bitkinin PPPP ve petali olmayan bir bitkinin ise pppp karakterde olduğu bildirilmiştir. Apetal fenotipin segregasyonu, klasik

Mendel kalıtımına uygun olarak analiz edilmiş ve genetik kontrolün basit olmadığı ortaya konmuştur.

Bowman (1989), *Arabidopsis thaliana*'da çiçek gelişimini spesifik olarak bozan dört çekinik homeotik mutasyon (agamous-1, apetala2-1, apetala3-1 ve pistillata-1) incelemiştir. Her bir çekinik mutasyon, organ gelişiminin sonucunu değiştirmekte ancak organ taslaklarının konumunu etkilememektedir. Gözlemlenen homeotik dönüşümler şu şekildedir: agamous-1'de stamenlerin petallere dönüşmesi; apetala2-1'de sepallere ek olarak petallerin staminoid petallere dönüşmesi; apetala3-1'de petallerin sepallere ve stamenlerin karpellere dönüşmesi; pistillata-1'de ise petallerin sepallere dönüşmesi. Bu mutasyonlardan apetala2-1 ve pistillata-1 organ kaybına yol açarken, agamous-1 genotipinde normalde gynoecium oluşturacak hücrelerin çiçek olarak farklılaştığı görülmüştür. Ayrıca mutasyonlardan ikisinin sıcaklığa duyarlı olduğu belirlenmiştir. Sıcaklık değişim deneyleri, doğal tip AP2 gen ürününün primordium başlangıcı sırasında etkili olduğunu, AP3 gen ürününün ise daha sonraki gelişim evrelerinde aktif rol aldığını göstermektedir. Bulgular, bu dört genin doğal tip alellerinin, gelişen çiçek içinde hücrelerin konumlarını algılamalarını ve buna uygun şekilde farklılaşmalarını sağladığını ortaya koymaktadır. Bu genlerin, çiçek taslağındaki eş merkezli ve örtüşen bölgelerin oluşturulmasında veya bu sinyallere yanıt verilmesinde kritik rol oynadığı ileri sürülmektedir.

Fu vd. (1991), *Brassica napus*'ta apetal çiçek özelliğinin kalıtımı ve bu özelliğin ıslah açısından potansiyelini araştırmıştır. Çalışmada, çeşitli genetik materyaller kullanılarak yapılan çaprazlamalar sonucunda, apetal özelliğin karmaşık kalıtım özellikleri sergilediği ve birden fazla çekinik genin etkileşimiyle kontrol edildiği gösterilmiştir. Araştırmada ayrıca, apetal fenotipin fotosentez etkinliğini artırarak potansiyel olarak verim artışına katkı sağlayabileceği öne sürülmüştür. Apetal bitkilerde, ışığın alt yapraklara daha iyi ulaşması nedeniyle bitki tipi yapısında olumlu değişiklikler gözlemlenmiş, bu durum da ideotip geliştirme açısından değerlendirilmeye alınmıştır.

Kelly vd. (1995), *Brassica napus*'ta apetal çiçek ve dik kapsül özelliklerinin genetik kontrolünü RFLP analiziyle incelemişlerdir. Çalışmada, üç apetal ve iki dik kapsüllü varyantın çiçek morfolojisi incelenmiş; apetal fenotiplerden birinin, iki homolog lokusta yer alan çekinik alellerin epistatik etkileşimi ile, diğer bir tipin ise üç farklı lokustaki alel etkileşimi ile kontrol edildiği belirlenmiştir. Gen haritalama sonuçlarının, fizyolojik etkilerin daha net analiz edilebildiği yarı izojenik hatların geliştirilmesine katkı sağlayabileceği vurgulanmıştır.

Zhang vd. (1998), *Brassica napus*'ta apetal bir hat üzerinde seleksiyon ve değerlendirme çalışmaları gerçekleştirmiştir. Araştırmada, apetal bireylerin seçilerek stabil hatlar hâline getirildiği ve bu hatların morfolojik özellikleri, verim bileşenleri ve potansiyel tarımsal değeri incelenmiştir. Çalışma, apetal hatların özellikle fotosentez etkinliği ve ışık geçirgenliği bakımından avantaj sağlayabileceğini, ancak verim açısından bu avantajın genetik arka plan ve çevre koşullarına bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini vurgulamıştır. Ayrıca, seçilen apetal hatların gelecekteki ıslah programlarında kullanılabilirliği üzerinde durulmuştur.

Jiang ve Becker (1999), *Brassica napus*'ta doğal bir mutant olan ap-Tengbe adlı apetal varyantın kalıtımını incelemiştir. Çalışmalarında, apetal karakterin sitoplazmik genlerle iki çift nükleer genin etkileşimiyle kontrol edildiğini ortaya koymuşlardır. Bu durum, bu özelliğin basit Mendel kalıtımı yerine nükleer-sitoplazmik interaksiyonlarla belirlendiğini göstermektedir. Araştırma, apetal karakterin genetik kontrolünün oldukça karmaşık olabileceğini ve bu özelliğin farklı genetik arka planlarda farklı şekillerde ortaya çıkabileceğini göstermesi açısından önemlidir. Ayrıca, bu çalışmada tanımlanan ap-Tengbe mutantı, gelecekteki ıslah çalışmalarında kullanılabilecek değerli bir genetik kaynak olarak sunulmuştur.

Jiang ve Becker (2003), *Brassica napus L.*'ta apetal çiçek özelliğinin kalıtımını incelemek amacıyla, etil metan sülfonat (EMS**)** ile mutagenez sonucu elde edilen ap-Tengbe mutantı üzerinde çalışmışlardır. Bu mutant, tamamen apetal çiçeklere sahip olup, kontrol genotipi olarak Alman kışlık kolza çeşidi **"**Falcon**"** kullanılmıştır. Çalışmada iki genotip arasında yapılan melezlemeler sonucunda F_1, F_2, BC_1 ve resiprokal generasyonlar oluşturulmuş ve bunlar hem Almanya'nın Göttingen kentinde (ılıman koşullar), hem de Çin'in Hangzhou kentinde (subtropik koşullar) tarla denemelerine alınmıştır. Araştırmada çiçek yapısı, taç yaprak sayısına göre "petal derecesi (PDgr)" değerleriyle değerlendirilmiştir. En az 25 çiçek sayılarak PDgr %0–9 olan bitkiler tamamen apetal, %10–90 arası kısmen apetal ve %90 üzeri normal petalli olarak sınıflandırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre F_1 ve BC_1 generasyonlarında tüm bitkiler normal petalli**,** F_2 ve karşılıklı populasyonlarda ise apetal ve kısmen apetal bireyler görülmüştür. Segregasyon oranları, genetik analizlerle değerlendirildiğinde apetal özelliğin iki nükleer gen (P_1 ve P_2) ile sitoplazmik genler arasındaki etkileşimle kontrol edildiği belirlenmiştir. Tamamen apetal çiçekler yalnızca ap sitoplazmasına (Cap) sahip ve her iki çekirdek genin resesif durumda ($p_1p_1p_2p_2$) olduğu bitkilerde ortaya çıkmıştır. Normal sitoplazmaya sahip (CN) genotiplerde bu özellik tam olarak ekspresyon göstermemiştir. Populasyonlardaki fenotip dağılımları (örneğin 1:2:1 ve 1:6:9 oranları) kuramsal beklentilerle uyumlu bulunmuş; bu da genetik modelin geçerliliğini desteklemiştir. Ayrıca apetal mutantlarda polen üretiminin azaldığı**,** ancak tohum bağlama kapasitesinin korunduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak Jiang ve Becker (2003), *B. napus*'ta apetal karakterin iki çekirdek geni ile sitoplazmik faktörlerin etkileşimi sonucu oluştuğunu ve bu özelliğin stabil, kalıtsal bir karakter olduğunu bildirmiştir. Ayrıca ap-Tengbe mutantının tamamen apetal genotiplerin geliştirilmesinde yararlı bir kaynak olabileceğini, ancak sitoplazmik etkilerin dikkate alınması gerektiğini vurgulamışlardır

Zhao ve Wang (2004), *Brassica napus*'ta (kolza) spontan olarak ortaya çıkan apetal bir mutanta ait kalıtım modelini ve agronomik performansını incelemiştir. Genetik analizler, bu özelliğin yalnızca bir gen lokusu tarafından kontrol edildiğini ve petalli çiçeklerin apetal çiçeklere karşı eksik baskınlık gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca bu özelliğin sitoplazmik faktörlerden etkilenmediği belirlenmiştir. Apetal hat (Apet33-10) ile petalli izogenik hattın (Pet33-10) dört yıl boyunca karşılaştırıldığı denemelerde; verim bileşenleri ve bitki gelişim parametreleri arasında genel olarak anlamlı fark bulunmamış; ancak Sclerotinia hastalığının yoğun olduğu yıllarda, Apet33-10 hattı daha düşük hastalık şiddet indeksi göstermiş ve buna bağlı olarak daha yüksek verim elde edilmiştir. Apet33-10'un ana sapta kapsül sayısı düşükken, yan dallarda daha fazla kapsül oluşturduğu gözlenmiştir.

Palmer vd. (2004), *Glycine max* (L.) Merr. türüne ait "T368" genetik tipi, apetal ve erkek kısır bir mutant hat olarak bildirilmiştir. Bu hat, 'SRF 200' × ('SRF 300' × 'Tracy') melezinin F_{12} generasyonunda tek bir bitkide ortaya çıkmıştır. Daha önceki genetik analizlerde (Skorupska vd., 1993), apetal ve erkek kısırlık karakterlerinin tek bir resesif nükleer gen tarafından kontrol edildiği belirlenmiştir. Morfolojik olarak, mutant çiçeklerde standart petal, lateral kanat ve kayıkçık yaprakçıklarının bulunmadığı; bunun yerine uzamış, sepal benzeri bir çiçek örtüsünün geliştiği saptanmıştır. Androkeumdaki gelişim bozuklukları belirgin olup, çiçeklerin çoğunda yalnızca 2–4 stamen oluştuğu ve normal bir stamen kolonunun meydana gelmediği gözlemlenmiştir. Erkek kısırlığın, tapetum tabakasındaki işlev bozukluğundan kaynaklandığı ifade edilmiştir. Segregasyon gösteren populasyonlarda apetal çiçeklenme ve erkek kısırlık karakterlerinin birlikte kalıtıldığı, bu durumun pleiotropik bir etkinin sonucu olabileceği ileri sürülmüştür. Bu çalışma, soya bitkisinde apetal-mutasyonun genetik kontrolü ve morfolojik etkilerini ayrıntılı biçimde ortaya koyan ilk kapsamlı rapor olma niteliğindedir.

Chen vd. (2006a) tarafından yürütülen çalışmada, *Brassica napus* L. (yağlık kolza) türünde apetal özelliğini kontrol eden gen(ler)in moleküler markörlerle ilişkisinin saptanması ve kromozomal haritalanması amaçlanmıştır. Bu kapsamda, apetal hat "APT02" ile normal petalli kültür çeşidi "ZS No.4" arasında yapılan melezleme sonucunda elde edilen F_2 populasyonu kullanılmıştır. Araştırmacılar, bu populasyonda segregasyon gösteren bireyler üzerinden toplu ayırıcı analiz (BSA) yöntemini uygulayarak apetal karakteriyle ilişkili DNA markörlerini tanımlamaya çalışmışlardır. Çalışmada her iki ebeveynden seçilen 20 çift AFLP ve 170 çift SRAP primeri test edilmiştir. Yapılan ileri seleksiyon sonucunda, petal kaybı özelliğiyle bağlantılı iki moleküler markör tespit edilmiştir. Yaklaşık 600 bp uzunluğundaki SRAP markörü e8m3_4 ve 150 bp uzunluğundaki AFLP markörü E3247_15. Bu markörlerin ilgili gen(ler)e sırasıyla 5.0 cM ve 13.5 cM genetik uzaklıkta olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *B. napus* için kapsamlı bir bağlantı haritası oluşturulmuş; bu harita 17 ana bağlantı grubu, iki üçlü ve dört ikili bağlantı kümesi boyunca toplam 213 AFLP/SSR lokusu ile bir morfolojik markörden meydana gelmiştir. Haritanın toplam uzunluğu 2.487,1 cM, belirteçler arasındaki ortalama genetik mesafe ise 10.09 cM olarak hesaplanmıştır. Genetik haritalama sonucunda, petal kaybı (WHB) özelliğini kontrol eden gen(ler)in LG4 bağlantı grubunda yer aldığı saptanmıştır. Bu çalışma, *B. napus*'ta apetal çiçek özelliğinin genetik kontrolünün ilk kez moleküler düzeyde haritalandığı araştırmalardan biri olup, ilgili gen(ler)e yakın moleküler işaretleyicilerin tanımlanması açısından önem taşımaktadır. Araştırmacılar, petal kaybının bitkinin enerji tasarrufu sağlaması, polen yayılımının artması ve çiçek yapısına bağlı hastalıklara karşı direnç geliştirmesi gibi agronomik avantajlar sağlayabileceğini belirtmişlerdir. Dolayısıyla bu çalışma, *B. napus*'ta apetal fenotipin ıslah programlarında kullanılabilirliğini ortaya koyarak sonraki moleküler ıslah çalışmalarına temel oluşturmuştur.

Chen vd. (2006b), apetal mutant APT02 (*B. napus*) ile apetal mutant AM032 **(***B. campestris***)**, kendi türlerine ait normal petalli hatlarla çaprazlanarak F_2 ve BC_1 populasyonları oluşturulmuştur. Bu populasyonlar kullanılarak her iki apetal mutantın kalıtım modeli araştırılmıştır. Petal derecesi (PDgr**)** segregasyonu ve istatistiksel analizlere dayanarak, APT02 hattındaki apetal karakterin, iki çift çekinik majör gen ve bunlara ek olarak bir çift çekinik modifiye edici gen tarafından kontrol edildiği öne sürülmüştür. Buna karşılık, AM032 mutantında ise apetal özelliğin tek bir çift çekinik

genle kalıtıldığı tahmin edilmiştir. Her iki mutantta da annelik etkisi (maternal effect) gözlenmemiştir; bu da karakterin çekinik nükleer genler aracılığıyla kalıtıldığını desteklemektedir.

Gupta (2007) *Brassica* türlerinde hastalık direnci transferi amacıyla yapılan çalışmalarda, iki kahverengi tohumlu *B. juncea* genotipi (RESBJ-830 ve RESBJ-837) ile sarı tohumlu *B. carinata* çeşidi arasında *in vitro* ovül kültürü ve *in vitro* tohum çimlendirme yöntemleri kullanılarak sekiz melez elde edilmiştir. Melezler, erkek ebeveyne özgü kırmızı anter ucu noktaları (RA) ve mor birleşim bölgeleri (PC) gibi belirgin özellikler göstermiştir. F_2 ve BC_1 generasyonlarında tamdan kısmiye değişen polen kısırlığı tespit edilmiştir. RESBJ-830 kökenli F_2 bireyleri kahverengi, RESBJ-837 kökenliler ise sarı tohumlu olmuş ve BC_1 generasyonunda her iki grup 2:1 oranında (kahverengi:sarı) ayrışmıştır. Morfolojik olarak F_2'de çoğunlukla *B. carinata* veya ara tip bitkiler görülürken, BC_1'de *B. juncea* tipi bitki oranı artmıştır (%40). Her iki generasyonda da dallanma, yaprak, çiçek morfolojisi, infloresans ve meyve dizilişinde varyasyonlar kaydedilmiş; RA ve PC varlığı BC_1'de düşüş göstermiştir. Ayrıca apetal fenotip belirlenmiş ancak bu bitki üzerinde çalışma yapmamışlardır.

Jiang (2007) tarafından ele alınan derleme çalışmasında da, *B. napus*'ta apetal çiçek özelliği ile ilgili önceki araştırmalar genetik, fizyolojik ve ıslah yönleriyle kapsamlı biçimde değerlendirilmiştir. Derlemede, farklı araştırmacılar tarafından geliştirilen apetal hatların kökenlerini ve genetik düzenini özetlemiş; bu özelliğin genellikle birden fazla resesif gen tarafından kontrol edildiğini, bazı hatlarda sitoplazmik ve nükleer gen etkileşimlerinin de etkili olduğunu bildirmiştir. Derlemede *B. rapa*, *B. carinata*, *B. juncea* ve *B. napus* türlerinde tanımlanan çeşitli apetal mutantlar karşılaştırılmış ve bu karakterin bir ila dört farklı lokusta yer alan genlerle kalıtıldığı ifade edilmiştir.

Zhou (2008), *B. napus*'ta apetal çiçek mutantı Apet33-10'un çiçek organı morfogenezi incelenmiş ve çiçek gelişimi sırasında petal ilkel dokusunun oluşmaması dışında tüm çiçek organı morfogenezinin normal seyrettiği belirlenmiştir. Çiçek organı başlangıç aşamasında, 200 μm'den kısa erken çiçek tomurcuklarında SSH ve RT-PCR analizleri ile 18 genin aşağı yönlü regüle olduğu tespit edilmiştir. Bu genler; petal kimliği, kalsiyum–demir sinyal iletimi, mRNA işlenmesi, protein sentezi ve yıkımı, sitoskeleton oluşumu, hidrojen taşınması, nükleik asit bağlanması, alkaloid biyosentezi ve bilinmeyen işlevlere ait süreçlerde rol almaktadır. APETALA3 (AP3) gen ailesinden BnAP3-2**,** BnAP3-3 ve BnAP3-4'ün tam kodlama bölgeleri RT-PCR ile elde edilmiş, gerçek zamanlı kantitatif PCR analizi ise yabani tip (Pet33-10) erken çiçek tomurcuklarında ifade oranının sırasıyla 3.67:3.68:1 olduğunu ortaya koymuştur. Apet33-10 hattında, yabani tipe kıyasla BnAP3-2**,** BnAP3-3 ve BnAP3-4**'**ün ifade düzeyleri sırasıyla %36.6, %28.3 ve %66.8'e düşmüş, AP3 genlerinin toplam ifade düzeyi yabani tipin %45'ine ulaşmıştır. Stamen dokusunda ise apetal ve yabani tip hatlar arasında anlamlı bir ifade farkı bulunmamıştır. Sonuç olarak, Apet33-10 hattında erken çiçek gelişimi sırasında AP3 genlerinin düşük seviyedeki ifadesinin stamen taslağının oluşumu için yeterli, ancak taç yaprak taslağının oluşumu için yetersiz olabileceği öne sürülmüştür

Zhang (2011), Arabidopsis'te çiçek organı kimliğini belirleyen homeotik genlerden APETALA3 (AP3) ve PISTILLATA (PI), MADS-box transkripsiyon

faktörlerini kodlayan ve petal ile stamen gelişiminde görev yapan B sınıfı genlerdir. *B. rapa* ve *B. napus*'un stamen karpelloid (SC) mutantları HGMS ve AMS üzerinde yapılan çalışmada iki tip AP3 geni **(**B.AP3.a ve B.AP3.b**)** işlevsel olarak karakterize edilmiştir. Her iki gen, C-terminal bölgesindeki sekiz amino asitlik farklılık dışında yüksek oranda benzerlik göstermektedir. Bu sekiz kalıntının *B.AP3.b*'de bulunmaması, PI-türevi motiflerin değişmesine yol açmıştır. Fonksiyonel analizler, *B.AP3.a*'nın hem petal hem de stamen gelişimini belirlediğini, *B.AP3.b*'nin ise yalnızca stamen gelişiminde görev yaptığını ortaya koymuştur. *B. rapa*'da her iki gendeki mutasyonlar SC mutantı HGMS fenotipine neden olmuştur. İki *B.AP3.a* ve iki *B.AP3.b* kopyasına sahip *B. napus*'ta, iki *B.AP3.a*'nın fonksiyon kaybı taç yapraksız fenotipin temel sebebi olurken, dört AP3 geninin tamamındaki fonksiyon kaybı SC mutantı AMS ile ilişkilendirilmiştir. Bu bulgular, AP3 genindeki sekiz amino asitlik farklılık veya PI-türevi motiflerin muhtemelen taç yaprak oluşumunda kritik rol oynadığını göstermektedir

Zhang (2013)'a göre, çiçekli bitkilerde petal yokluğu, çoğunlukla familya ve üzeri yüksek taksonomik seviyelerde grupları karakterize eden önemli bir özelliktir. Bununla birlikte, petal olmaması çoğu zaman genetik temeli bilinmeyen bir evrimin sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Ranunculaceae (düğün çiçeğigiller) familyasında yapılan bir çalışmada, en az yedi farklı soyda apetal cinslerin petalli atalardan evrimleştiği belirlenmiş ve bunun paralel petal kayıplarına işaret ettiği ortaya konmuştur. Bağımsız petal kayıplarının, genellikle tek bir çiçek organı kimlik geni olan APETALA3-3 (AP3-3) ifadesinin azalması veya kaybolmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Örneğin, *Nigella*'nın apetal mutantında ikinci introna bir transpozon elemanının eklenmesi, AP3-3 geninin susturulmasına ve petallerin sepallere dönüşmesine yol açmıştır. *Thalictrum*, *Beesia* ve *Enemion* gibi doğal apetal cinslerde AP3-3 geni ya tamamen kaybolmuş ya da kodlama/düzenleyici bölgelerdeki delesyonlar nedeniyle işlevsiz hale gelmiştir. İkincil olarak apetal hale gelmiş büyük bir cins olan *Clematis*'te ise AP3-3, psödogen özellikleri göstermektedir. Bu bulgular, AP3-3'ün farklı evrimsel soy hatlarında farklı mekanizmalarla susturulduğunu veya aşağı yönlü regüle edildiğini ve Ranunculaceae'de petal kimliğinin birçok kez bağımsız olarak evrimleşmediğini, fakat çoğu durumda kaybolduğunu ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, bağımsız petal kayıplarının genetik mekanizmaları karmaşık olup, AP3-3 bozulması sürecin nedeni olabileceği gibi sonucu da olabilir.

Whang vd. (2015) *Brassica napus*'ta apetal karakterin genetik kontrolünü araştırmak amacıyla, apetal bir hat olan "APL01" ile normal petalli "Holly" çeşidinin çaprazlanmasından elde edilen ve 189 birey içeren rekombinant saf hat (AH) popülasyonu üzerinde çalışmışlardır. Popülasyonun genotiplenmesinde, 52.157 SNP belirteci içeren Brassica 60K Infinium BeadChip Dizisi kullanılmıştır. 11.458 SNP ve 57 SSR işaretleyicisine dayalı olarak, 2.027,53 cM uzunluğunda**,** ortalama 0.72 cM işaretleyici aralığına sahip yüksek yoğunluklu bir genetik bağlantı haritası oluşturulmuştur. Bu harita, *B. napus* referans genomuyla yüksek kolinearite göstermiş ve petal derecesi (PDgr) ile ilişkili kantitatif özellik lokuslarının (QTL) haritalanmasında kullanılmıştır. Beş farklı fenotipik analiz deneyine dayalı olarak, A3, A5, A6, A9 ve C8 kromozomlarında yer alan toplam 19 QTL tanımlanmış ve bunlar meta-analiz yoluyla dokuz konsensüs QTL'ye indirgenmiştir. Bunlardan qPD.C8-2**,** beş deneyin tamamında tutarlı biçimde tespit edilen majör QTL olarak öne çıkmıştır. Ayrıca

qPD.A9-2 ve qPD.C8-3**,** dört deneyde kararlı bir şekilde ifade edilmiştir. Kararlı QTL bölgeleri altında 328 gen tanımlanmış, bunlardan 146'sı, çiçek gelişimiyle ilişkili daha önce tanımlanmış 52 referans genin Gen Ontolojisi (GO) anotasyonlarına dayanarak PDgr için aday gen olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışma, *B. napus*'ta yüksek yoğunluklu SNP haritası kullanılarak yapılan PDgr'ye yönelik QTL analizleri ile tohum verimini artırabilecek yeni genetik hedefler ortaya koymakta ve apetal özelliğin genetik düzenlenmesine dair bilgimizi ileriye taşımaktadır**.**

Yu vd. (2016), yaptıkları çalışmada, *B. napus* bitkisinde çiçek gelişiminin temel unsurlarından olan generatif evreye geçiş (floral transition) ve petal oluşumu süreçlerini düzenleyen genetik mekanizmaların aydınlatılması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, tamamen apetal ve erken çiçeklenen APL01 hattı ile normal petalli PL01 hattı kullanılarak yüksek kapasiteli RNA dizileme (RNA-seq) tekniği ile genom çapında transkriptom analizi gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucunda toplam 13.205 farklı şekilde ifade edilen gen (DEG) tespit edilmiş; bunlardan 6111 gen APL01 hattında baskılanmış (down-regüle)**,** 7094 gen ise artmış (up-regüle) olarak belirlenmiştir. Özellikle protein biyosenteziyle ilişkili çok sayıda genin ifade düzeyinin, apetal yapı ve erken çiçeklenme özelliklerine bağlı olarak değiştiği gözlemlenmiştir. Tahmin edilen kolza çiçeklenme genlerine dayanarak, vernalizasyon ve fotoperyot yollarını içeren bir erken çiçeklenme gen ağı oluşturulmuştur. Ayrıca, APL01 hattındaki apetal karakteri düzenlemesi muhtemel 36 üst düzey aday gen tanımlanmış; bunun yanı sıra, üç farklı petal ilişkili kantitatif özellik lokusu (QTL) ile ilişkilendirilerek, petal oluşumunu düzenleyebilecek 6 gen belirlenmiştir.

Duan (2020), Ranunculaceae familyasında yürütülen bir çalışmada, familyanın apetal özellik gösteren tüm dokuz cins temsilcisi incelenmiş; morfolojik, gen ekspresyonu, moleküler evrim ve fonksiyonel analizler yapılmıştır. Çalışma, petal kimliği geni APETALA3-3 (AP3-3) ekspresyonunun olmaması veya aşağı regülasyonunun, tam yaprak kayıplarıyla güçlü şekilde ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, AP3-3 ortologlarının bozulmasının, yapraksız soyların paralel evriminin doğrudan nedeni olma olasılığı düşük bulunmuştur. Morfolojik karşılaştırmalar, apetal taksonlarda genellikle stamen sayısının arttığını, sepal sayısının ise büyük ölçüde sabit kaldığını göstermiştir. Bu durum, petal-sepal dönüşümlerinden ziyade petal–stamen dönüşümlerinin baskın olduğunu düşündürmektedir. Yakın zamanda ortaya çıkan apetal Enemion cinsinde ise petal–anter dönüşümlerinin, C-fonksiyon geni AGAMOUS1 (AG1) ekspresyonunun artışı ve dışa doğru genişlemesi ile ilişkili mutasyonlardan kaynaklandığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, Ranunculaceae'deki paralel petal kayıplarının genel bir çerçevesini sunmakta ve diğer apetal soyların bağımsız köken mekanizmalarının anlaşılmasına katkı sağlamaktadır.

Klepikova vd. (2021), tarafından yürütülen bu çalışmada, *Capsella bursa-pastoris*'te (çoban çantası) doğal olarak ortaya çıkan yeni bir apetal mutantın morfolojik ve genetik temelleri incelenmiştir. Araştırmacılar, Rusya'nın Moskova bölgesinde keşfettikleri ve *Lepidium*-benzeri çiçek yapısı nedeniyle "lepidium-like" (lel) olarak adlandırdıkları doğal mutant bireyleri, aynı populasyondan seçilen normal petalli (wt-msc-1) bitkilerle karşılaştırmıştır. Her iki genotip dört generasyon boyunca kendilenmiş ve fenotipik olarak kararlı hatlar oluşturulmuştur. Apetal mutantta çiçeklerin çoğunda hiç petal bulunmazken, nadiren alt kısımdaki birkaç çiçekte bir veya iki küçük petal gözlenmiştir. Tarla ve sera koşullarında yapılan morfolojik incelemelerde, apetal mutant

ve yaban tip arasında çiçek organlarının sıralı gelişimi açısından farklar tespit edilmiştir. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan gelişimsel analizlerde, *lel* mutantında petal taslaklarının geç ve eksik geliştiği, çoğunlukla dört köşenin tamamında petal oluşmadığı, dolayısıyla organ başlatımının geciktiği ve petal gelişiminin bastırıldığı belirlenmiştir. Genetik kalıtım analizinde *lel-msc-1* (maternal) × *wt-msc-1* (paternal) melezlemesi sonucunda elde edilen F_1 bireylerinde orta düzeyde apetal fenotip gözlenmiş; bu durum kısmi dominantlık (kodominantlık) göstergesi olarak yorumlanmıştır. F_2 populasyonunda 103 birey analiz edilerek fenotip dağılımı**,** χ^2 testiyle değerlendirilmiş ve monojenik kalıtım hipotezi reddedilmiştir ($p < 0.001$)**.** Veriler, digenik kalıtım modeline (iki genli kalıtım) uygun bulunmuş, apetal karakterin biri dominant**,** diğeri resesif olmak üzere iki farklı gen tarafından kontrol edildiği sonucuna varılmıştır. Araştırmada ayrıca SNP tabanlı MutMap analizi kullanılarak bu iki genetik bölgenin genom üzerindeki yerleri belirlenmiştir. Buna göre, birinci gen lokusu (LEL1) altgenom A üzerinde, ikinci gen lokusu (LEL2) ise altgenom B üzerinde haritalanmıştır. LEL1 lokusunun baskın, LEL2 lokusunun ise çekinik kalıtım gösterdiği belirlenmiş; her iki mutasyonun da aynı fenotipe (apetal) yol açtığı, fakat genlerin zıt işlevli olabileceği ifade edilmiştir. Çalışmada 46 birey (23 mutant, 23 normal) için Illumina HiSeq 2000 platformunda tam genom dizilemesi gerçekleştirilmiş, yüksek güvenilirlikte 217.099 SNP tespit edilmiştir. Aday gen analizlerinde *Arabidopsis thaliana* homologları ile karşılaştırma yapılmış; fakat bilinen çiçek gelişim genleri (örneğin *APETALA3, PISTILLATA, PETAL LOSS*) arasında doğrudan bir eşleşme bulunmamıştır. Bu durum, *Capsella* ve *Arabidopsis* arasında petal gelişimini kontrol eden mekanizmaların evrimsel olarak farklılaştığını düşündürmektedir. Sonuç olarak, araştırmacılar *C. bursa-pastoris*'te tanımladıkları *lel* mutantının doğal, stabil ve kalıtsal bir apetal varyant olduğunu, bu karakterin iki genli kalıtım modeliyle kontrol edildiğini ve ilgili lokusların genetik haritasının çıkarıldığını bildirmişlerdir. Bu bulgular, *Brassicaceae* familyasında petal gelişiminin evrimsel çeşitliliğini anlamak açısından önemli bir model oluşturmakta ve apetal karakterin moleküler temellerine ışık tutmaktadır.

Hu (2025), yaptığı çalışmada, *B. juncea* "YLC" ile *B. carinata* "Bc216" (BBCC, 2n=34) çaprazlanarak kararlı bir apetal *B. juncea* (ABJ) hattı geliştirilmiştir. Sitolojik analiz, ABJ hattında diyakinezde 18 bivalent ve anafaz I'de dengeli kromozom ayrışması ile normal kromozom davranışı sergilendiğini ortaya koymuştur. FISH analizleri, kromozom konfigürasyonunun ebeveyn *B. juncea*'ya benzer şekilde A alt genomundan 20 ve B alt genomundan 16 kromozom içerdiğini ve toplam kromozom sayısının 36 olduğunu doğrulamıştır. Ancak RNA-seq ve moleküler belirteç analizleri, ABJ'nin A03 kromozomunda 15,8 Mb'lık delesyonu ortaya çıkarmıştır. Gen ifade analizi, apetal özelliğin oluşumuyla ilişkili olabilecek 24 farklı şekilde ifade edilen geni tanımlamıştır. Literatürde, türler arası hibridizasyon yoluyla eksik kromozom segmentlerine sahip apetal hardal üretimine dair başka bir örnek bulunmamaktadır. Bu çalışma, hem bu yöntemin uygulanabilirliğini ortaya koymakta hem de apetal fenotipin oluşum mekanizmalarına yönelik yeni bilgiler sağlamaktadır.

2.2. Caryophyllaceae familyasında yapılan haploidi çalışmaları

Caryophyllaceae familyasında yer alan türlerde haploid bitki eldesine yönelik çalışmalar oldukça sınırlı olup, özellikle *V. hispanica* üzerinde yapılan araştırmalar son

derece kısıtlıdır. Bu nedenle, literatür taramasında Caryophyllaceae familyasına ait diğer türlerde yürütülen haploidizasyon çalışmalarına da yer verilmiştir.

Murty ve Kumar (1976), *Dianthus caryophyllus* L. (karanfil) bitkisinde anter kültürü yoluyla bitki rejenerasyonu üzerine yaptıkları çalışmada, yarım anterler üzerinde ilkel nod (boğum) ve tomurcuk taşıyan küçük bitkicikler oluştuğunu rapor etmişlerdir. Elde edilen bu bitkiciklerden ikisi, birkaç gün süreyle modifiye edilmiş White (White 1943) besin ortamında kültüre alınmış ve yapılan incelemeler sonucunda bu yapıların anter duvarı veya bağ dokusundan değil, doğrudan polen tanelerinin duvarlarından geliştiği belirlenmiştir. Çalışma, karanfilde polen kaynaklı (androgenetik) bitki rejenerasyonunun mümkün olabileceğini gösteren erken dönem araştırmalardan biri olması açısından önemlidir.

Mosquera vd. (1997) "Tanga" karanfil (*Dianthus caryophyllus* cv.) çeşidinde, çiçek tomurcuklarından elde edilen anterler kullanarak adventif rejenerasyon yöntemini geliştirmişlerdir. Çalışmada, mikrospor evresi ile anter uzunluğu ve tomurcuk boyutu arasında korelasyon kurulmuştur. 2.1–3.0 mm uzunluğundaki anterlerin, geç tek çekirdekli ve erken çift çekirdekli mikrosporlar açısından en yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Bu anterler, terminal çiçek tomurcuklarında bulunup, 1–2 cm uzunluğundadır. En yüksek kallus indüksiyonu, anterlerin 5 hafta boyunca karanlıkta, Murashige & Skoog (MS) ortamına 1 mg/L 2,4-D ve 1 mg/L BAP eklenerek inkübe edilmesiyle sağlanmıştır. Otuz proembriyo elde edilmiş ancak bunlardan sadece bir bitkicik rejenerasyonu gerçekleşmiştir. Gibberelik asit (GA_3)'nin proembriyo gelişimi üzerinde etkisi olmadığı gözlenmiştir.

Sato vd. (2000) yaptıkları çalışmada, X-ışını ile ışınlanmış polenle yapılan yalancı döllenme (psödofertilizasyon) içinde ovül kültürü kullanılarak karanfilde (*Dianthus caryophyllus* L.) doubled haploid bitki üretimi amaçlanmıştır. Mor taç yapraklı bir hat (933145) ve sarı/beyaz taç yapraklı yedi farklı hat/çeşit kullanılarak iki ayrı deney yürütülmüştür. Denemelerde ovüller, psödofertilizasyondan 1–4 hafta sonra alınarak farklı sukroz konsantrasyonları içeren MS besiyerlerine kültür edilmiş ve rejenerasyonları değerlendirilmiştir. %6 sukroz içeren ortamda yüzlerce sürgün elde edilirken**,** %9 ve %12 sukroz ortamlarında rejenerasyon gözlenmemiştir. Kültürden elde edilen bitkilerin büyük kısmı kendilenmiş, 55 bitkiden S1 tohumları elde edilmiştir. Bu bitkilerden biri olan 97KC-R0-1, taç yaprak rengi ve sayısı açısından tamamen stabil bireyler üretmiş ve kök uçlarında hem haploid (n=15) hem de diploid (2n=30) hücrelerin varlığı ile miksoploid bir yapı göstermiştir. Tundra çeşidinden elde edilen ikinci bitki (Tundra-R0-1**)** de benzer özellikler göstermiştir. Her iki rejenere bitkinin S1 kuşakları morfolojik olarak homojen olup, genetik stabilite göstermiştir. Yapılan karşılaştırmalar sonucunda, rejenere bitkilerin ana bitkiyle aynı olmadığı, dışarıdan polenle döllenmediği ve somatik orijin taşımadığı, psödofertilize ovül kültürüyle elde edilen gerçek çift haploidler olduğunu kanıtlanmıştır. Bu çalışma, karanfilde *in vitro* partenogenez yoluyla doubled haploid bitki elde edildiğini bildiren ilk çalışmalardan biri olması bakımından önemlidir. Ancak ovül kültürüyle elde edilen doubled haploidlerin verimliliği düşük bulunmuş, bu nedenle haploid indüksiyonunun artırılması için kültür koşullarının ve ışınlama parametrelerinin daha fazla optimize edilmesi gerektiği vurgulanmıştır.

Dolcet-Sanjuan vd. (2000) nin çalışmasında, *Fusarium oxysporum*'a dayanıklı standart karanfil klonları, gama ışınlarına maruz bırakılmış polenle tozlanarak ve *in vitro* embriyo kurtarma yöntemi uygulanarak *in situ* indüklenen partenogenez yoluyla değerlendirilmiştir. Bu protokol ile anormal kotiledonlu veya kotiledonsuz olası partenogenetik embriyolar elde edilmiştir. Çekirdek izozim analizleri ve akış sitometrisi, haploid ve dihaploid bitkilerin elde edildiğini ve çoğu partenogenetik embriyonun erken *in vitro* aşamada diploidleştiğini doğrulamıştır. *F. oxysporum*'a dayanıklı ve fertil DHL'lerin ('D220', 'D504' ve 'D524'), bu dayanıklılık özelliğini duyarlı bir klonun tüm döllerine aktardığı ve dayanıklılıkta rol oynayan üç genin tümünde homozigot oldukları belirlenmiştir.

Ferrie vd. (2005), nutrasötik bitkilerde doubled haploid bitki üretimine yönelik ön çalışmalarında, 80'den fazla türü mikrospor kültürü açısından değerlendirmiştir. Araştırma, *Brassica napus* protokolü temel alınarak gerçekleştirilmiş ve özellikle Apiaceae (maydanozgiller) ile Caryophyllaceae (karanfilgiller) familyalarına ait bazı türlerde embriyogenez gözlemlenmiştir. Anason (*Pimpinella anisum*), havuç (*Daucus carota*), kimyon (*Carum carvi*), dereotu (*Anethum graveolens*), rezene (*Foeniculum vulgare*), ekin ebesi (*Saponaria vaccaria*) gibi türlerden başarılı şekilde haploid ve DH bitkiler rejenerasyon yoluyla elde edilmiştir. Özellikle *S. vaccaria* türünde 350 embriyo/100 tomurcuk gibi yüksek embriyojenik verimlilik ve %50'ye varan spontan kromozom katlanması rapor edilmiştir. Ayrıca elde edilen DH hatların kimyasal profilleri analiz edilmiş, bazı hatlarda saponin ve uçucu yağ içeriklerinde olumlu değişiklikler tespit edilmiştir. Bu çalışma, nutrasötik bitkilerde DH teknolojisinin uygulanabilirliğini göstermesi ve bu türler için protokol optimizasyonunun gerekliliğini vurgulaması bakımından literatürde önemli bir yer tutmaktadır.

Kernan ve Ferrie (2006) nin çalışması; nutrasötik değeri yüksek olan *S. vaccaria* (cow cockle) bitkisi için çift haploid (DH) üretimine yönelik bir mikrospor embriyogenezi protokolünün geliştirilmesini konu almıştır. Araştırmada, embriyogenez üzerinde etkili olabilecek çok sayıda faktör değerlendirilmiş olup, bunlar; genotip, çiçek tomurcuğu boyutu, mikrospor yoğunluğu, bazal ortam içeriği, karbon kaynağı türü ve kültür koşullarıdır. En yüksek embriyo verimi, 4–7.9 mm uzunluğundaki tomurcuklardan elde edilen mikrosporların, %15 sukroz içeren NLN ortamında, 32 °C'de 3 gün ısı şokuna maruz bırakılması ile sağlanmıştır. 'White Beauty' genotipi, 100 tomurcuk başına 350'den fazla embriyo ile en yüksek embriyogenik yanıtı vermiştir. Çalışmada spontan kromozom katlanması oranı yaklaşık %50 olarak belirlenmiş ve bu durum, kolhisin gibi kimyasallara gerek kalmadan DH bitkilerin elde edilmesine olanak sağlamıştır. Elde edilen DH bitkiler başarıyla toprağa aktarılmış ve tohum üretimi gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonucunda, *S. vaccaria* için optimize edilen bu mikrospor kültürü protokolü ile yüksek verimli DH hatlarının geliştirilmesi mümkün hale gelmiş, bu da türün ıslah programlarında etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir. Bu protokol, özellikle saponin içeriği açısından homojen hatların geliştirilmesine katkı sunarak nutrasötik ürün standardizasyonuna önemli bir temel oluşturmaktadır.

Fu vd. (2008), Çin pembesi (*Dianthus chinensis* L., 2n = 2x = 30) üzerine gerçekleştirdikleri çalışmada, anter kültürlerinde somatik embriyogenesis oranlarının maksimize edilmesini amaçlamıştır. Çalışma sonucunda, donör bitkilerin genotipinin**,** somatik embriyo indüksiyon başarısında belirleyici bir faktör olduğu ortaya konmuştur.

Anter kültürü sırasında uygulanan ortam bileşimi, ışık koşulları ve ön işlemler (soğuk, sıcak ve mannitol inkübasyonları) de embriyogenik kallus ve somatik embriyo oluşumunu önemli ölçüde etkilemiştir. Örneğin, donör tomurcuklara soğuk ön işlem uygulandığında ve anter kültürleri karanlık koşullarda inkübe edildiğinde, embriyogenik kallus indüksiyon oranlarının maksimum seviyeye ulaştığı belirtilmiştir. Ayrıca, genotip ile kültür koşulları arasında önemli etkileşimler gözlemlenmiştir. 'Carpet' genotipinde, anterlere uygulanan 5 günlük ısı şoku ile embriyogenez oranlarında artış sağlanırken, bu tür termal işlemler diğer genotiplerde anlamlı bir etki göstermemiştir. Benzer şekilde, mannitol ile yapılan ön işlem yalnızca 'HC' isimli melez hatta embriyogenez üzerinde olumlu etkide bulunmuştur. Anter kültürlerinden rejenerasyonla elde edilen bitkilerin ploidi düzeylerinin değerlendirilmesi sonucunda hem diploid hem de tetraploid bitkilerin elde edildiği rapor edilmiştir. Histolojik ve sitolojik incelemeler, bu bitkilerin tamamının (n-polen ve 2n-polen hatlarından) anter duvarı hücrelerinden türediğini ortaya koymuştur. Embriyojenik kallus kültürü aşamasında ise, spontan kromozom katlanması olayının meydana geldiği sonucuna varılmıştır.

Ferrie (2021), *V. hispanica* (Caryophyllaceae) üzerinde daha önce yürüttükleri mikrospor embriyonogenesisi ve haploid bitki üretimi üzerine yaptıkları deneysel çalışmaların sonuçlarına dayanarak, bu türde kullanılabilecek standart bir haploidizasyon protokolünü detaylı olarak yayınlamışlardır. Söz konusu protokol, tomurcuk fizyolojisi, stres koşulları ve kültür ortamı optimizasyonu gibi temel aşamaları içermekte olup, daha önce literatürde yayınlanan embriyo gelişimi ve bitkiye dönüştürme çalışmalarının metodolojik bir derlemesi niteliğindedir.

Arı vd. (2022b), Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan 66 yabani *V. hispanica* genotipinin mikrospor kültürü yoluyla androgenesis kapasitelerini değerlendirmiştir. Araştırmanın amacı, DH üretimi için Türkiye genotiplerinin uygunluğunu belirlemek ve karşılaşılan darboğazları tespit etmektir. Sonuçlar, genotiplerin büyük çoğunluğunun (63/66) mikrospor embriyogenezine olumlu yanıt verdiğini göstermiş, bazı genotiplerde 100 tomurcuk başına 300 embriyoya kadar yüksek verim elde edilmiştir. Çalışmada üç temel sorun tespit edilmiştir: (1) tomurcuklarda (çiçek dokularında) yoğun köpük oluşturan saponin varlığı mikrospor izolasyonunu zorlaştırmakta, (2) embriyoların sağlıklı şekilde çimlenerek bitkiciğe dönüşüm oranı düşük olup, (3) oluşan embriyolardan yoğun şekilde tüylü köklerin meydana gelmesi sağlıklı kök sisteminin gelişmesini, dolayısıyla embriyoların bitkiciğe dönüşüm başarısını önemli oranda engellemektedir. Tüylü kök oluşumunun, bitkide endofitik mikroorganizmaların varlığıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak, *V. hispanica* mikrospor kültürüne yüksek yanıt verebilen bir tür olmasına rağmen, DH bitki üretiminde verimi düşüren biyolojik ve teknik engeller bulunmaktadır. Bu darboğazların aşılması için endofitlerin kontrolü gibi yeni stratejiler geliştirilmesi önerilmektedir.

Li vd. (2025), karanfil (*Dianthus caryophyllus* L.) “Francesco” çeşidinde doubled haploid hat elde etmek amacıyla anter kültürü koşullarını optimize etmişlerdir. 20-25 mm uzunluğundaki çiçek tomurcuklarından izole edilen tek çekirdekli mikrosporlarla çalışılan ortamda, 1 mg L^{-1} thidiazuron (TDZ) ve 0.5 mg L^{-1} 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) kombinasyonunun kallus ve sürgün indüksiyonunda en yüksek verimliliği sağladığı belirlenmiştir. İndüksiyon sürecine 2 gün süren soğuk ön işlem uygulanmış, yenilenen sürgünlerin ploidi seviyesi SSR belirteçleriyle, kallusların

ploidisi ise akış sitometrisi ile analiz edilmiştir. Çalışmada haploid, diploid ve tetraploid bitkilerin anter kültürü yoluyla elde edilebileceği gösterilmiştir. Bu çalışma, "Francesco" çeşidinde karanfiller için etkili bir anter kültürü sistemi kurulması açısından ilk olup, yeni kültürlerin hızlı elde edilmesine katkı sağlamaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, 2022-2025 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Seralarında ve Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Bitki Doku Kültürü Laboratuvarında yürütülmüştür. Araştırma temel olarak *Vaccaria hispanica* bitkisinde; seleksiyon çalışmaları, apetal karakterin kalıtımının belirlenmesi, backcross (BC) ve melezleme çalışmaları ile androgenesis denemeleri çalışmalarını içermektedir. Bu çalışmaların materyal ve metodları aşağıda belirtilmiştir.

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

3.1.1.1. Seleksiyon çalışmalarında kullanılan materyaller

Çalışmalara başlamadan önce, ebeveynleri belirlemek amacıyla 2013–2017 yılları arasında yürütülen 112O136 numaralı TÜBİTAK-1001 projesi kapsamında elde edilen sonuçlar doğrultusunda, o projede kullanılan genotipler arasından bazıları farklı özellikleri nedeniyle seçilmiştir. Seçilen genotipler yetiştirilmiş, bunlar arasından seleksiyona tabi tutulanlar bir sonraki dönem için ebeveyn olarak kullanılmıştır. Seleksiyon çalışmalarında kullanılan bitki materyalleri aşağıda sunulmuştur.

Başlangıç bitki materyali olarak farklı üstün özellikte olan 10 *V. hispanica* genotipin tohumları (V6, V8, V20, V35, V42, V46, V49, V53/1, V53/2, V57) kullanılmıştır. Ebeveyn olarak kullanılacak genotiplerin özellikleri aşağıda sıralanmıştır.

V6: siklopeptid içeriği yüksek,

V8: apetal karaktere sahip,

V20: nişasta miktarı yüksek,

V35: erkenci ve nişasta miktarı yüksek,

V42: siklopeptid içeriği yüksek,

V46: saponin içeriği yüksek,

V49: siklopeptid içeriği yüksek,

V53/1: saponin içeriği yüksek,

V53/2: apetal karaktere sahip,

V57: saponin**,** siklopeptid ve nişasta içeriği orta düzeyde, ancak çoklu özelliğe sahip.

3.1.1.2. Apetal çiçek karakteri kalıtım çalışmalarında kullanılan materyaller

Apetal çiçek karakteri özelliğini belirleme çalışmalarında petalli ve apetal bitki genotipleri resiprokal olarak melezlenmiş ve elde edilen F_1 bitkileri kendilenerek F_3

populasyonuna kadar ilerletilmiştir. F_2 ve F_3 aşamalarındaki bitkilerde petal bakımından skorlama yapılmıştır.

Apetal çiçek karakterinin belirlenmesine yönelik yürütülen çalışmalarda bitki materyali olarak; petalli genotip olarak V53/1 ve apetal genotip olarak ise V53/2 kullanılmıştır (Şekil 3.1). Her iki genotip de, seleksiyon çalışmaları sonucunda elde edilen ve hedef özellikler bakımından uygunluk gösteren ebeveyn bireyler olarak seçilmiştir.



(a) **(b)**

Şekil 3.1. Apetal karakter kalıtımında kullanılan ebeveyn bitkiler; a) Petalli V53/1 genotipi; b) Apetalli V53/2 genotipi

3.1.1.3. Backcross ve melezleme çalışmalarında kullanılan materyaller

Backcross ve melezleme çalışmaları kapsamında, seleksiyonlar sonucunda belirlenen uygun bireyler ebeveyn olarak seçilmiş ve bu bireylerle melezleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen F_1 populasyonlarından geriye melezleme (backcross) yapılmış ve BC_1F_4 generasyonuna kadar ilerletilmiştir. Backcross melezlemelerinden sonuç alınamama ihtimaline karşılık her bir F_1 bitkisinde kendileme işlemi yapılarak F_5 populasyonuna kadar ilerletilmiştir.

Backcross ve melezleme çalışmalarında bitki materyali olarak; üstün özellikler gösteren 12 farklı *V. hispanica* genotipine ait bitkiler (V6, V8, V20, V35/1,V35/2 V42, V46, V49/1,V49/2 V53/1, V53/2, V57) kullanılmıştır. Bu bitkiler, 2022 yılında yürütülen seleksiyon çalışmaları sonucunda seçilen bitkilerdir.

3.1.1.4. Androgenesis çalışmalarında kullanılan materyaller

Androgenesis çalışmaları anter ve mikrospor kültürü olarak gerçekleştirilmiştir. Anter kültürü çalışmaları ve mikrospor kültürü çalışmalarının her birisi için 3 grup deneme kurulmuştur. Androgenesis çalışmalarında kullanılan bitki materyalleri (Çizelge 3.1) ve yetiştirildiği dönemler ayrıntılı olarak aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3.1. Androgenesis çalışmalarında kullanılan genotipler ve bu genotiplerin yetiştirilme dönemleri

Kültür Tipleri	Çalışma Grupları	Bitkilerin Yetiştirildiği ve Çalışmanın Yürütüldüğü Dönem	Androgenesis Çalışmalarında Kullanılan Genotipler
Anter Kültürü Denemeleri	I. Grup Denemeler	2022 Eylül	V8,V57
	II. Grup Denemeler	2023 Eylül	V8, V20, V42, V46, V53/1
	III. Grup Denemeler	2024 Eylül	B2/5-F_3, B3/4-F_3, C4-F_4, 32-1-BC_1F_2, 40-1—BC_1F_2,42-1-BC_1F_2
Mikrospor Kültürü Denemleri	I. Grup Denemeler	2022 Eylül	V8, V20, V42, V46, V53/1
	II. Grup Denemeler	2023 Nisan	V8, V20, V42, V46, V53/1
	III. Grup Denemeler	2024 Eylül	B2/5-F_3, C3-F_3, 32-1-BC_1F_2, 40-1-BC_1F_2,42-1-BC_1F_2

Anter kültürü denemeleri kapsamında; I. Grup denemede, ortam optimizasyonunu belirlemek amacıyla, daha önce mikrospor embriyogenesis performansının yüksek (V57) ve düşük (inatçı) apetal genotip (V8) kullanılmıştır. Bu genotipler, daha önceki seleksiyon çalışmaları sonucunda belirlenen ve istenen morfolojik özelliklere sahip bitkilerden seçilmiştir. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip sayısı artırılarak farklı genotipler kullanılmış olup, I. Grup denemelerden elde edilen ön sonuçlara bağlı olarak ortam içeriği optimize edilerek devam edilmiştir. Böylece, elde edilecek embriyo sayısı artırılmaya çalışılmıştır. III. Grup denemelerde ise genotip materyali olarak BC_1F_3 ve F_4 kuşaklarına ait apetal fenotip gösteren bireyler kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Mikrospor kültürü denemeleri kapsamında ise; I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde ortam optimizasyonu amacıyla, daha önce mikrospor embriyogenesis performansının yüksek (V42) ve düşük (inatçı) (V20) olduğu belirlenen genotipler (Arı 2016) ile apetal çiçek karakteri gösteren genotip (V8) kullanılmıştır. II. Grup denemelerde ise aynı genotiplere ait apetal bireyler materyal olarak kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Bu grupta ileri generasyonların mikrospor kültürüne tepkisi değerlendirilmiştir. III. Grup denemelerde ise BC_1F_2 ve F_3 populasyonuna ait apetal fenotip gösteren bireyler kullanılmıştır.

Androgenesis çalışmalarında her grupta kullanılan bitkiler, sera koşullarında standart kültürel işlemler (sulama ve bakım uygulamaları) altında yetiştirilmiş, uygun tomurcuk ve mikrospor gelişimi aşamasında kültüre alınmıştır.

3.1.2. Androgenesis çalışmalarında kullanılan besin ortamı kimyasalları

Androgenesis çalışmalarında embriyo indüksiyonu için farklı temel besin ortamları ile birlikte farklı karbonhidrat kaynakları, BGD ve çeşitli katkı maddeleri ($AgNO_3$, arabinogalaktan, timentin) kullanılmıştır. BGD ve diğer katkı maddelerinin farklı konsantrasyonları grup bazlı denemelerde değerlendirilmiştir. Kullanılan temel besin ortamları; MS **(**Murashige ve Skoog 1962), B5 (Gamborg vd. 1968), NN (Nitsch ve Nitsch 1969) NLN (Lichter 1982), CHU (Chu 1981) ve CHB (Chu vd. 1990) ortamı olup, ortam içerikleri Çizelge 3.2.'de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. Androgenesis indüksiyonu denemelerinde kullanılan temel besin ortamı ve içerikleri (mg/L)

No	Ortam Bileşenleri	Androgenesis İndüksiyon Ortamlarının Temel Besin Ortamları					
		B5	NN	MS	CHB	NLN	CHU
MAKRO ELEMENTLER							
1	KNO_3	2500.00	950.00	1900.00	1415.00	125.00	2830.00
2	$(NH_4)2SO_4$	134.00	-	-	232.00	-	463.00
3	$MgSO4.\ 7H_2O$	121.56	90.27	370.00	93.00	61.00	90.27
4	KH_2PO_4	-	68.00	170.00	200.00	125.00	400.00
5	$CaCl2.2H_2O$	113.23	166.00	440.00	83.00	-	125.33
6	NH_4NO_3	-	720.00	1650.00	-	-	-
7	$Ca(NO_3).2H_2O$	-	-	-	-	-	-
8	KCL	-	-	-	-	-	-
9	NaH_2PO_4	130.44	-	-	-	-	-
MİKRO ELEMENTLER							
1	$MnSO_4.5H_2O$	10.00	18.94	22.30	3.75	18.95	3.33
2	$ZnSO_4.7H_2O$	2.00	10.00	8.60	5.00	10.00	1.50
3	H_3BO_3	3.00	10.00	100.00	5.00	10.00	1.60
4	KI	0.75	-	0.80	0.40	-	0.80
5	$CuSO_4.5H_2O$	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	-
6	$Na2MoO4.2H_2O$	0.250	0.250	0.250	0.012	0.250	-
7	$CoCl2.6H_2O$	0.0250	-	0.025	0.025	0.025	-
DEMİR BİLEŞİĞİ							
1	$FeNa_2EDTA$	36.70	36.70	-	40.00	36.70	36.70
2	$Na2EDTA.2H_2O$	36.70	-	-	-	-	-
VİTAMİNLER							
1	Nicotinic acid	1.00	5.00	0.50	0.50	5.00	0.50
2	Biotin	-	0.05	-	0.25	0.05	-
3	Pyridoxine HCl	1.00	0.50	0.50	0.50	0.50	-
4	Thiamine HCl	10.00	0.50	0.40	0.25	0.50	1.00
5	Myo-inositol	100.00	100.00	100.00	0.39	100.00	-
6	Penthathenate	-		-	0.25	-	-
7	Glisin	-	2.00	-	1.00	2.00	2.00
8	Folik Asit	-	5.00	-	-	0.50	-
9	Glutamin	-	-	-	1000.00	800.00	
10	Pyridoksin HCL	-	-	-	-	0.50	0.50
11	L-Serin	-	-	-	-	100.00	-

3.1.3. Anter kültürü denemelerinde kullanılan besin ortamları

Anter kültürü çalışlamaları I. Grup anter kültürü denemeleri ile başlamış ve bu grupta 5 indüksiyon kullanılmıştır. 5 indüksiyon ortamının 3'ü yarı-katı, 2'si ise sıvı ortamdan oluşturulmuştur. Kullanılan indüksiyon ortamı içerikleri Çizelge 3.3.'de verilmiştir. İndüksiyon ortamlarında oluşan embriyolar, rejenerasyon için BGD içermeyen B5 ortamına aktarılmıştır.

Çizelge 3. 3. I. Grup anter kültürü denemesinde kullanılan indüksiyon ortamları

Ortam No	Temel Besin Ortamı	Sukroz (g/L)	Maltoz (g/L)	Kinetin (mg/L)	2,4 D (mg/L)	pH	Agar (g/L)
1	B5	30	-	-	-	5.9	8
2	NN	30	-	-	-	5.9	8
3	MS	30	-	-	-	5.9	8
4	CHB-3	-	90	2	2	6.0	-
5	NLN	150	-	-	-	5.9	-

I.Grup anter kültürü denemelerinden elde edilen sonuçlara göre 10 sıvı indüksiyon ortamından oluşturulan II. Grup anter kültürü denemeleri kurulmuştur. II. Grup anter kültürü denemelerinde temel besin ortamı olarak CHB (CHB-3) (Chu vd. 1990) ortamı kullanılmış ve farklı karbonhidrat kaynakları, BGD, arabinogalaktan ve timentin konsantrasyonlarının etkileri test edilmiştir. II. Grup denemelerine ayrıca N6 ortamı olarak da bilinen CHU (Chu 1981) ortamı eklenmiştir. II. Grup denemelerde kullanılan indüksiyon ortamı içerikleri Çizelge 3.4.'de belirtilmiştir.

Çizelge 3. 4. II. Grup anter kültürü denemelerinde kullanılan indüksiyon ortamları

Ortam No	Ortam Adı	Sukroz (g/L)	Maltoz (g/L)	Kinetin (mg/L)	2,4D (mg/L)	Arabino-galaktan (mg/L)	Timentin (mg/L)	pH	Agar (g/L)
1	CHB-3	-	90	2	2	10	-	6.0	-
2	CHB-3	90	-	2	2	10	-	6.0	-
3	CHB-3	-	90	-	-	-	-	6.0	-
4	CHB-3	-	90	-	-	10	-	6.0	-
5	CHU	-	90	2	2	10	-	6.0	-
6	CHB-3	90	-	-	-	-	-	6.0	-
7	CHB-3	-	90	0.25	0.25	-	-	6.0	-
8	CHB-3	-	90	1	1	10	-	6.0	-
9	CHB-3	-	90	1	1	10	200	6.0	-
10	CHB-3	-	90	2	2	10	200	6.0	-

II. Grup deneme sonuçlarına göre en etkili ortam belirlenerek III. Grup anter kültürü denemelerine geçilmiştir. III. Grup anter kültürü denemelerinde temel besin ortamı CHB-3 olan Çizelge 3.4.deki 1 nolu sıvı ortam tek ortam olarak kullanılmış ve farklı genotipler üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir.

3.1.4. Mikrospor kültürü denemelerinde kullanılan besin ortamları

I. Grup mikrospor kültürü çalışmalarında 1 izolasyon, 5 indüksiyon ve 2 rejenerasyon ortamı kullanılmıştır (Çizelge 3.5). İndüksiyon ortamlarında temel besin ortamı olarak NLN (Kontrol) ortamı kullanılmış, farklı pH seviyeleri ve farklı kimyasalların etkisinin test edildiği indüksiyon ortamları ile bunun öncesinde kullanılan izolasyon ortamının içerikleri Çizelge 3.5'de verilmiştir.

Çizelge 3.5. I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde kullanılan ortamların içerikleri

	İzolasyon Ortamı				
1	½ B5				
	İndüksiyon Ortamı (NLN Ortamı)				
Ortam No	**pH**	**Aktif Karbon (%)**	**Timentin (mg/L)**	**Arabinogalaktan (mg/L)**	**Sukroz (g/L)**
1	5.9	-	-	-	150
2	5.9	-	200	-	150
3	6.5	-	-	-	150
4	6.5	%1	-	-	150
5	5.9	-	-	10	150

I. Grup mikrospor kültürü denemelerinden elde edilen sonuçlara dayanarak II. Grup denemeler planlanmıştır (Çizelge 3.6.). Bu denemelerde, anter kültüründe başarılı sonuçlar veren CHB-3 ortamı da mikrospor denemelerine dahil edilmiş olup, II. Grup denemelerde kullanılan ortamların içerikleri Çizelge 3.6. da verilmiştir.

Çizelge 3.6. II. Grup mikrospor kültürü denemelerinde kullanılan ortamların içerikleri

	İzolasyon Ortamı						
1	½ B5						
	İndüksiyon Ortamı						
Ortam No	**Temel Besin Ortamı**	**Sukroz (g/L)**	**Maltoz (g/L)**	**2,4 D (mg/L)**	**Kinetin (mg/L)**	**Timentin (mg/L)**	**pH**
1	NLN	150	-	-	-	-	5.9
2	NLN	150	-	-	-	300	5.9
3	CHU	150	-	-	-	-	5.9
4	CHB-3	-	90	2	2	-	6.0

III. Grup mikrospor kültürü denemelerinde ise indüksiyon ortamı olarak sadece NLN ortamı kullanılmıştır. Bu deneme grubunda farklı F_3 ve BC_1F_2 bitkilerden mikrospor kültürleri yapılmış ve elde edilen embriyolar rejenerasyon için BGD içermeyen yarı-katı B5 ortamına alınmıştır.

Androgenesis çalışmalarındaki tüm deneme gruplarında kültür petrileri öncelikle karanlık koşullarda 32 °C'de 3 gün süreyle bekletilmiştir. Ardından 4–6 hafta boyunca 22–25 °C sıcaklıkta yine karanlık ortamda inkübasyona alınmıştır. Bu sürenin sonunda elde edilen embriyolar, 16/8 saat (aydınlık/karanlık) fotoperiyot koşullarına alınmış; yeşillenmeye başlayan embriyolar ise BGD içermeyen B5 besin ortamı (%2 sukroz, %0.9 agar içeren) kullanılarak embriyo rejenerasyon ortamına aktarılmıştır.

Androgenesis çalışmalarında temel besin ortamlarına ilave edilen kimyasallardan 2,4-D, Kinetin, aktif karbon, timentin (ticarcillin disodium) ve

arabinogalaktan proteinleri için hazırlanan stok solüsyonların bilgileri Çizelge 3.7'de verilmiştir.

Çizelge 3.7. Androgenesis çalışmalarında kullanılan kimyasalların stok çözelti bilgileri

Stok No	Stoğu Hazırlanan Kimyasal	Kimyasalın Çözücüsü	Stok Konsantrasyonu (mg/mL)	Stok Hacmi (mL)	Stok Saklama Koşulları (°C)
1	2,4 D	NaOH	1	100	+4
2	Kinetin	NaOH	1	100	-20
5	NAA	NaOH	1	100	-20
6	Timentin	ddH2O	200	20	-20
7	Aktif Karbon	ddH2O	10	100	20-25
8	Arabinogalaktan	ddH2O	10	100	+4

3.2. Deneme alanına ait iklim verileri

Bu çalışma kapsamında kullanılan bitki materyalleri, farklı generasyonlara (F_1, F_2-BC_1, F_3-BC_1F_2 ve F_4-BC_1F_3) ait olup, Antalya ekolojik koşullarında farklı yetiştirme sezonlarında yetiştirilmiştir. Denemeler, sonbahar–kış ve ilkbahar-yaz dönemlerini kapsayacak şekilde 2023–2025 yılları arasında yürütülmüştür.

Çalışmanın yürütüldüğü dönemlere ait iklim verileri, Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden (MGM) (Anonim 2026) temin edilmiş, çalışmada kullanılan tüm yetiştirme sezonlarına ait iklim verileri Çizelge 3.8.'de ayrıntılı olarak sunulmuştur.

Çizelge 3.8. 2023–2025 yılları arasında Antalya'da farklı generasyonların yetiştirme sezonlarına ait iklim verileri (MGM 2026)

Yetiştirilen generasyon	Yetiştirilme sezonu ve yılı	Yetiştirilme ayı	Maximum sıcaklık (°C)	Minimum sıcaklık (°C)	Ortalama sıcaklık (°C)
F_1	Sonbahar 2023-Kış 2024	Eylül	31.2	18.3	23.3
		Ekim	31.4	19.2	24.0
		Kasım	28.2	8.7	18.9
		Aralık	23.6	10.2	15.7
		Ocak	23.4	6.8	14.2
		Şubat	21.4	9.3	14.4
		Mart	25.0	9.7	16.1
BC_1-F_2	İlkbahar-Yaz 2024	Nisan	31.6	14.6	21.1
		Mayıs	31.1	14.8	21.7
		Haziran	44.8	19.7	29.1
		Temmuz	42.2	21.4	31.1
		Ağustos	42.5	25.4	29.8
F_3-BC_1F_2	Sonbahar 2024-Kış 2025	Eylül	39.9	21.4	28.9
		Ekim	31.3	16.0	23.1
		Kasım	30.3	7.2	19.7
		Aralık	21.0	7.5	13.5
		Ocak	23.1	8.2	14.1
		Şubat	21.0	1.3	10.7
		Mart	27.5	6.2	16.3
F_4-BC_1F_3	İlkbahar-Yaz	Nisan	27.1	8.8	17.0
		Mayıs	37.6	13.7	21.7

	2025	Haziran	41.9	16.5	24.7
		Temmuz	46.1	23.2	29.4
		Ağustos	43.4	24.0	29.6

3.3. Metot

3.3.1. Seleksiyon çalışmaları

2022 ilkbahar-yaz döneminde ebeveyn olarak kullanılacak genotiplerin tohum ekimleri, üç tekerrürlü deneme desenine uygun olarak yapılmıştır. Bitkiler çiçeklenme dönemine ulaştığında, sıra üzerindeki varyasyonları temsil ettiği düşünülen özellikler (bitki boyu, çiçek yapısı, çiçek rengi gibi morfolojik özellikler) yönünden hatlar belirlenmiştir. Bu hatların kontrollü tozlanmalarını sağlamak için çiçekleri tül keselerle izole edilmiştir (Şekil 3.2). Böylece, yabancı tozlanmaların önüne geçilerek genetik saflığın korunması hedeflenmiştir.

Kendileme sonucu elde edilen bitkiler; apetal kalıtım çalışmalarında, backcross ve melezleme çalışmalarında kullanılmıştır. Ayrıca seçilen hatlar androgenesis çalışmalarında donör bitki materyali olarak da kullanılmıştır.



(a) **(b)**

Şekil 3.2. 2022 ilkbahar-yaz dönemi çalışmalarının yürütüldüğü seradan görüntüler; (a) Seranın ekime hazırlanması; (b) Uygun gelişim aşamasındaki bitkilerin kendilenmesi .

3.3.2. Apetal çiçek karakteri kalıtım çalışmaları

Hem apetal hem de petalli genotipler arasında resiprokal melezlemeler gerçekleştirilmiştir. Melezleme işlemine geçilmeden önce, anne ebeveyn olarak kullanılacak bitkilerde uygun tomurcuk evresi belirlenmiş ve bu evrede dikkatli bir şekilde emaskülasyon uygulanmıştır. Emaskülasyondan bir gün sonra, sabahın erken saatlerinde (09.00–11.00), erkek ebeveynlerden elde edilen polenlerle tozlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Tozlamayı takiben, dış tozlanmaları önlemek ve kontrollü döllenmeyi sağlamak amacıyla tozlanan tomurcuklar tül kese ile izole edilmiştir (Şekil 3.3).



(a) **(b)** **(c)**

Şekil 3.3. Melezleme aşamalarından görüntüler; a) Emaskülasyon işlemi; b) Melezleme işlemi; c) Melezlenen tomurcukların tül kese ile kapatılması

Melezlemelerden ede edilen F_1 tohumları bir sonraki dönemde viyollere ekilmiş ve fide aşamasını takiben seraya aktarılmıştır. Serada yetiştirilen F_1 bireyleri, uygun tomurcuk evresine ulaştıklarında tül keselerle izole edilerek kendilenmiş; bu işlem sonucunda F_2 tohumları elde edilmiştir. 2023 sonbahar-2024 kış döneminde F_2 populasyonunun oluşturulması amacıyla viyollere ekilen 200 tohumdan, çimlenme oranına bağlı olarak üç hafta sonunda 180 adet fide seraya dikilmiştir. Bitkiler çiçeklenme dönemine ulaştığında, petal varlığına göre (petalli veya apetal) fenotipik olarak değerlendirilmiş ve her birey yine tül keseler ile izole edilerek kendileme yoluyla tohum elde edilmiştir.

2024 ilkbahar-yaz döneminde, önceki bulguların güvenilirliğini artırmak amacıyla F_2 bireylerinden elde edilen tohumlar yeniden viyollere ekilerek F_2 populasyonu tekrar yetiştirilmiştir. Bu kapsamda viyollere ekilen 200 adet F_2 tohumundan, 185 bitki başarıyla çimlenmiş ve fideler 3 hafta sonunda seraya dikilmiştir. Bitkiler uygun tomurcuk evresine ulaştıklarında petal morfolojisine göre skorlanmış ve her birey, F_3 generasyonu için tohum elde etmek amacıyla tül keselerle izole edilerek kendilenmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. 2024 ilkbahar-yaz döneminde yetiştirilen F_2 bireylerinde, çiçeklenme döneminde gerçekleştirilen kendileme işlemleri

Bu F_2 populasyonu içerisinden rastgele seçilen bireylerden; 5 apetal, 12 yarı petalli ve 48 petalli bitkiye ait F_3 tohumları, viyollere progeny (aile) esasına göre ekilmiş ve çimlenen F_3 fideleri seraya aktarılmıştır. Bitkiler çiçeklenme dönemine ulaştıklarında, petal varlığına göre fenotipik skorlamaları gerçekleştirilmiştir.

3.3.3. Backcross ve melezleme çalışmaları

Backcross ve melezleme çalışmaları kapsamında ebeveyn bitkilerden V8 ve V53/2 numaralı apetal genotipler çoğunlukla anne, petalli bireyler ise baba ebeveyn olarak tercih edilmiştir. Melezlemeler başlatılmadan önce uygun tomurcuklarda emaskülasyon işlemleri yapılmış ve 1 gün sonra sabahın erken saatlerinde (09.00-11.00) melezlemeler yapılmıştır. Melezleme yapılan tomurcuklar tül kese ile kapatılmıştır.

Melezleme sonucunda elde edilen F_1 bitkileriyle geriye melezleme (backcross) çalışmalarına başlanmıştır. Geriye melezleme sonucunda elde edilen her bir BC_1 bitkisi uygun gelişim aşamasına ulaştığında kendilenmiş, elde edilen BC_1F_2 populasyonunda ise apetal bitkiler seçilmiştir. Bu seçilen apetal bitkiler tekrar yetiştirilerek BC_1F_3 bireyleri oluşturulmuştur. BC_1F_3 bireylerinin morfolojik ve hasat sonrası agronomik özellikleri belirlenmiştir.

Backcroos melezlemelerinde az bitki sayısı ve apetal özelliği olmama ihtimaline karşılık ayrıca, her F_1 bitkisi kendilenerek F_5 generasyonuna kadar ilerletilmiştir. F_2 kademesinden itibaren seçilen apetal bitkilerden tek tohum ilerletme (SSD) yöntemiyle F_3 ve F_4 populasyonları, sırasıyla 2023-2024 ve 2024-2025 yıllarında sera koşulları altında yetiştirilmiştir (Şekil 3.5 ve 3.6). Daha sonra, F_4 bireylerinin morfolojik ve hasat sonrası agronomik özellikleri belirlenmiştir.



(a)



(b)



(c)

Şekil 3.5. Backcross melezlemeleri için ebeveyn ve F_1 hatların yetiştirildiği seradan görüntüler; a) Sera hazırlığı; b) Dikime hazır hale gelen uygun fide; c) Melezleme ve kendileme aşamasına gelmiş ebeveyn bitkileren genel görünüm



(a) **(b)**

Şekil 3.6. Kendileme ve BC melezlemeleri yapılan F_1 bitkilerinden görüntüler; a) Kendileme yapılan F_1 bitkileri; b) BC melezi yapılan F_1 bitkisi

3.3.4. Ki-Kare analizi

Apetal kalıtım belirleme çalışmalarında F_2 ve F_3 popülasyonlarında petal tipine ait segregasyon oranlarının genetik açılım modeline uygunluğu, ki-kare (χ^2) analizi kullanılarak test edilmiştir.

$$X^2=\sum \left(\frac{Oi-Ei)2}{Ei}\right)$$

Formüle göre; O gözlenen, E beklenen değerlerdir.

3.3.5. Agronomik özelliklerin belirlenmesi

Backcross ve melezleme çalışmaları sonucu elde edilen ebeveyn, F_4 ve BC_1F_3 bitkilerinin, çalışmada elde edilen genotipleri daha iyi tanımaya yönelik olarak çeşitli morfolojik gözlem verileri [bitki yüksekliği, tabanda gövde (sap) çapı, çatal sayısı, son 5 çatalın çiçek sayısı, son alar bölgesi çiçek sayısı, kaliks eni ve boyu, kaliks dişlerinin şekli, çiçek sap uzunluğu, fide dikim tarihi, çiçeklenme başlangıç tarihi, bitki vejetasyon süresi (gün)] alınmıştır. Ayrıca, hasat sonrası tohumların agronomik özellikleri de belirlenmiştir (Şekil 3.7),

Genotiplere ait hasat verileri şu şekilde tespit edilmiştir:

• **Tek bitki ağırlığı (g):** Kökler hariç olmak üzere bitkinin toprak üstü tüm aksamının kurutulduktan sonra tartılmasıyla belirlenmiştir. Ölçümler, genotipler arasında bitki

sayılarının farklılık göstermesi nedeniyle her bir genotipte mevcut bireyler üzerinden gerçekleştirilmiştir.

• **Bitki başına tohum verimi (g/bitki):** Her genotipte bitki başına elde edilen ortalama tohum verimi, elde elden bitkiye bölünmesi ile hesaplanmıştır.

• **Hasat indeksi:** Bitki başına tohum verimi (g)/ bitki başına toplam verim (sap+tohum) formülüne göre hesaplanmıştır.

• **Kapsüldeki tohum sayısı (adet):** Her genotipten farklı bitkilerden rastgele seçilen 10'ar kapsülün içindeki tohum sayılarının ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

• **Bin tane ağırlığı (g):** Her genotipten alınan 1000 adet tohuma ait ağırlık değerleri kaydedilmiştir.



a) **b)**

Şekil 3.7. Çeşitli taksonomik ve morfolojik gözlemlerin yapılması; a) Bitki boyunun ölçülmesi; b) 1000 dane ağırlığının hesaplanması

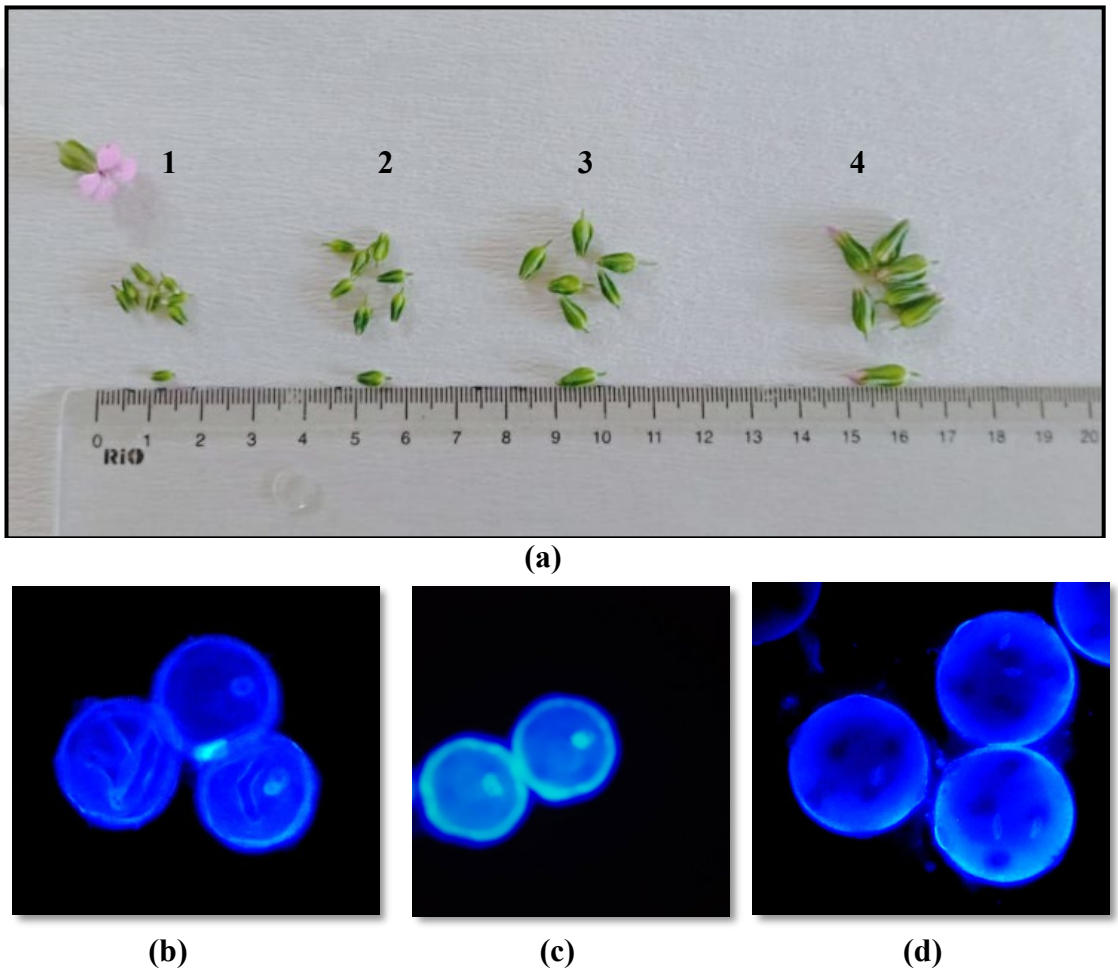
3.3.6. Araştırma tasarımı ve veri analizi

Apetalli ve petalli genotipler arasında yapılan melezlemeler sonucunda elde edilen F_4 ve BC_1F_3 ile ebeveyn bitkilerde ölçülen morfolojik özelliklerin (bitki uzunluğu, bitki genişliği, dal sayısı, taban genişliği, son alar bölgesi çiçek sayısı, son 5 çatalın çiçek sayısı, kapsül genişliği ve kapsül uzunluğu) istatistikleri (ortalama, standart hata) hesaplanmış; gruplar arasındaki farkların belirlenmesi amacıyla SPSS istatistik programında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır.

3.3.7. Androgenesis çalışmaları için mikrosporların uygun gelişim aşamalarının belirlenmesi

Andrgenesis uygulamalarında başarıyı belirleyen en önemli aşamalardan birisi, uygun gelişim evresinde bulunan mikrosporları içeren anterlerin ve bu anterlerin

bulunduğu tomurcukların morfolojik özelliklerinin doğru bir şekilde tanımlanmasıdır. Bu basamak, izleyen kültür aşamalarının verimliliğini doğrudan etkilediğinden kritik bir öneme sahiptir. Bu nedenle, her bir deney grubunda çalışmalara başlamadan önce hem anter kültürü hem de mikrospor kültürü denemelerinin başında, farklı genotiplerdeki mikrospor gelişim evreleri ayrıntılı olarak incelenmiştir (Şekil 3.8). *V. hispanica*'daki uygun gelişim evresinin (geç tek ve erken çift çekirdekli aşamalar) genotipler arasında farklılık gösterebilmesi nedeniyle, değişik büyüklüklerde toplanan tomurcukların içerisindeki anterlerin mikrosporları, DAPI (4′,6-Diamidino-2-phenylindole) ile boyama yöntemiyle hazırlanan preparatlar üzerinden floresan mikroskop altında incelenmiştir. Yapılan bu ön değerlendirmeler neticesinde, geç tek ve erken çift çekirdekli evredeki mikrosporları taşıyan tomurcukların karakteristik morfolojik özellikleri belirlenmiş, kayıt altına alınmış ve yalnızca bu nitelikleri karşılayan bitki materyali kültür denemelerinde kullanılmıştır.



(a)

(b) **(c)** **(d)**

Şekil 3.8. Uygun tomurcuk aşamasının belirlenmesi çalışmaları; a) Farklı boyutlardaki tomurcuklar; b) 1 nolu tomurcuklardan izole edilen mitoz aşamasındaki mikrosporlar; c) 2 nolu tomurcuklardan izole edilen geç tek çekirdek aşamasındaki mikrosporlar; d) 4 nolu tomurcuklardan izole edilen geç çift çekirdekli aşamasındaki mikrsoporlar (polenler).

3.3.8. Yüzey dezenfeksiyonu

Uygun tomurcuk aşaması belirlendikten sonra androgenesis çalışmalarında tomurcuk yüzey dezenfeksiyonu için tomurcuklar %70'lik etil alkolde 1 dk bekletilmiş ve ardından 1-2 dk saf suda durulama işlemi yapılmıştır. Daha sonra 1-2 damla Tween 20 eklenmiş %30 luk ticari hipoklorit solüsyonunda 15 dakika muamele edilmiştir. Hipoklorit solüsyonundan sonra tomurcuklara 3 kez steril saf su ile durulama işlemi yapılmıştır.

3.3.9. Anter kültürleri

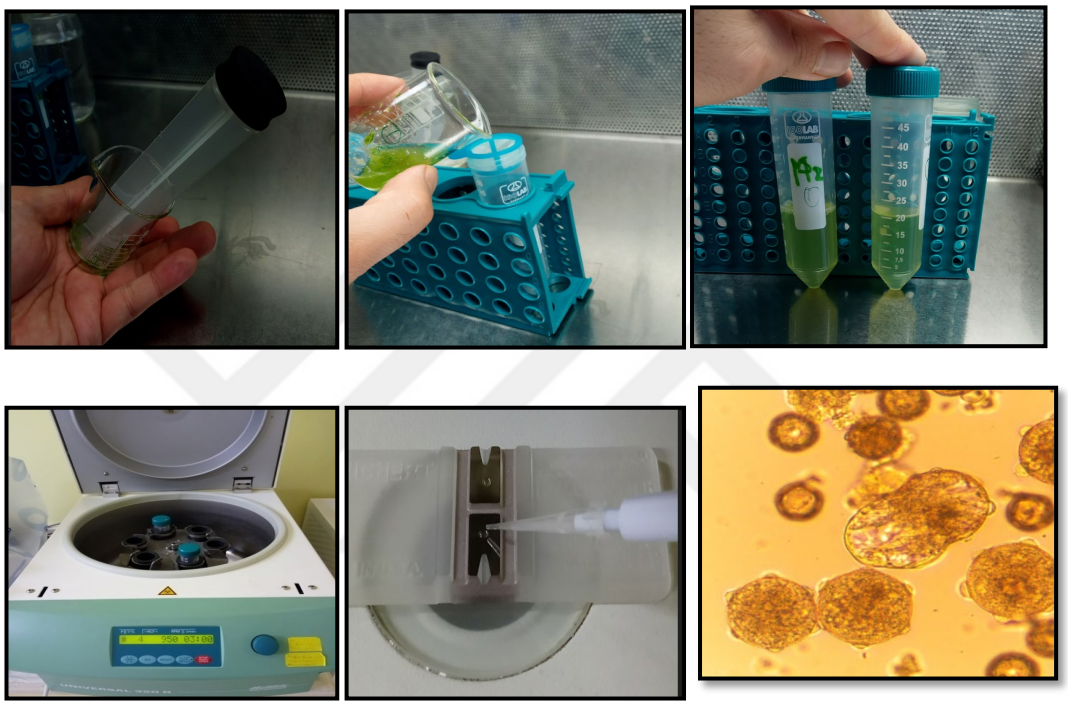
Uygun gelişim aşamasında mikrosporları içerdiği belirlenen tomurcukların sterilizasyon işlemi tamamlandıktan sonra, yatay hava akışlı steril kabin içerisinde steril pens ve bistüri yardımıyla anterleri izole edilmiştir. Tüm grup denemelerinde, anterler 6 cm çapındaki petri kapları içerisine hazırlanmış indüksiyon ortamlarına, her petriye 40 anter olacak şekilde yerleştirilmiştir. Bu kültürler, ilk 2 gün boyunca 32°C sıcaklıkta karanlık koşullarda, ardından 24-26°C sıcaklıkta yine karanlık ortamda inkübe edilmiştir. Anter kültürleri inkübasyon süresi boyunca düzenli aralıklarla, yarı-katı veya sıvı olmalarına göre, stereo veya ters ışık (inverted) mikroskobu ile gözlemlenmiştir.

Anterlerin oda sıcaklığındaki inkübasyonunun yaklaşık 3.–4. haftasında oluşan embriyojenik kalluslar / embriyolar, karanlık inkübasyon koşullarından çıkarılarak 16/8 saat aydınlık/karanlık koşullara alınmıştır. Fotoperiyodik koşullarda 2 gün süreyle tutulmalarının ardından, embriyojenik yapılar embriyo gelişimi için rejenerasyon ortamına aktarılmış ve 24-25 °C sıcaklık ve 16/8 saat aydınlık/karanlık koşullara sahip iklim odalarında inkübe edilmiştir. Bu aşamadan sonra embriyojenik yapıların morfolojik gelişimlerinin takibi düzenli olarak yapılmıştır.

3.3.10. Mikrospor kültürleri

Mikrospor kültürü çalışmaları (Şekil 3.9) için ilk olarak sterilizasyonu yapılan tomurcuklardan izolasyon ortamı kullanılarak mikrosporlar izole edilmiştir. İzolasyon işleminde; tomurcuklar beher içerisinde ½ B5 besin ortamında ezilmiş ve ardından elde edilen mikrospor süspansiyonu 40 µm'lik filtreden geçirilmiştir. Filtrelenen mikrosporlar, ½ B5 besin elementleri içeren izolasyon ortamı ile 20 mL'ye tamamlanarak 50 mL'lik steril Falcon tüplerine alınmıştır. İzole edilen mikrosporlar, +4°C sıcaklıkta 950 rpm de 3 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında tüpün üst kısmında kalan süpernatant dökülmüş ve mikrosporlar aynı izolasyon ortamı ile yıkanmıştır. Bu yıkama işlemi toplamda üç kez tekrarlanarak mikrosporlar izole edilmiştir. İzolasyonun ardından mikrospor yoğunluğunu belirlemek amacıyla az miktarda örnek alınmış ve hemocytometer (hücre sayma lamı) kullanılarak yoğunluk hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, mikrospor yoğunluğu mL'de 25.000 olacak şekilde ($2.5x10^4$ mikrospor/mL) ayarlanmıştır. Hazırlanan mikrospor süspansiyonu, 6 cm çapındaki steril petri kaplarına indüksiyon ortamı ile karıştırılarak 7 mL/petri miktarında dağıtılmıştır. Petri kapları 32°C'de karanlık koşullarda 2 gün inkübe edilmiş, ardından kültürlerin 24-26°C sıcaklıktaki karanlık ortamda inkübasyonuna devam edilmiştir.

Anter kültürü çalışmalarında olduğu gibi, mikrospor kültürlerinin oda sıcaklığındaki inkübasyonunun yaklaşık 3.–4. haftasında oluşan embriyolar, karanlık inkübasyon koşullarından çıkarılarak 16/8 saat aydınlık/karanlık koşullara alınmıştır. Fotoperiyodik koşullarda 2 gün süreyle tutulmalarının ardından, embriyojenik yapılar embriyo gelişimi için rejenerasyon ortamına aktarılmış ve 24-25°C sıcaklık ve 16/8 saat aydınlık/karanlık koşullara sahip iklim odalarında inkübe edilmiştir. Daha sonra çekirdek bölünmelerinden itibaren embriyojenik gelişimler düzenli olarak takip edilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Mikrospor kültürü aşamaları ve mikrospor bölünmeleri

3.3.11. Bitki rejenerasyonu, köklendirme ve aklimatizasyonu

I. ve II. Grup anter kültürü denemeleri kapsamında indüksiyon aşamasında gelişen kallus ve embriyolar, rejenerasyonun sağlanması amacıyla BGD içermeyen B5 besin ortamına (rejenerasyon ortamına) aktarılmıştır. Rejenerasyon ortamına alınan materyallerin kültür koşulları altındaki sürgün gelişimi ve kök oluşumu takip edilmiştir. B5 ortamında gelişen sürgünlerde kök oluşumunun değerlendirilmesi amacıyla alt kültürler gerçekleştirilmiş, ancak bu ortamda kök gelişimi sınırlı kalmıştır. Bununla birlikte, II. Grup anter kültürü denemelerinde bazı kotiledonlu embriyoların gerçek kök oluşturabildiği gözlemlenmiştir. Köklenme gösteren sürgünler aklimatizasyon aşamasına alınmıştır.

I. ve II. Grup mikrospor kültürü çalışmaları sonucunda elde edilen embriyolar ile kotiledon aşamasına ulaşan embriyolar, rejenerasyonun desteklenmesi amacıyla yine

BGD içermeyen B5 besin ortamına aktarılmıştır. Bu ortamda embriyoların gelişimlerini sürdürdüğü, embriyo farklılaşmasının devam ettiği ve sürgün oluşumlarının gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

B5 ortamında sınırlı düzeyde köklenme görülmesi nedeniyle, gelişen sürgünler köklenmenin teşvik edilmesi amacıyla BGD içermeyen ½ MS ortamı ile ½ MS + 1 mg/L NAA içeren besin ortamlarında alt kültüre alınmıştır.

Anter ve mikrospor kültürlerinde gerçek kök gelişimi gösteren sürgünler, *in vıtro* koşullardan dış koşullara adaptasyonlarının sağlanması amacıyla aklimatizasyona tabi tutulmuştur. Bu kapsamda, köklenen sürgünler 1:1:1 oranında torf:perlit:vermikulit içeren yetiştiricilik ortamına aktarılmış ve daha sonra kontrollü koşullarda kademeli olarak dış çevre şartlarına alıştırılmıştır.

Saçsı kök oluşumları ve aklimatizasyon aşamasında karşılaşılan bitki kayıpları nedeniyle sağlıklı bitki/tohum gelişimi için alternatif bir yaklaşım uygulanmıştır. Rejenerasyon ve köklendirme amacıyla kültür kaplarında tutulan sürgünlerde çiçeklenmenin gözlemlenmesi üzerine, II. Grup mikrospor kültürü çalışmaları sonucunda elde edilen sürgünlerin bir kısmı tohum oluşumunu teşvik etmek amacıyla filtreli kaplarda ½ MS besin ortamıına aktarılmıştır.

3.3.12. Androgenesis çalışmalarının araştırma tasarımı ve veri analizleri

Androgenesis çalışmaları kapsamında gerek anter gerek mikrospor kültürlerinde elde edilen embriyo, kallus ve sürgün verilerinin istatistik analizleri yapılmıştır.

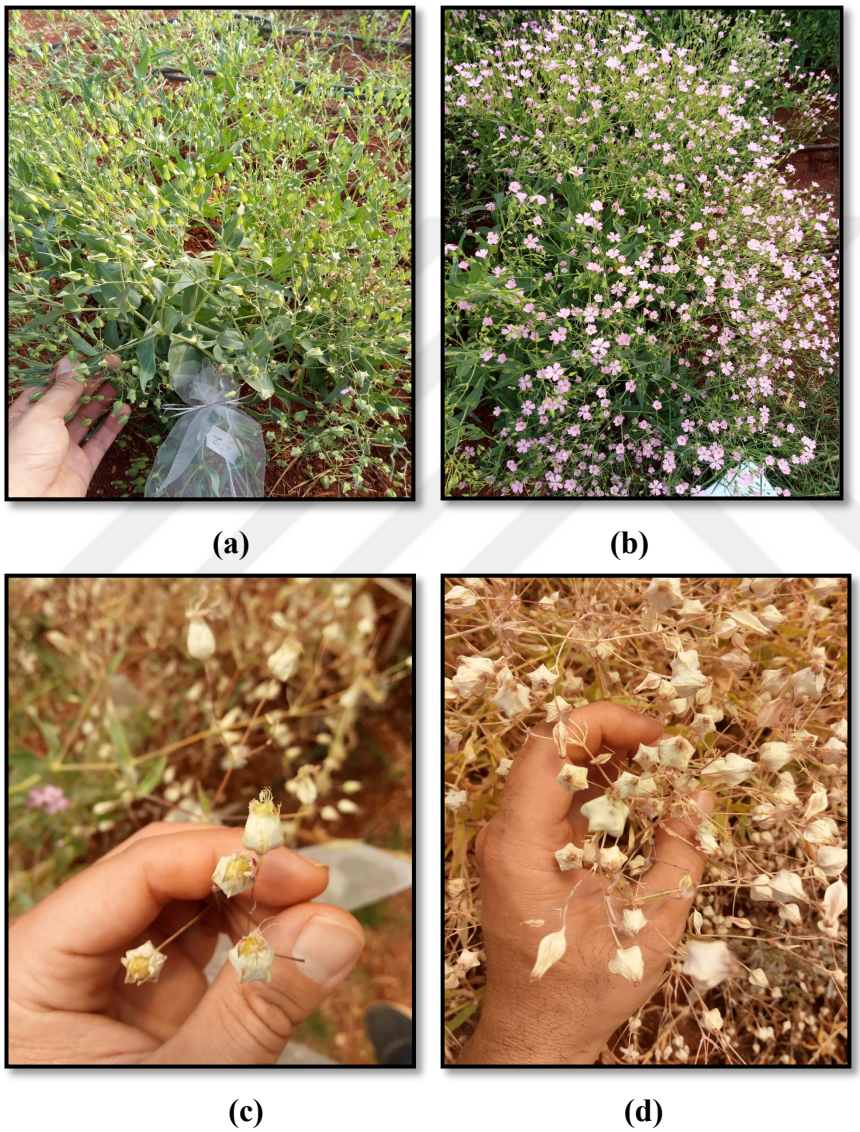
I. ve II. Grup anter kültürü denemelerinde; genotip, indüksiyon ortamı ve genotip × indüksiyon ortamı etkileşimlerinin etkileri, SPSS istatistik paket programı kullanılarak iki yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. III. Grup anter kültürü denemelerinde ise tek bir indüksiyon ortamı bulunması nedeniyle veriler SPSS programı aracılığıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile analiz edilmiştir. I. ve II. Grup anter kültürü denemelerinde belirlenen istatistiksel farklılıkların ortaya konulmasında LSD çoklu karşılaştırma testi kullanılırken, III. Grup anter kültürü denemelerindeki gruplar arasındaki farklılıklar Tukey testi ile değerlendirilmiştir.

Mikrospor kültürü çalışmalarına ait istatistiksel değerlendirmelerde ise; I. ve II. Grup mikrospor kültürü denemelerinde genotip, indüksiyon ortamı ve genotip × indüksiyon ortamı etkileşimlerinin etkileri iki yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak analiz edilmiştir. III. Grup mikrospor kültürü denemelerinde ise yalnızca tek bir indüksiyon ortamının bulunması nedeniyle veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. I. ve II. Grup mikrospor kültürü denemelerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunan farklılıkların belirlenmesinde LSD çoklu karşılaştırma testi kullanılırken, III. Grup mikrospor kültürü denemelerinde gruplar arasındaki farklılıklar Tukey testi ile ortaya konulmuştur.

4. BULGULAR

4.1. Seleksiyon çalışmaları

2022 ilkbahar-yaz döneminde 3 tekerrürlü olarak yetiştirilen bitkilerden her tekerrürde sırayı temsil eden bitkilerden 4 bitki kendilenmiştir (Şekil 4.1). Seleksiyon aşamalarında V49 ve V35 genotiplerinin bazı bitkileri erkencilik özelliğinden dolayı kendi içerisinde 2 farklı gruba ayrılmış ve bu bitkilerin ebeveyn olarak kullanılması planlanmıştır.

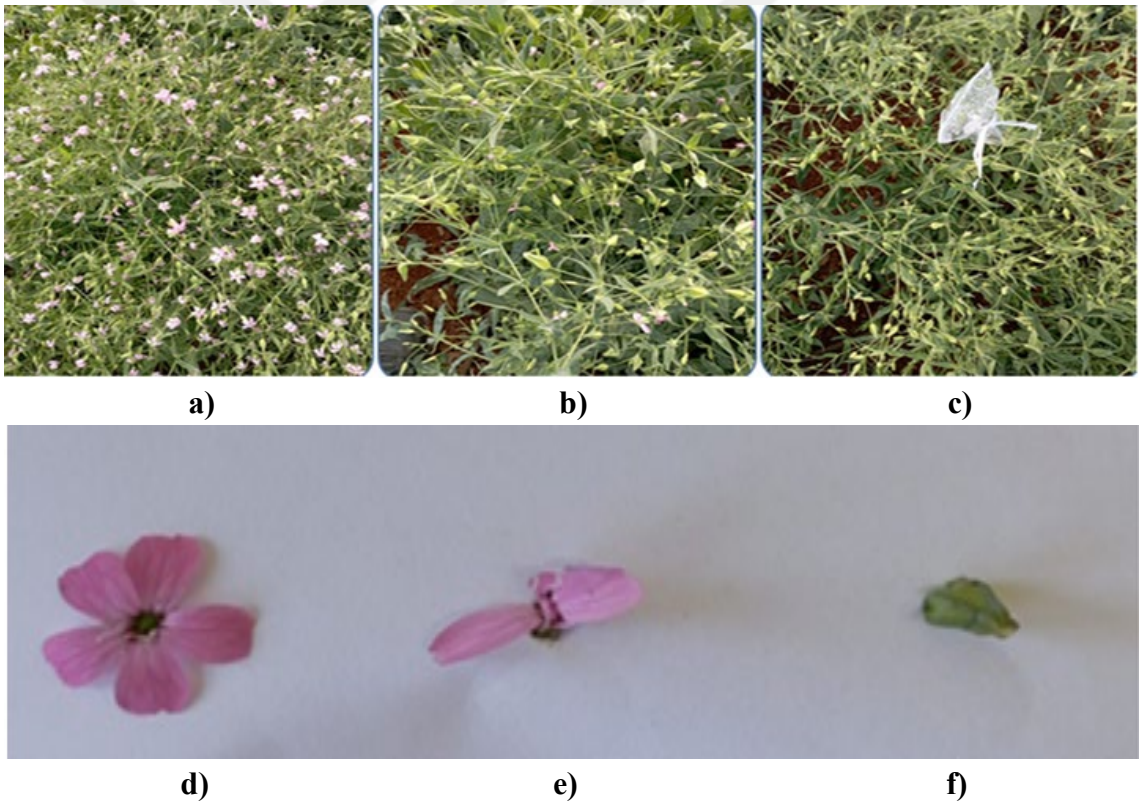


Şekil 4.1. Seleksiyon sonucu seçilen bitkilerden görüntüler; a) V53/2 genotipine ait apetal bitki; b) V53/1 genotipine ait petalli bitki; c) V35/2 genotipine ait bitkide kuruma aşamasındaki kapsül çatlaması; d) Apetal özellikteki V53/2 genotipine ait bitkideki kapsül yapısı

4.2. Apetal çiçek karakteri kalıtımı çalışmaları

Çalışmada apetal çiçek karakterinin kalıtımını belirlemek amacıyla, ebeveyn olarak petalli (V53/1) ve apetal (V53/2) genotipler kullanılmıştır. Bu genotipler arasında gerçekleştirilen resiprokal melezlemeler sonucunda elde edilen F_1 bitkilerinin tamamı petalli olarak gözlemlenmiştir. Bu durum, petal özelliğini belirleyen allelin, apetal allele karşı dominant olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, resiprokal melezleme sonuçlarının benzer olması, *V. hispanica*'da apetal özelliğin sitoplazmik bir etki taşımadığını göstermektedir. Apetal özelliğin monogenik mi yoksa multigenik mi olduğunu belirlemek amacıyla, F_1 bitkileri kendilenmiş ve bu yolla F_2 populasyonu oluşturulmuştur.

2023 Sonbahar – 2024 kış döneminde yetiştirilen F_2 bireyleri, çiçeklenme döneminde çiçek morfolojisine göre fenotipik olarak skorlanmıştır. Ebeveyn ve F_1 bitkilerinden farklı olarak, bu populasyonda yarıpetalli (1–3 petalli) bireyler de gözlemlenmiştir (Şekil 4.2). Tüm bitkiler çiçek morfolojisine göre petalli, yarıpetalli veya apetal olarak sınıflandırılmıştır. Elde edilen fenotipik veriler doğrultusunda ki-kare (χ^2) analizi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.2. F_2 bitkilerinden elde edilen populasyonlardaki petal farklılıkları; a-d) Petalli F_2 bitkisi ve petali; b-e) Yarı petalli F_2 bitkisi ve petali; c-f) Apetal F_2 bitkisi ve tomurcuğu

Petal sayısı bakımından skorlanan 175 adet F_2 bireyinden 123'ü petalli, 35'i yarı petalli ve 17'si apetal olarak sınıflandırılmıştır. Elde edilen bu fenotipik dağılım; 12:3:1 oranında bir genetik açılımı göstermektedir. Yapılan ki-kare (χ^2) analizi sonucuna göre

(Çizelge 4.1.), söz konusu özelliğin iki farklı gen tarafından kontrol edildiği ve bu genlerden birinin diğerine baskın olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. 2023 Sonbahar-2024 kış döneminde yetiştirilen bitkilerden ki kare analizi

Ebevenler	Petal Tipi F_1	Petal Tipi F_2	Tahmini Oran	Gözlenen Bitki Sayısı	Beklenen Bitki Sayısı	x^2	p
V53/2 x V53/1 	Petalli 	Petalli 	12	123	131.25	4.03	0.13
		Yarıpetalli 	3	35	32.81		
		Apetalli 	1	17	10.94		

Literatüre göre, yarıpetallilik ya da petallerdeki morfolojik anormalliklerin düşük sıcaklık stresinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Ma vd. 2015; McKim vd. 2017). Bu çalışmada F_2 bireylerinin yetiştirme dönemi kış aylarına denk geldiğinden, gözlemlenen yarı petallilik durumunun çevresel (soğuk) koşullardan etkilenmiş olabileceği düşünülmüştür. Bu olasılığı değerlendirmek amacıyla, 2024 bahar-yaz döneminde F_2 populasyonu yeniden yetiştirilmiştir. Bu ikinci denemede toplam 178 F_2 bireyi fenotiplenmiş; bunlardan 133'ü petalli, 35'i yarı petalli ve 10'u apetal olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. 2024 bahar-yaz döneminde yetiştirilen bitkilerden ki-kare (χ^2) analizi

Ebeveynler	Petal Tipi F_1	Petal Tipi F_2	Tahmini Oran	Gözlenen Bitki Sayısı	Beklenen Bitki Sayısı	x^2	p
V53/2 x V53/1 	Petalli 	Petalli 	12	133	133.50	0.19	0.91
		Yarıpetalli 	3	35	33.38		
		Apetalli 	1	10	11.13		

Her iki yetiştiricilik dönemi sonucunda da yarı petalli bireylerin benzer oranlarda görülmesi (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2); bu özelliğin çevresel değil, genetik kökenli olabileceğini desteklemekte ve yarı petalliliğin genetik bir karakter olduğu hipotezini güçlendirmektedir.

Elde edilen sonuçların doğruluğunu teyit etmek amacıyla F_3 generasyonun oluşturulması planlanmıştır. Her bir F_2 bitkisi kendilenmiş (Şekil 4.3) ve bu bitkiler arasından rastgele seçilen 48 petalli, 16 yarıpetalli ve 5 apetal F_2 bireyinden elde edilen F_3 tohumları, 2024 Sonbahar – 2025 kış döneminde progeni olarak yetiştirilmiştir (Çizelge 4.3).



a) **b)**

Şekil 4.3. 2024 İlkbahar-yaz döneminde yetiştirilen F_3 bitkilerinden görüntüler; a) kendileme işlemi yapılan F_3 bitkileri, b) yarı petalli F_3 bitkisi

Çizelge 4.3. F_2 bitkilerinden elde edilen F_3 progenilerinde petal tiplerine göre fenotipik dağılım

Sıra No	F_2 Bitkisi No	F_2 Bitki Petal Tipi	F_3 Bitki Sayısı	F_3 Bitkisi Petal Tipleri			Sıra No	F_2 Bitkisi No	F_2 Bitki Petal Tipi	F_3 Bitki Sayısı	F_3 Bitkisi Petal Tipleri		
				Petal	Yarıpetal	Apetal					Petal	Yarıpetal	Apetal
1	1	Petalli	12	12	0	0	**27**	61	Petalli	14	14	0	0
2	3	Petalli	12	9	1	2	**28**	63	Petalli	6	6	0	0
3	5	Petalli	10	6	3	1	**29**	65	Petalli	7	7	0	0
4	7	Petalli	13	9	3	1	**30**	67	Petalli	12	9	3	0
5	8	Petalli	13	13	0	0	**31**	69	Petalli	8	8	0	0
6	10	Petalli	9	7	2	0	**32**	71	Petalli	5	4	1	0
7	17	Petalli	13	11	2	0	**33**	73	Petalli	12	10	2	0
8	19	Petalli	8	7	0	1	**34**	75	Petalli	9	9	0	0
17	33	Petalli	10	7	2	1	**35**	77	Petalli	10	10	0	0
18	35	Petalli	5	5	0	0	**36**	79	Petalli	12	12	0	0
19	37	Petalli	4	4	0	0	**37**	81	Petalli	13	13	0	0
20	41	Petalli	10	10	0	0	**38**	83	Petalli	15	13	2	0
21	42	Petalli	14	10	3	1	**39**	85	Petalli	13	13	0	0
22	51	Petalli	8	8	0	0	**40**	92	Yarıpetalli	9	0	9	0
23	53	Petalli	13	8	5	0	**41**	93	Yarıpetalli	14	0	14	0
24	55	Petalli	12	10	2	0	**42**	94	Yarıpetalli	13	0	13	0
25	57	Petalli	10	10	0	0	**43**	95	Apetalli	11	0	0	11
26	59	Petalli	10	10	0	0	**44**	96	Yarıpetalli	14	0	14	0

Çizelge 4.3.'ün devamı

45	97	Apetalli	8	0	0	8	**56**	142	Petalli	7	7	0	0
46	100	Yarıpetalli	7	0	5	2	**57**	147	Petalli	2	1	0	1
47	101	Petalli	8	4	4	0	**58**	151	Yarıpetalli	6	0	4	2
48	111	Petalli	10	7	3	0	**59**	157	Petalli	11	10	1	0
49	115	Petalli	4	4	0	0	**60**	159	Apetalli	8	0	0	8
50	119	Petalli	10	10	0	0	**61**	163	Petalli	8	4	4	0
51	122	Yarıpetalli	14	0	8	6	**62**	165	Yarıpetalli	8	0	6	2
52	127	Apetalli	8	0	0	8	**63**	169	Petalli	10	8	1	1
53	129	Apetalli	4	0	0	4	**64**	175	Yarıpetalli	10	0	10	0
54	132	Petalli	3	3	0	0	**65**	177	Petalli	8	5	3	0
55	135	Petalli	4	3	1	0	**66**	179	Petalli	1	1	0	0

Petal özelliğin baskın olduğu digenik kalıtım modeline göre; F_3 populasyonunda yarı petalli bitkilerden hem yarıpetalli hem de apetal bireylerin elde edilmesi beklenmiş ve bu beklenti deneysel bulgularla doğrulanmıştır. 12 yarıpetalli F_2 bitkisinden elde edilen F_3 döllerinden Mendel segregasyon ilkelerine uygun olarak yaklaşık 2:1 (yarıpetalli-apetal: yarıpetal) oranında fenotip bireylerin görülmesi öngörülmüş ve bu oran 5 farklı F_2 bitkisinden elde edilen sonuçlarla örtüşmüştür (Çizelge 4.4.) Fenotipik gözlemler sonucunda, aaBB genotipi olarak tahmin edilen tüm bireylerin yarıpetalli fenotip gösterdiği belirlenmiştir. Buna karşılık, aaBb genotipi olarak tahmin edilen F_2 bitkilerinin F_3 döllerinde hem yarıpetalli hem de apetal fenotipin olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. F_2 yarıpetalli bitkilerin kendilemelerinden elde edilen F_3 progenilerinde petal tipi için ki-kare analizi

Petal Tipi F_2	**Petal Tipi F_3**	**Tahmini Oran**	**Gözlenen Bitki Sayısı**	**Beklenen Bitki Sayısı**	**x^2**	**p**
Yarıpetalli 	Yarıpetalli- Apetalli 	2	7	8	0.38	0.54
	Yarıpetalli 	1	5	4		

Petalli bitkilerde ise, fenotipik olarak F_2 kuşağındaki AABB, AABb, AABb ve AAbb genotiplerinden 3:1 oranında petalli bireylerin elde edilmesi beklenmiştir. 48 F_2 bitkisi olmasına karşı bazı F_2 bitkilerin (Çizelge 4.3. de yer alan F_2 bitkileri: 35;37;45;63;65;132;142;179) F_3 yavru sayısı az olduğu için x^2 analizine tabi tutulmamıştır. Petalli 40 F_2 bitkisi üzerinden yapılan değerlendirme sonucunda, 15 F_2 bitkisinin F_3 yavrularının hepsinin petalli fenotip gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. F_2 petalli bitkilerin kendilemelerinden elde edilen F_3 progenilerinde petal tipi için ki-kare analizi

Petal Tipi F_2	**Petal Tipi F_3**	**Tahmini Oran**	**Gözlenen Bitki Sayısı**	**Beklenen Bitki Sayısı**	**x^2**	**p**
Petalli 	Petalli-Yarı petalli-Apetalli 	3	25	30	1.03	0.31
	Petalli 	1	15	10		

Öte yandan, 5 farklı F_2 apetal bitkisinden elde edilen tüm F_3 bireylerinin de tamamen apetal olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.4).



a) **b)**

Şekil 4.4. F_3 bitkilerinin petal tipleri; a) 97 numaralı apetal olan F_2 bitkisinden elde edilen apetal F_3 progenisi; b) 27 numaralı yarıpetalli olan F_2 bitkisinden elde edilen yarıpetalli F_3 progenisi

Elde edilen bu sonuçlar; araştırma kapsamında *V. hispanica* türünde apetal çiçek karakteri kalıtımının digenik kalıtımı 12:3:1 (petalli: yarıpetalli: apetal) modelini desteklemekte ve genetik geçişin beklendiği şekilde gerçekleştiğini ortaya koymaktadır (Şekil 4.5).

Tüm bu veriler toplu olarak değerlendirildiğinde; *V. hispanica*'da apetal çiçek özelliğinin iki gen tarafından kontrol edildiği ve bu genlerin etkileşimi sonucunda fenotiplerin 12:3:1 oranında (petalli: yarıpetalli: apetal) dağıldığı sonucuna varılmıştır. Bu sonuç, *V. hispanica* türünde apetal çiçek karakterinin genetik kontrolüne ilişkin önemli bilgiler sunmakta ve yapılan melezlemelerle elde edilen F_3 bireylerindeki segregasyon oranları, teorik beklentilerle yüksek oranda örtüşerek digenik kalıtım modelini desteklemektedir.

♀ ♂



aabb AABBabb



F_1 ⊗

AaBb

♀ / ♂	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb
aB	AbBB	AbBb	aaBB	aaBb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

Şekil 4. 5. *V. hispanica'*da apetal çiçek karekteri kalıtımının punnet karesi

4.3. Backcroos ve melezleme çalışmaları

Seleksiyonu yapılan bitkilerden elde edilen ebeveyn bireyler, 2022 sonbahar – 2023 kış döneminde yetiştirilmiş ve uygun çiçeklenme aşamasında melezleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.6). Melezleme çalışmalarında çoğunlukla anne ebeveyn olarak apetal genotipler, baba ebeveyn olarak ise petalli genotipler kullanılmıştır. Yapılan melezleme çalışmaları sonucunda V20, V6, V35/1 ve V49/1 numaralı genotiplerde tohum tutumu gözlenmemiştir. Bu genotiplerde melezleme işlemlerine bir sonraki dönemde de devam edilmiştir.



Şekil 4.6. F_1 melezleme sonucu tohum bağlayan kapsüllerden görüntüler

Arı vd. (2022b) tarafından Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan 66 *V. hispanica* genotipinin serada eşit koşullarda yetiştirildiği çalışmada, kapsül başına tohum sayısının sera koşullarındaki tohum üretimi yetiştiriciliğinde 3 - 15 arasında değiştiği ve ortalama 9 adet olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada yapılan melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen kapsüllerde ise genellikle 1–4 adet arası tohum bulunmuştur (Çizelge 4.6). Bu durum, yapılan melezleme işlemlerinin büyük ölçüde başarılı olduğunu göstermektedir. Nitekim bu kapsüllerden elde edilen F_1 bitkilerinin tamamı petalli olarak görülmüştür. Buna karşılık, doğal döllenme sonucu oluştuğu düşünülen ve 8-10 tohum içeren F_1 bireylerinin tamamı apetalli fenotip göstermiştir. F_1 bitkileri yetiştirilirken her bir kapsülden elde edilen tohumlar birbirine karıştırılmadan ayrı ayrı ekilmiştir.

Elde edilen F_1 tohumlarının bir kısmı ile ebeveyn hatlara ait tohumlar, 2023 yılı Nisan ayında hasat edilmiş ve yaklaşık bir ay sonra, 2023 ilkbahar-yaz döneminde sera koşullarında ekilmiştir. Ancak bu ekim denemelerinde tohumlarda çimlenme gözlenmemiştir (Çizelge 4.7). Bu durumun, tohumlarda dormansi olasılığından ya da yüksek sıcaklıkların olumsuz etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Literatüre göre; *V. hispanica* tohumlarının taze olarak primer dormansiye sahip olduğu ve çimlenme davranışının bu dormansi durumuna bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (Duddu ve Shirtliffe 2014). Çimlenmenin yüksek sıcaklıklardan kaynaklanılabileceği düşünülerek laboratuvar koşullarında çimlendirme çalışmaları yapılmış, ancak laboratuar koşullarında yapılan çimlendirme denemelerinde de tohumlarda çimlenme gerçekleşmemiştir.

Çizelge 4.6. 2022 sonbahar-2023 kış döneminde melezleme yapılan ebeveyn genotipler ve F_1 tohum sayıları

Ebeveyn genotipler		Melez Tutan Kapsül Sayısı (Adet)	Etiket Adı	1 Kapsüldeki Tohum Sayısı (Adet)	Toplam Tohum Sayısı (Adet)
♀	♂				
V8	V53/1	1	B1/1	2	3
		1	B1/2	1	
V8	V49/1	1	B2/1	6	34
		1	B2/2	10	
		1	B2/3	8	
		1	B2/4	4	
		1	B2/5	3	
		1	B2/6	2	
		1	B2/7	1	
V8	V57	1	B3/1	1	4
		1	B3/1	1	
		1	B3/2	1	
		1	B3/4	1	
V8	V46	1	B4/1	8	21
		1	B4/2	6	
		1	B4/3	3	
		1	B4/4	3	
		1	B4/5	1	
V8	V42	1	B5/1	3	14
		1	B5/2	7	
		1	B5/3	3	
		1	B5/4	1	
V53/2	V35/2	1	C1	6	10
		1	C2	4	
V53/2	V8	1	C3	5	5
V53/2	V42	1	C4	8	8
V53/2	V46	1	C5	8	8
V53/2	V57	1	C6	8	8
V53/2	V49/2	1	C7/1	8	20
		1	C7/2	2	
		1	C7/3	10	
V53/2	V53/1	1	C8/1	3	11
		1	C8/2	8	
V53/2	V57	1	D1	11	11
V53/2	V49	1	D2/1	7	13
		1	D2/2	6	
V53/2	V46	1	D3/1	8	31
		1	D3/2	11	
		1	D3/3	12	
V53/2	V42	1	D4/1	8	27
		1	D4/2	11	
		1	D4/3	8	
V35/2	V8	1	E1	6	6
V46	V8	1	F1/1	12	26
		1	F1/2	7	
		1	F1/3	3	
		1	F1/4	2	
		1	F1/5	2	
V46	V8	1	F2	2	2
V46	V53/2	1	F3	1	1

Çizelge 4.7. 2023 ilkbahar-yaz döneminde seraya ekimi yapılan ebeveynler

Genotip	Ekim Yapılan Tohum Sayısı (Adet)	Çimlenen Tohum Sayısı (Adet)		Genotip	Ekim Yapılan Tohum Sayısı (Adet)	Çimlenen Tohum Sayısı (Adet)
V6	30	0		V46	30	0
V8	30	0		V49/1	30	0
V20	30	0		V49/2	30	0
V35/1	30	0		V53/1	30	0
V35/2	30	0		V53/2	30	1
V42	30	0		V57	30	0

Çimlenmenin gerçekleşmemesi üzerine, yaklaşık 3 ay boyunca +4 °C'de bekletilen ebeveyn hatlar ve F_1 tohumları**,** 2023 sonbahar-2024 kış döneminde yeniden ekilmiştir. Bu dönemde tohumlar ekim öncesinde, ISTA **(**International Rules for Seed Testing) tarafından önerilen soğuk katlama (pre-chilling) prosedürüne uygun olarak**,** nemli kaba filtre kâğıdı arasında 1 hafta süreyle +4 °C'de bekletilmiş (ISTA 2023), ardından viyollere ekilmiştir. 3 haftalık çimlenme sonuçlarına göre tüm ebeveyn genotiplerde ve F_1 tohumlarında yüksek oranda çimlenme görülmüş (Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9), fideler daha sonra seraya dikilmiştir (Şekil 4.7).

Çizelge 4.8. 2023 sonbahar-2024 kış döneminde ebeveyn olarak kullanılan genotiplerin çimlenme oranları

Genotip	Ekimi Yapılan Tohum Sayısı (Adet)	Çimlenen Tohum Sayısı (adet)	Çimlenme Yüzdesi (%)		Genotip	Ekimi Yapılan Tohum Sayısı (adet)	Çimlenen Tohum Sayısı (adet)	Çimlenme Yüzdesi (%)
V6	40	40	100		V46	40	17	42.5
V8	40	39	97.5		V49/1	20	20	100
V20	40	35	87.5		V49/2	13	10	76.9
V35/1	40	32	80		V53/1	19	17	89.5
V35/2	20	16	80		V53/2	40	33	82.5
V42	20	18	90		V57	36	36	100

Çizelge 4.9. 2023 sonbahar-2024 kış döneminde ekimi yapılan F_1 tohumlarının çimlenme oranları

Ebeveyn genotipler		F_1 Bitkilerinin Etiket Adı	Ekimi Yapılan Tohum Sayısı (adet)	Çimlenen Tohum Sayısı (adet)
♀	♂			
V 8	V49/1	B2/3	2	2
		B2/5	3	3
		B2/7	1	1
V8	V57	B3/4	1	1
V8	V46	B4/1	4	3
		B4/5	1	1
V8	V42	B5/3	2	2
		B5/4	1	0
V53/2	V35/2	C1	2	2
V53/2	V8	C3	1	1
V53/2	V42	C4	2	2
V53/2	V46	C5	2	2
V53/2	V57	C6	2	2
V53/2	V49/2	C7/2	4	4
		C7/3	1	1
V53/2	V53/1	C8/2	2	2
V53/2	V57	D1	2	2
V53/2	V49/2	D2/2	2	2
V53/2	V46	D3/1	4	4
V53/2	V42	D4/2	3	3
V35/2	V8	E 1	2	2
V46	V8	F1/4	2	1
		F1/5	2	1

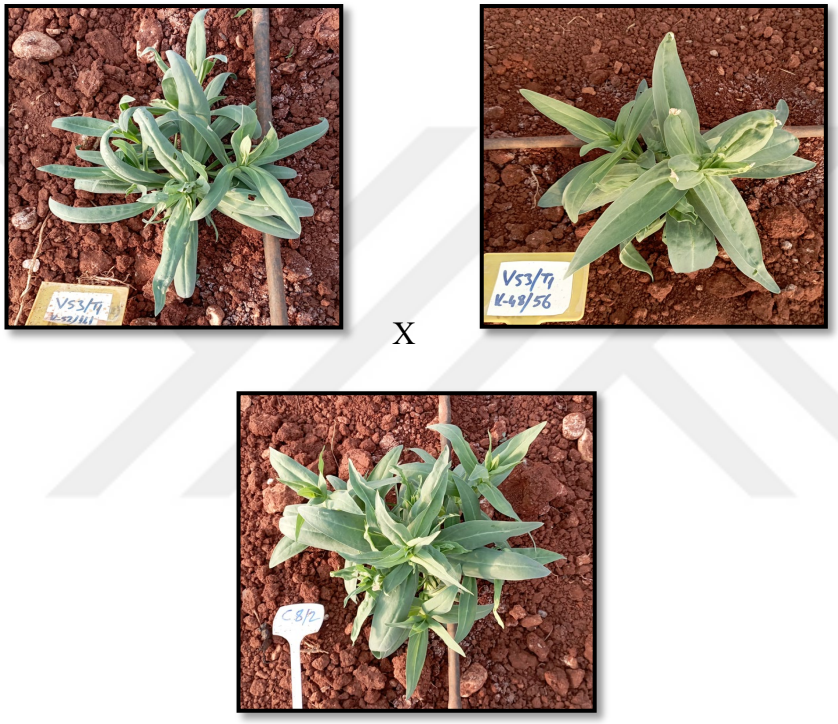
Çizelge 4.9'daki çiçeklenme aşamasına gelen F_1 bitkilerinden D1 ve D4/2 genotipleri apetal olarak görülürken, kalan F_1 bitkileri petalli fenotip göstermiştir. D1 ve D4/2 genotiplerde, anne ebeveyne benzer şekilde apetal fenotip ortaya çıkması, ilgili bireylerin gerçek melez olmadığını, tozlanmanın başarılı gerçekleşmediğini ve apetal özelliğin resesif karakteristik göstermesi nedeniyle kendilenmiş olabileceklerini göstermektedir.

Çalışmada ayrıca apetal özelliğin farklı allellerden kaynaklanıp kaynaklanmadığını belirlemek amacıyla, iki farklı apetal genotip (V8 ve V53/2) birbiriyle melezlenmiştir. Bu çaprazlama sonucunda elde edilen tüm F_1 bitkileri apetalli olarak gelişmiştir. Bu bulgu, apetal fenotipin farklı genlerden değil, aynı lokustaki benzer resesif allellerden kaynaklandığını göstermektedir.

2022 Eylül döneminde melez tutmayan genotiplerde de 2023 sonbahar-2024 kış döneminde melezlemeler yapılmış, V35/1 ve V6 genotipleri V8 hatları ile başarılı şekilde melezlenmiştir (Çizelge 4.10).

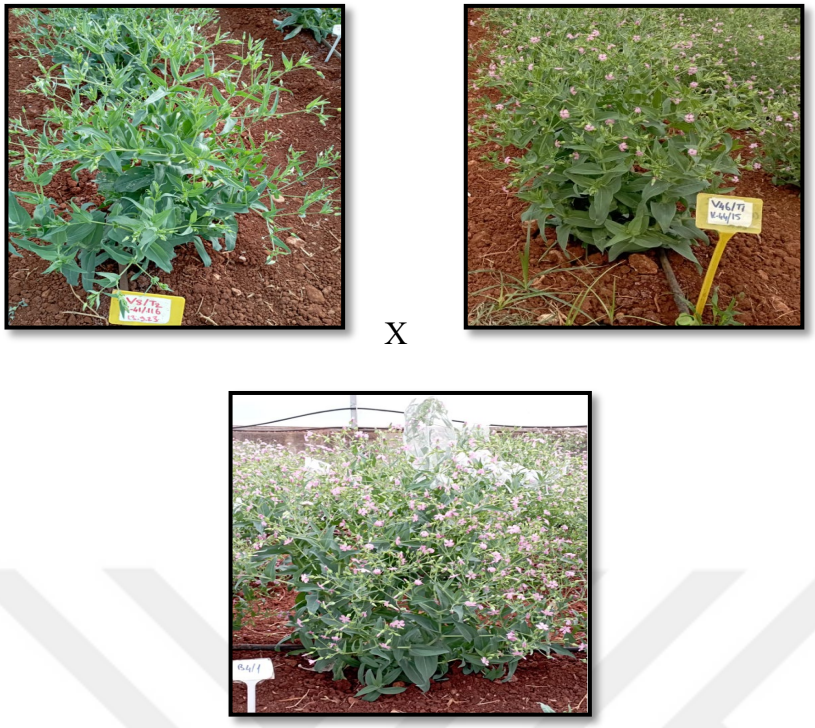
Çizelge 4.10. V6 ve V35/1 genotipleri ile yapılan melezleme sonucu elde edilen tohumlar

Ebeveyn		Melez Tutan Kapsül Sayısı (Adet)	Etiket Adı	Tohum Sayısı / Kapsül (Adet)	Toplam Tohum Sayısı (Adet)
♀	♂				
V 8	V35	1	G1	2	3
V 8	V6	1	H1	3	2

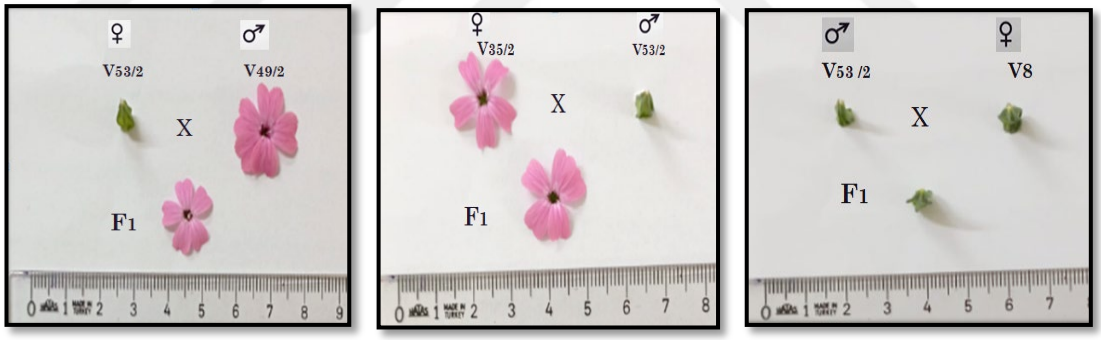


Şekil 4.7. V53/2 ve V53/1 melezi ve ebeyenlerinin bitki gelişim aşamasındaki görüntüsü

F_1 bitkilerinde uygun tomurcuk aşamasında yapılan emaskülasyon sonrası hem kendileme hem de geriye melezleme işlemleri başarıyla uygulanmıştır (Şekil 4.8). F_1 bitkileri, uygun tomurcuk aşamasında petalli ve apetal ebeveynlerle geriye melezlenmiştir. Geriye melezleme çalışmalarında, F_1 hatları çoğunlukla anne ebeveyn olarak kullanılmıştır. F_1 bireylerinin anne olarak tercih edilmesinin nedeni, elde edilen tohumların kendilenip kendilenmediğinin anlaşılabilmesi ve dolayısıyla melezlemenin gerçekleşip gerçekleşmediğinin doğrulanmasıdır. Farklı melezlemelerden elde edilen F_1 bitkilerinin ebeveynlere kıyasla petal özellikleri bakımından farklılıkları Şekil 4.9.'da gösterilmiştir.



Şekil 4.8. V8 x V46 melezi ve ebeveynlerinin çiçek dönemindeki görüntüleri



Şekil 4.9. Farklı melezlemelerden elde edilen F_1 bitkilerinin ebeveynlere kıyasla petal özellikleri bakımından farklılıkları

4.3.1. Backcross melezlemeleri

Backcross melezlemeleri sonucu elde edilen BC_1 tohumları, 2024 ilkbahar-yaz döneminde ekilmiştir. Çimlenme bu dönem de de istenilen düzeyde gerçekleşmemiş ve bazı BC_1 tohumlarında çimlenme görülmemiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. BC melezlemeleri sonucu elde edilen tohum sayıları ve seraya dikilen fide sayıları

Backcross Melezleri İçin Kullanılan Ebeveynler		**Backcross Tutan Kapsül Sayısı (adet)**	**Etiket Adı**	**1 Kapsüldeki Tohum Sayısı (adet)**	**Toplam Tohum Sayısı (adet)**	**Çimlenen Tohum Sayısı (adet)**	**Seraya Dikilen Fide Sayısı (adet)**
♀	♂						
D2/2	V49	1	1	1	7	5	5
		1	2	4			
		1	3	2			
C7/2	V49	1	26	2	5	0	0
		1	27	2			
		1	28	1			
C8/2	V53	1	5	1	9	3	3
		1	6	6			
		1	18	2			
D1	V57	1	4	2	8	6	6
		1	42	4			
		1	46	2			
C4	V42	1	19	1	4	1	1
		1	20	2			
		1	47	1			
C5	V46	1	21	1	12	0	0
		1	22	11			
D3/1	V46	1	7	1	13	3	3
		1	41	9			
		1	32	3			
C1	V35	1	44	3	5	0	0
		1	45	2			
B2/7	V49	1	23	1	31	1	1
		1	24	3			
		1	11	3			
		1	43	5			
		1	52	1			
		1	53	6			
		1	10	2			
		1	49	5			
		1	50	1			
		1	51	4			
B3/4	V57	1	25	1	3	0	0
		1	48	2			
V53/2	D3/1	1	33	1	1	0	0
V8	B4/1	1	38	5	15	3	3
		1	39	4			
		1	40	6			

Çiçeklenme aşamasına ulaşan bazı bitkilerde ise istenilen fenotip gözlenmemiş, bu durum bireylerde melezlemenin gerçekleşmediğini göstermektedir. Teorik olarak, melezlemenin gerçekleşmemesi durumunda BC_1 bitkilerinde fenotipik bir ayrışma beklenirken; melezlemenin başarılı olması hâlinde elde edilen tüm bireylerin petalli fenotip göstermesi gerekmektedir. Nitekim Çizelge 4.11.' deki 22 numaralı F_1 bireyinden elde edilen BC_1 bitkilerinde apetal fenotipin gözlenmesi, söz konusu hatta melezlemenin gerçekleşmediğini açıkça ortaya koymuştur.

Öte yandan, apetal hatların anne olarak kullanıldığı melezlemelerde (40 nolu bitki) (Çizelge 4.11) hem apetal hem de petalli bireyler elde edilmiştir. Bu sonuç da teorik beklentiyle uyumlu olup, apetal hatların genetik olarak heterojen olabileceğini ve melezlemenin başarıyla gerçekleştiğini göstermektedir.

Çalışmada ayrıca çiçeklenme dönemine ulaşan BC_1 bitkileri kendilenerek BC_1F_2 generasyonuna taşınmıştır. Her bir BC_1 tohumundan elde edilen bitkiler ayrı ayrı değerlendirilmiş, kendilenenen her bir bitkinin tohumları ayrı progeni olarak BC_1F_2 generasyonuna ilerletilmiştir.

2024 yılı sonbahar-2025 kış döneminde BC_1F_2 tohumları viyollere ekilmiş ve üç haftalık çimlenme ve gelişim sürecinin ardından seraya aktarılmıştır. Çiçeklenme dönemine ulaşan bitkilerde, çiçek morfolojisi yönünden petalli**,** apetal ve yarı-petalli bireyler gözlemlenmiş ve kayıt altına alınmıştır. Apetal fenotip gösteren bitkiler kendilenerek BC_1F_3 kuşağı elde edilmiştir.

BC_1F_2 populasyonundaki bazı bireylerden elde edilen tüm bitkilerin petalli fenotip göstermesi, teorik beklentilerle uyumludur (Çizelge 4.12). Bu durum, melezleme yapılan bireylerin genotipik yapısı ile açıklanabilir. Örneğin, F_1 bireylerinin AaBb genotipinde ve kullanılan petalli ebeveynin AABB olduğu varsayılırsa, bu melezleme sonucunda AABb genotipine sahip bireylerin elde edilmesi mümkündür. Bu genotipten türeyen tüm bireylerin petalli fenotip göstermesi beklenir.

Tüm BC_1F_2 bitkileri değerlendirildiğinde; hepsinin petalli olduğu görülmüş, BC_1F_2 bireylerinin genotipik dağılımları beklenildiği düzeyde gerçekleşmiştir. Bu bireylerin kendilenmesiyle elde edilen progenilerin fenotipik ayrışmaları, ebeveyn genotipine bağlı olarak farklı oranlarda gerçekleşmiştir. Örneğin, aabb fenotipli bireylerin oluşumu yalnızca AaBb genotipli BC_1 bireylerinin kendilenmesiyle mümkündür ve bu durumda beklenen oran 12:3:1 dir. Örneğin; bu oranla uyumlu fenotipik ayrışma 32-2- BC_1F_2 numaralı hatlarda gözlemlenmiştir (Çizelge 4.12).

AABB ve AABb genotipine sahip BC_1 bireylerinin kendilenmesiyle elde edilen tüm progenilerin petalli fenotipte olması beklenmektedir. Bu durum, 1-BC_1F_2, 2-1-BC_1F_2 vb. numaralı hatlarda gözlemlenmiş ve beklentiyle uyumlu bulunmuştur.

AaBB genotipli bireylerin ise kendilenmesi durumunda 3:1 oranında petalli: yarı-petalli fenotip ayrışması öngörülmektedir. Bu ayrışma örüntüsü, 4-1- BC_1F_2 numaralı hatta doğrulanmıştır (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. 2024 yılı sonbahar-2025 kış döneminde yetiştirilen BC_1F_2 bitkilerinin petal bakımından farklılıkları

BC_1 Melezi Genotipler ♀ ♂	**Genotip No**	**Bitki Sayısı (adet)**	**Petalli Bitki Sayısı (adet)**	**Yarıpetalli Bitki Sayısı (adet)**	**Apetalli Bitki Sayısı (adet)**
D2/2 x V49	1-BC_1F_2	61	61	0	0
D2/2 x V49	2-1- BC_1F_2	40	40	0	0
D2/2 x V49	2-2- BC_1F_2	69	69	0	0
D2/2 x V49	3-1- BC_1F_2	43	43	0	0
D2/2 x V49	3-2- BC_1F_2	45	45	0	0
D1 x V57	4-1- BC_1F_2	80	61	19	0
C8/2 x V53	6-1- BC_1F_2	55	55	0	0
C8/2 x V53	6-2- BC_1F_2	37	33	4	0
C8/2 x V53	18- BC_1F_2	46	39	7	0
D3/1 x V46	32-1- BC_1F_2	52	48	2	2
D3/1 x V46	32-2- BC_1F_2	51	42	6	3
D3/1 x V46	32-3- BC_1F_2	38	38	0	0
V8 x B4/1	39 -BC_1F_2	41	32	6	3
V8 x B4/1	40-1- BC_1F_2	15	13	0	2
V8 x B4/1	40-2- BC_1F_2	5	5	0	0
D1 x V57	42-1- BC_1F_2	88	74	10	4
D1 x V57	42-2- BC_1F_2	80	80	0	0
D1 x V57	42-3- BC_1F_2	32	32	0	0
D1 x V57	46-1- BC_1F_2	88	78	10	0
D1 x V57	46-2- BC_1F_2	80	72	8	0
D1 x V57	46-3- BC_1F_2	60	60	0	0

Çiçeklenme aşamasına gelen bitkilerden apetal fenotiptekiler kendilenmiştir. Apetal olmayan bitkilerden yarıpetalli olanlar da kendilenmiş ve BC_1F_3 generasyonuna ilerletilmiştir. BC_1F_3 bitkilerin de bitkisel özelliklerine bakılmıştır.

2025 Mayıs döneminde viyollere ekilen BC_1F_3 tohumları uygun aşamaya geldikten sonra seraya aktarılmış, agronomik özellikleri tespit edilmiş ve Temmuz-Ağustos aylarında tohum hasatları gerçekleşmiştir. Bitkilerin hasat sonrası özellikleri de incelenerek ebeveyn genotipler ile kıyaslanmıştır.

V. hispanica'da apetal çiçek karakterinin iki gen tarafından kontrol edilmesi ve melezleme sonrası oluşan kapsüllerde tohum sayısının sınırlı olması**,** istenilen AaBb genotipine sahip bireylerin elde edilme olasılığının %25 (1/4) ile sınırlı kalmasına neden olmuş ve bu durum yeterli sayıda backcross (geri melezleme) tohumu elde edilmesini güçleştirmiştir. Tüm bu nedenler göz önünde bulundurularak, Materyal ve Metot bölümünde açıklandığı üzere, her bir F_1 bitkisi kendilenmiş ve bu bireylerden türetilen populasyonlar F_5 kuşağına kadar ilerletilmiştir**.**

4.3.2. Melezleme çalışmaları

2023 sonbahar- 2024 kış döneminde yetiştirilen F_1 bitkileri 2024 Mart ayında hasat edilmiş ve 2024 ilkbahar-yaz döneminde F_2 tohumları ekilmiştir. Bu tohumlarda dormansi gözlendiğinden, çimlenme oranları istenilen düzeye ulaşmamıştır (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. 2024 ilkbahar-yaz döneminde F_2 bitkilerinin çimlenme yüzdeleri

Ebeveyn Genotipler ♀ ♂	Melez Etiket Adı	Ekilen Tohum Sayısı (Adet)	Çimlenen Tohum Sayısı (Adet)	Çimlenme Yüzdesi (%)
V8 x V49	B2/5-F_2	50	16	32
V8 x V57	B3/4-F_2	50	11	22
V8 x V46	B4/1-F_2	50	17	34
V8 x V42	B5/3-F_2	50	19	38
V53/2 xV35	C1-F_2	50	16	32
V53/2 x V8	C3-F_2	50	13	26
V53/2 x V42	C4-F_2	50	18	36
V53 x V46	C5-F_2	50	15	30
V53/2 x V57	C6-F_2	50	25	38
V53/2 x V49	C7/2-F_2	50	23	18

Elde edilen fidelerin de bir kısmı seraya dikildikten sonra sıcaklığa bağlı olarak gövde erimeleri (Phidyum) olmuş ve kayıp edilmiştir (Şekil 4.10). Geriye kalan bitkilerden elde edilen F_2 bireyleri arasında apetal fenotip gösterenler seçilerek kendileme işlemi uygulanmıştır (Şekil 4.11). Ancak çimlenme oranlarının düşük olması ve phidyum nedeniyle bitkilerde yeterli sayı olmaması nedeniyle bazı F_2 bitkilerinde (C1-C4-C5-C6) (Çizelge 4.14) apetal bireylere rastlanmamıştır. Bu nedenle söz konusu hatlarda yarı petalli bireyler kendilenerek çalışmaya devam edilmiştir. Burada yarı petalli hatlardan F_3 bitkilerinde apetal olma ihtmali düşünülmüştür**.**



Şekil 4.10. Gövde erimesi olan bitkilerden görüntüler



(a) **(b)**

Şekil 4.11. F_2 bitkilerinden görüntüler; a) petalli ve apetalli bitki, b) petalli ve yarıpetalli bitki

Çizelge 4.14. F_1 bitkilerinin kendilenmesi sonucu elde edilen F_2 bireylerinde petal tiplerinin fenotipik dağılımı

Melez Adı ♀ ♂	Melez Etiket	Gözlem Yapılan Bitki Sayısı (adet)	Petalli Bitki Sayısı (adet)	Yarıpetalli Bitki Sayısı (adet)	Apetalli Bitki Sayısı (adet)
V8 x V49	B2/5-F_2	8	5	0	3
V8 x V57	B3/4-F_2	7	4	2	1
V8 x V46	B4/1-F_2	7	6	0	1
V8 x V42	B5/3-F_2	2	1	0	1
V53/2 x V35	C1-F_2	5	3	2	0
V53/2 x V8	C3-F_2	7	0	0	7
V53/2 x V42	C4-F_2	3	1	2	0
V53/2 x V46	C5-F_2	10	8	2	0
V53/2 x V57	C6-F_2	19	15	4	0
V53/2 x V49	C7/2-F_2	11	9	1	1

2024 sonbahar-2025 kış döneminde F_3 tohumları ekilmiş ve çiçeklenme döneminde yapılan gözlemlerde, apetal F_2 bitkilerinden elde edilen F_3 bireylerin tamamının apetal fenotip sergilediği belirlenmiştir (Çizelge 4.15). Yarıpetalli F_2 bitkilerinden elde edilen F_3 bireylerde ise hem yarıpetalli hem de apetal fenotipler gözlenmiştir. Bu progeniler içerisinde apetal bireyler seçilerek kendilenmiş (C1 bitkisi) ve F_4 generasyonu oluşturulmuştur. Ancak C5, C6 ve C4 hatlarında apetal birey elde edilememiş, bu nedenle yarıpetalli bireyler seçilerek kendilenmiş ve bu hatlar da F_4 generasyonuna dahil edilmiştir.

Çizelge 4.15. F_3 tohumlarının çimlenme sayıları

Genotip No	Ekilen Tohum Sayısı (adet)	Çimlenen Fide Sayısı (adet)	Çimlenme Oranı (%)
B2/5-F_3	20	14	70
B3/4-F_3	20	5	25
B4/5-F_3	20	3	15
B5/3-F_3	20	14	70
C1-F_3	20	10	50
C3-F_3	20	6	30
C4-F_3	20	12	60
C5-F_3	20	10	50
C6-F_3	20	8	40
C7/2-F_3	20	9	45

2024 ilkbahar-yaz döneminde ayrıca 2023 sonbahar-2024 kış döneminde melezlemeleri tutan V8 x V6 ve V8 x V35/1 melezleri de yetiştirilmiştir (Çizelge 4.16). Çiçeklenme aşamasına gelen F_2 bitkilerinde apetal olan bitkiler tül bir kese ile kendilenmiştir. Bu hatlarda BC melezlemeleri yapılmamıştır.

Çizelge 4.16. V8 x V6 ve V8 x V35/1 genotiplerinden elde edilen F_2 bitkilerin çimlenme oranları

Generasyon	Melez Adı ♀ ♂	Etiket Adı	Ekilen Tohum Sayısı (adet)	Çimlenme Sayısı (adet)	Çimlenme Oranı (%)
F_2	V8 x V35/1	G1	100	35	35
	V8 x V6	H1	100	90	90

2024 ilkbahar-yaz döneminde yetiştirilen F_4 tohumlarından elde edilen bitkilerin ekimleri yapılmış ve bu bitkilerden kendileme yapılarak F_5 generasyonuna ilerletilmiştir. Bu dönemde ayrıca morfolojik özelliklerin ebeveynlerle karşılaştırılması için ebeveyn bitkiler de yetiştirilmiştir. Çalışmada kendilenerek S5 kademesine getirilmiş ebeveyn genotiplere ait çimlenme, çiçeklenme ve hasat tarihleri ile vejetasyon süreleri Çizelge 4.17.'de sunulmuştur. Genotipler arasında ilk fide çıkış tarihleri bakımından belirgin bir farklılık gözlenmemiş, tüm genotiplerde çıkışın ekimden yaklaşık 3–4 gün sonra gerçekleştiği belirlenmiştir. Buna karşılık, tomurcuklanma, çiçeklenme ve hasat tarihleri ile vejetasyon süresi bakımından genotipler arasında belirgin farklılıklar görülmüştür.

Vejetasyon süresi bakımından genotipler değerlendirildiğinde (Çizelge 4.17), V35/1 genotipi 72 gün ile en erkenci genotip olarak öne çıkmıştır. Bunu V20 (77 gün) ve V49/1 (85 gün) genotipleri izlemiştir. Buna karşılık, V49/2 genotipi 98 gün ile en uzun vejetasyon süresine sahip geççi genotip olarak belirlenmiş; V6 (96 gün) ve V53/1 (95 gün) genotiplerinin de geççi karakter gösterdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.17. Ebeveynere ait çimlenme ve hasat tarihleri

Genotip No	Tohum Ekim Tarihi	İlk Fide Çıkış Tarihi	İlk Tomurcuklanma Tarihi	İlk Çiçeklenme Tarihi	%50 Çiçeklenme Gün Sayısı	Hasat Tarihi	Vejetasyon Süresi (Gün)
V6	9.05.2025	13.05.2025	20.06.2025	24.06.2025	2.07.2025	08.08.2025	91
V8	9.05.2025	13.05.2025	29.06.2025	-	-	07.08.2025	90
V20	9.05.2025	12.05.2025	13.06.2025	17.06.2025	21.06.2025	25.07.2025	77
V35/1	9.05.2025	13.05.2025	10.06.2025	14.06.2025	19.06.2025	20.07.2025	72
V35/2	9.05.2025	12.05.2025	24.06.2025	28.06.2025	2.07.2025	10.08.2025	93
V42	9.05.2025	12.05.2025	16.06.2025	21.06.2025	26.06.2025	07.08.2025	90
V46	9.05.2025	12.05.2025	21.06.2025	26.06.2025	29.06.2025	05.08.2025	88
V49/1	9.05.2025	13.05.2025	12.06.2025	15.06.2025	22.06.2025	02.08.2025	85
V49/2	9.05.2025	12.05.2025	2.07.2025	9.07.2025	20.07.2025	15.08.2025	98
V53/1	9.05.2025	12.05.2025	13.06.2025	18.06.2025	26.06.2025	07.08.2025	90
V53/2	9.05.2025	12.05.2025	30.06.2025	-	-	10.08.2025	93
V57	9.05.2025	12.05.2025	15.06.2025	20.06.2025	27.06.2025	05.08.2025	88

En erkenci ve en geççi genotipler arasında yaklaşık 26 günlük bir farkın bulunması (Çizelge 4.17), *V. hispanica*'da fenolojik gelişme bakımından dikkate değer bir genotipik varyasyonun varlığına işaret etmektedir. Deneme süresince özellikle yaz aylarında artan sıcaklık koşullarının, genotiplerde vejetatif gelişmeyi sınırlandırarak erken çiçeklenmeye neden olduğu düşünülmekte, bundan dolayı kapsül ve tohum olgunlaşmasının zaman alması nedeniyle hasat tarihleri arasında farklılıkların ortaya çıktığı tahmin edilmektedir.

Elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde, V35/1 ve V20 genotiplerinin erkencilik özellikleri nedeniyle Antalya ekolojik koşullarında yetiştiricilik ve ıslah çalışmaları açısından avantajlı materyaller olduğu; buna karşılık V49/2 genotipinin geççi karakterleriyle farklı adaptasyon koşulları veya uzun gelişme süresi gerektiren çalışmalar veya iklim koşullarına sahip bölgeler için değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır (Çizelge 4.17). F_1 hatlarından geliştirilen F_4 hatları ve BC_1F_3 hatların fenolojik gelişim kriterleri incelendiğinde ise, tüm materyallerde ekim tarihinin aynı olmasına rağmen hasat tarihleri ve buna bağlı olarak vejetasyon süresi bakımından hatlar arasında belirgin farklılıklar olduğu görülmektedir. Elde edilen hatlarda vejetasyon süresi 84–98 gün aralığında değişmiş, bu durum *V. hispanica*'da fenolojik gelişim hızının genotipe bağlı olarak değişebildiğini göstermiştir (Çizelge 4.18).

F_4 ve BC_1F_3 hatlarının vejetasyon süreleri, genel olarak ebeveyn genotiplere kıyasla bazı hatlarda ebeveynlerle benzerlik gösterirken, bazı hatlarda ise ebeveynlerden farklılık sergilemiştir. Örneğin, baba ebeveyn olarak kullanılan V57 genotipi vejetasyon süresini 88 günde tamamlarken, anne ebeveyn olan V53/2 genotipinde bu süre 93 gün olarak belirlenmiştir. Bu iki ebeveynden geliştirilen C6-F_4 hattının vejetasyon süresi ise 88 gün olup, baba ebeveyn ile benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.18). Buna karşılık, vejetasyon süresi 88 gün olan V46 ile 93 gün olan V53/2 genotiplerinden elde edilen C5/F_4 hattında vejetasyon süresi 95 gün olarak gerçekleşmiş ve bu hat her iki ebeveynden de daha geç olgunlaşmıştır. Bu bulgular, melezleme yoluyla farklı vejetasyon sürelerine sahip genotiplerin bir araya getirilmesinin, yavru hatlarda vejetasyon süresi üzerinde belirgin bir etki oluşturabildiğini göstermektedir (Çizelge 4.18).

Denemede erkenci özellik gösteren V35/1 hattından elde edilen F_2 bireylerinde bitki sayısının yetersiz olması nedeniyle bu hat ileri generasyonlara aktarılamamıştır. Ancak, ilerleyen çalışmalarda daha fazla tohum elde edilmesiyle erkenci ve daha erkenci petalli hatların seçilmesi mümkün olabilecektir. Ayrıca, çalışmada erkenci genotipler arasında yer alan V49/1 ve V20 genotipleri kullanılarak gerçekleştirilen melezleme denemelerinde tohum bağlanmasının gerçekleşmediği belirlenmiştir.

Bu genotipler, ileride yapılacak çalışmalarda ebeveyn materyal olarak yeniden değerlendirilerek erkenci hatların geliştirilmesine yönelik potansiyel adaylar olarak ele alınabilir. BC melezlemelerinde de F_4 hatlarına benzer eğilimler gözlenmiştir. Örneğin, 32-1-BC_1F_3 hattında vejetasyon süresi 88 gün olarak belirlenmiştir. Bu hat, ebeveynleri olan V46 (88 gün) ve V53/2 (93 gün) genotiplerinden baba ebeveyn ile yapılan geri melezleme sonucunda elde edilmiş olup, vejetasyon süresi bakımından baba ebeveyn ile (V46) aynı değeri göstermiştir. Buna karşılık, aynı materyalin F_4 generasyonu olan (C5-F_4) vejetasyon süresinin 95 güne çıktığı belirlenmiştir. Bu durum, geri melezleme

uygulamalarının vejetasyon süresinin, melezlemede kullanılan ebeveyn genotipe doğru uzaması veya kısalmasında etkili olabileceğini ortaya koymaktadır (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. F_4 ve BC_1F_3 bitkilerinin ait çimlenme ve hasat tarihleri

Genotip No	Tohum Ekim Tarihi	İlk Fide Çıkış Tarihi	İlk Tomurcuklanma Tarihi	İlk Çiçeklenme Tarihi	%50 Çiçeklenme Gün Sayısı	Hasat Tarihi	Vejetasyon Süresi (gün)
B2/5-A-F_4	9.05.2025	19.05.2025	26.06.2025	-	-	10.08.2025	93
B2/5-B- F_4	9.05.2025	16.05.2025	26.06.2025	-	-	10.08.2025	93
B2/5-C- F_4	9.05.2025	16.05.2025	26.06.2025	-	-	10.08.2025	93
B3/4-A- F_4	9.05.2025	13.05.2025	25.06.2025	-	-	08.08.2025	91
B4/5-A- F_4	9.05.2025	16.05.2025	25.06.2025	-	-	06.08.2025	89
B5/3-A- F_4	9.05.2025	16.05.2025	28.06.2025	-	-	06.08.2025	89
B5/3-B- F_4	9.05.2025	15.00.2025	26.06.2025	-	-	08.08.2025	91
C1-A- F_4	9.05.2025	12.05.2025	26.06.2025	30.06.2025	06.07.2025	08.08.2025	91
C1-B- F_4	9.05.2025	12.05.2025	26.06.2025	30.06.2025	06.07.2025	10.08.2025	93
C3- F_4	9.05.2025	12.05.2025	29.06.2025	-	-	10.08.2025	93
C4-A- F_4	9.05.2025	13.05.2025	26.06.2025	30.06.2025	08.07.2025	10.08.2025	93
C4-B- F_4	9.05.2025	15.05.2025	25.06.2025	29.06.2025	06.07.2025	08.08.2025	91
C4-C- F_4	9.05.2025	15.05.2025	26.06.2025	31.06.2025	07.07.2025	08.08.2025	91
C5- F_4	9.05.2025	12.05.2025	2.07.2025	07.07.2025	15.07.2025	12.08.2025	95
C6- F_4	9.05.2025	12.05.2025	15.06.2025	23.06.2025	30.06.2025	05.08.2025	88
C7/2- F_4	9.05.2025	12.05.2025	25.06.2025	29.06.2025	05.07.2025	15.08.2025	98

Çizelge 4.18' in devamı

Genotip No	Tohum Ekim Tarihi	İlk Fide Çıkış Tarihi	İlk Tomurcuklanma Tarihi	İlk Çiçeklenme Tarihi	%50 Çiçeklenme Gün Sayısı	Hasat Tarihi	Vejetasyon Süresi (gün)
18-A- BC_1F_3	9.05.2025	13.05.2025	24.06.2025	29.06.2025	02.07.2025	10.08.2025	89
32-1-A- BC_1F_3	9.05.2025	12.05.2025	24.06.2025	-	-	10.08.2025	90
32-2-A- BC_1F_3	9.05.2025	13.05.2025	20.06.2025	-	-	10.08.2025	89
32-2-B- BC_1F_3	9.05.2025	15.05.2025	22.06.2025	-	-	12.08.2025	89
39-A- BC_1F_3	9.05.2025	16.05.2025	20.06.2025	-	-	10.08.2025	86
39-C- BC_1F_3	9.05.2025	16.05.2025	20.06.2025	-	-	10.08.2025	86
42-1-A- BC_1F_3	9.05.2025	16.05.2025	16.06.2025	-	-	12.08.2025	88
42-1-B- BC_1F_3	9.05.2025	13.05.2025	16.06.2025	-	-	12.08.2025	91
42-1-C- BC_1F_3	9.05.2025	15.05.2025	14.06.2025	-	-	12.08.2025	89
YP-46-1-A- BC_1F_3	9.05.2025	13.05.2025	18.06.2025	26.06.2025	30.06.2025	12.08.2025	91
40-1-A- BC_1F_3	9.05.2025	13.05.2025	24.06.2025	-	-	12.08.2025	91
V42-DH	9.05.2025	16.05.2025	22.06.2025	26.06.2025	31.06.2025	14.08.2025	91
V42-DH-LAB	9.05.2025	12.05.2025	30.06.2025	04.07.2025	09.07.2025	10.08.2025	90
H1-F_3	9.05.2025	16.05.2025	20.06.2025	-	-	14.08.2025	90
97-F_3	9.05.2025	12.05.2025	28.06.2025	-	-	10.08.2025	90

Çizelge 4.19. Ebeveyn genotiplerin bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler

Genotip	Bitki Yüksekliği (cm)	Bitki Genişliği (cm)	Tabanda Çatal (Dal) Sayısı (adet)	Tabanda Gövde (Sap) Çapı (cm)	Son 5 Çatal Çiçek Sayısı (adet)	Son Alar Bölgesi Çiçek Sayısı (adet)	Kaliks Boyu (mm)	Kaliks Eni (mm)
V6	35.25 ± 1.60 bc	34.25 ± 3.63 ab	1.50 ± 0.29 b	3.67 ± 0.22 bc	16.75 ± 0.63 ab	3.75 ± 0.48 ab	11.35 ± 0.18 abcd	7.51 ± 0.26 ab
V8	35.75 ± 1.49 b	28.25 ± 0.63 b	1.50 ± 0.29 b	5.77 ± 0.24 a	15.75 ± 0.85 ab	3.00 ± 0.41 b	12.11 ± 0.13 a	8.80 ± 0.21 a
V20	23.00 ± 0.41 g	14.50 ± 0.29 c	0.00 ± 0.00 c	3.04 ± 0.27 bc	14.25 ± 0.48 b	2.75 ± 0.25 b	10.95 ± 0.19 cd	8.49 ± 0.08 a
V35/1	25.25 ± 1.03 fg	14.75 ± 1.11 c	1.25 ± 0.25 b	2.60 ± 0.20 c	14.00 ± 0.41 b	2.75 ± 0.25 b	10.67 ± 0.37 cde	8.48 ± 0.09 a
V35/2	32.50 ± 0.65 bcd	33.00 ± 1.08 ab	1.75 ± 0.25 b	3.42 ± 0.44 bc	16.00 ± 0.41 ab	4.75 ± 0.25 a	11.15 ± 0.17 abcd	8.48 ± 0.32 a
V42	30.50 ± 0.87 cde	19.00 ± 0.82 c	0.00 ± 0.00 c	3.16 ± 0.28 bc	14.25 ± 0.25 b	2.75 ± 0.25 b	11.48 ± 0.15 abc	7.63 ± 0.09 ab
V46	28.25 ± 0.48 fde	17.25 ± 0.25 c	0.00 ± 0.00 c	3.59 ± 0.23 bc	16.50 ± 0.29 ab	3.75 ± 0.48 ab	10.32 ± 0.12 de	7.64 ± 0.11 ab
V49/1	25.75 ± 1.11 efg	16.75 ± 1.38 c	0.00 ± 0.00 c	2.44 ± 0.08 c	14.50 ± 0.65 ab	2.75 ± 0.25 b	10.62 ± 0.16 cde	8.30 ± 0.76 a
V49/2	42.25 ± 1.25 a	40.50 ± 0.96 a	3.25 ± 0.25 a	6.47 ± 0.30 a	16.25 ± 0.48 ab	3.75 ± 0.25 ab	10.53 ± 0.16 cde	8.34 ± 0.09 a
V53/1	34.75 ± 0.48 bc	30.00 ± 2.04 b	1.00 ± 0.00 b	4.03 ± 0.20 b	16.75 ± 0.75 ab	4.00 ± 0.41 ab	9.65 ± 0.19 e	8.10 ± 0.09 ab
V53/2	42.25 ± 1.03 a	40.00 ± 2.34 a	1.75 ± 0.25 b	5.73 ± 0.50 a	17.25 ± 1.11 a	4.00 ± 0.41 ab	10.99 ± 0.38 bcd	8.60 ± 0.45 a
V57	34.75 ± 1.18 bc	31.50 ± 0.96 b	1.25 ± 0.25 b	2.85 ± 0.12 bc	14.75 ± 0.25 ab	3.25 ± 0.25 ab	12.09 ± 0.30 ab	6.64 ± 0.14 b
P	0.000	0.000	0.000	0.00	0.001	0.001	0.000	0.000

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$).

Çalışmada incelenen morfolojik özelliklere ilişkin ortalama değerler ve çoklu karşılaştırma sonuçları değerlendirildiğinde; genotipler arasında bitki yüksekliği, bitki genişliği, tabanda çatal (dal) sayısı, tabanda gövde çapı, son beş çatal çiçek sayısı, son alan bölgesi çiçek sayısı, kaliks boyu ve kaliks eni özellikleri bakımından istatistiksel olarak çok yüksek düzeyde farklılık bulunduğu tespit edilmiştir ($p<0.01$) (Çizelge 4.19). Bu sonuç, araştırmada kullanılan genotiplerin morfolojik varyasyon açısından oldukça geniş bir genetik çeşitlilik sergilediğini göstermektedir.

Çizelge 4.19'a göre genel olarak; V49/2, V8, V39/2 ve 53/2 genotiplerinin bitki boyu, bitki genişliği, çiçek sayıları ve kaliks ölçüleri gibi önemli morfolojik özellikler yönünden üstün performans gösterdiği belirlenmiştir. Buna karşın V20 ve V46 genotipleri, birçok morfolojik özellikte daha düşük değerlere sahip olup zayıf büyüme eğilimi sergilemiştir.

Çalışmanın bir diğer önemli bulgusu da; ebeveyn genotipler, melezlerden ilerletilen F_4 bitkileri ve BC_1F_2 bitkilerin karşılaştırılması sonucunda, bitki morfolojisi ile ilişkili özellikler bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların belirlenmiş olmasıdır.

Çizelge 4.20'de ebeveyn genotipler (V8 ve V46), B4/5-F_4 kuşağı ve BC_1F_3 bireyi (40-1) morfolojik ve çiçekle ilgili özellikler bakımından karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.20. Ebeveyn genotipler (V8, V46), (B4/5-F_4) ve backcross hattı (40-1 BC_1F_3) genotiplerinin bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler

Genotip	Bitki Yüksekliği (cm)	Bitki Genisliği (cm)	Tabanda Çatal (Dal) Sayısı (adet)	Tabanda Gövde (Sap) Çapı (cm)	Son 5 Çatal Çiçek Sayısı (adet)	Son Alar Bölgesi Çiçek Sayısı (adet)	Kaliks Boyu (mm)	Kaliks Eni (mm)
V8	35.75 ± 1.49 ab	28.25 ± 0.63 b	1.50 ± 0.29 a	5.77 ± 0.24 a	15.75 ± 0.85 a	3.00 ± 0.41 a	12.11± 0.13 ab	8.80 ± 0.21 a
V46	28.25 ± 0.48 c	17.25 ± 0.25 d	0.00 ± 0.00 b	0.23 ± 3.59 b	16.50 ± 0.29 a	3.75 ± 0.48 a	10.32 ± 0.12 c	7.64 ± 0.11 bc
B4/5-F_4	39.00 ± 0.41 a	45.00 ± 0.41 a	0.50 ± 0.29 ab	0.12 ± 5.35 a	15.50 ± 0.65 a	3.25 ± 0.25 a	11.44 ± 0.19 b	8.51 ± 0.17 ab
40-1 BC_1F_3	35.00 ± 0.41 b	21.75 ± 1.18 c	0.25 ± 0.25 b	0.09 ± 3.30 b	16.75 ± 0.63 a	3.25 ± 0.25 a	12.90 ± 0.30 a	7.26 ± 0.44 c
P	0.000	0.000	0.004	0.00	0.483	0.538	0.000	0.005

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.20'ye göre, bitki yüksekliği bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($P<0.001$). En yüksek ortalama bitki boyu B4/5-F_4 genotipinde gözlenirken, V46 genotipi en kısa bitki boyuna sahip olmuştur. Geriye melez bireyi olan 40-1 genotipi, ebeveyn değerlerinin arasında yer almış ve özellikle V8 ebeveynine daha yakın bir morfolojik görünüm sergilemiştir. Bu durum, geriye melezlemenin bitki boyu üzerinde ebeveyn etkisini kısmen koruduğunu göstermektedir.

Bitki genişliği ve tabanda çatal (dal) sayısı açısından da genotipler arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (P<0.001). B4/5-F_4 genotipi**,** genişlik ve dallanma bakımından ebeveynlere kıyasla daha yüksek değerler göstermiştir. 40-1 genotipi ise bu özelliklerde orta düzeyde bir performans sergileyerek, geri melez bireylerde beklenen ara fenotip özelliğini ortaya koymuştur (Çizelge 4.20).

Tabanda gövde (sap) çapı incelendiğinde**,** V8 ve B4/5-F_4 genotipleri daha yüksek değerlere sahipken, 40-1-BC_1F_3 genotipi daha ince gövde yapısı göstermiştir. Bununla birlikte, son 5 çatal çiçek sayısı ve son ana bölgesi çiçek sayısı bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (P>0.05) (Çizelge 4.20).

Kalikse ait ölçümler incelendiğinde, kaliks boyu ve kaliks eni açısından genotipler arasında anlamlı farklılıklar belirlenmiştir (P<0.01). Özellikle 40-1-BC_1F_3 genotipi**,** kaliks boyu bakımından en yüksek değeri göstermiş ve bu yönüyle ebeveynlerden ayrışmıştır (Çizelge 4.20). Bu durum, geri melezleme sonrası bazı çiçek morfolojisi özelliklerinde transgresif varyasyonun ortaya çıkabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.21'de ebeveyn genotipler (V8 ve V42) ve B5/3-F_4 populasyonu morfolojik ve çiçekle ilgili özellikler bakımından karşılaştırılmıştır. Bitki morfolojisine ait bazı özellikler yönünden anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Bitki yüksekliği, bitki genişliği, tabanda çatal sayısı, tabanda gövde çapı ve kaliks özellikleri bakımından genotip etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (p<0.05)

Çizelge 4.21. Ebeveyn genotipler (V8, V42) ve (B5/3-F_4) hattının bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler

Genotip	Bitki Yüksekliği (cm)	Bitki Genisliği (cm)	Tabanda Çatal (Dal) Sayısı (adet)	Tabanda Gövde (Sap) Çapı (cm)	Son 5 Çatal Çiçek Sayısı (adet)	Son Alar Bölgesi Çiçek Sayısı (adet)	Kaliks Boyu (mm)	Kaliks Eni (mm)
V8	35.75 ± 1.49 a	28.25 ± 0.63 a	1.50 ± 0.29 a	5.77 ± 0.24 a	15.75 ± 0.85 a	3.00 ± 0.41 a	12.11 ± 0.13 a	8.80 ± 0.21 a
V42	30.50 ± 0.87 b	19.00 ± 0.82 b	0.00 ± 0.00 b	3.16 ± 0.28 b	14.25 ± 0.25 a	2.75 ± 0.25 a	11.48 ± 0.15 b	7.63 ± 0.09 b
B5/3-F_4	34.75 ± 0.48 a	28.00 ± 0.41 a	0.50 ± 0.29 b	5.02 ± 0.16 a	15.75 ± 0.48 a	3.00 ± 0.00 a	11.46 ± 0.04 b	8.35 ± 0.13 a
P	0.013	0.00	0.004	0.00	0.166	0.767	0.005	0.001

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Genel olarak V8 genotipi birçok özellikte daha yüksek değerlere sahip olmuştur**.** Özellikle bitki yüksekliği, bitki genişliği, son beş çatal çiçek sayısı ve kaliks eni gibi bitki büyüklüğünü ve çiçek yapısını etkileyen karakterler yönünden daha yüksek veriler ortaya koymuştur (Çizelge 4.21).

B5/3-F_4 hattı ise çoğu özellikte daha düşük performans göstermiş olup, düşük bitki yüksekliği ve çiçek sayısı ile karakterize edilmiştir. Ancak bazı özelliklerde (örneğin kaliks eni) istatistiksel olarak V8 ile aynı grupta yer alması, hattın belirli generatif karakterler yönünden potansiyel taşıdığını göstermektedir (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.22'de ebeveyn genotipler (V8 ve V49/2) ve B2/5-A- F_4 hattının, ebeveynlerine kıyasla morfolojik özellikler bakımından performansı değerlendirildiğinde ise analiz sonuçlarına göre incelenen özelliklerin büyük bir kısmında genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p<0.05$).

Çizelge 4.22. Ebeveyn genotipler (V8, V42/2) ve (B2/5-F_4) hattının bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler

Genotip	Bitki Yüksekliği (cm)	Bitki Genisliği (cm)	Tabanda Çatal (Dal) Sayısı (adet)	Tabanda Gövde (Sap) Çapı (cm)	Son 5 Çatal Çiçek Sayısı (adet)	Son Alar Bölgesi Çiçek Sayısı (adet)	Kaliks Boyu (mm)	Kaliks Eni (mm)
V8	35.75 ± 1.49 b	28.25 ± 0.63 b	1.50 ± 0.29 b	5.77 ± 0.24 a	15.75 ± 0.85 b	3.00 ± 0.41 a	12.11 ± 0.13 a	8.80 ± 0.21 a
V49/2	42.25 ± 1.25 a	40.50 ± 0.96 a	3.25 ± 0.25 a	6.47 ± 0.30 a	16.25 ± 0.48 b	3.75 ± 0.25 a	10.53 ± 0.16 b	8.34 ± 0.09 a
B2/5-F_4	40.00 ± 0.71 ab	37.75 ± 1.25 a	2.00 ± 0.41 ab	4.72 ± 0.13 b	20.50 ± 1.04 a	3.75 ± 0.25 a	10.43 ± 0.16 b	8.45 ± 0.15 a
P	0.012	0.000	0.011	0.002	0.005	0.201	0.000	0.146

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.22'deki baba genotip V49/2; bitki genişliği, tabanda çatal sayısı, tabanda gövde çapı ve kaliks boyu gibi bitki mimarisi ve generatif organ gelişimi ile ilişkili karakterlerde daha yüksek performans sergilemiş ve güçlü bir gelişim çizgisi ortaya koymuştur. Anne genotip V8 ise incelenen karakterlerin çoğunda daha düşük performans göstererek alt gruplarda yer almıştır. Bu durum, V8'in fenotipik gelişim kapasitesinin daha sınırlı olduğuna işaret etmektedir. Melezleme ile oluşan B2/5-A-F_4 hattı ise özellikle çiçek sayısı ve kaliks özellikleri gibi generatif performansı etkileyen karakterlerde baba genotipe çok yakın veya eşdeğer performans sergilemiş, çoğu özellikte ise baba genotiple aynı performansı sergilemiştir. Bu sonuç, melezleme ile olumlu özelliklerin başarıyla aktarıldığını göstermektedir.

Çizelge 4.23'de ebeveyn genotipler (V8 ve V57) ve B3/4-F_4 hattının morfolojik performansı değerlendirildiğinde; bitki yüksekliği, bitki genişliği ve tabanda gövde çapı gibi özelliklerde genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0.05$).

Çizelge 4.23. Ebeveyn genotipler (V8, V57) ve (B3/4-F_4) hattının bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler

Genotip	Bitki Yüksekliği (cm)	Bitki Genişliği (cm)	Tabanda Çatal (Dal) Sayısı (adet)	Tabanda Gövde (Sap) Çapı (cm)	Son 5 Çatal Çiçek Sayısı (adet)	Son Alar Bölgesi Çiçek Sayısı (adet)	Kaliks Boyu (mm)	Kaliks Eni (mm)
V8	35.75 ± 1.49 ab	28.25 ± 0.63 c	1.50 ± 0.29 a	5.77 ± 0.24 a	15.75 ± 0.85 a	3.00 ± 0.41 a	12.11 ± 0.13 a	8.80 ± 0.21 a
V57	34.75 ± 1.18 b	31.50 ± 0.96 b	1.25 ± 0.25 a	2.85 ± 0.12 b	14.75 ± 0.25 a	3.25 ± 0.25 a	12.09 ± 0.30 a	6.64 ± 0.14 b
B3/4-F_4	40.00 ± 0.82 a	35.50 ± 0.29 a	2.25 ± 0.25 a	3.85 ± 0.21 c	18.25 ± 1.37 a	3.25 ± 0.29 a	11.76 ± 0.31 a	8.24 ± 0.13 a
P	0.028	0.000	0.060	0.000	0.070	0.569	0.569	0.00

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.23'deki baba genotip V57**;** bitki genişliği ve kaliks boyu bakımından daha yüksek veriler ortaya koyarak, daha güçlü bir generatif ve vejetatif gelişim sergilemiştir. Anne genotip V8 ise özellikle bitki genişliği ve bitki yüksekliği bakımından daha düşük değerler oluşturmuştur. B3/4-F_4 hattı ise bitki yüksekliği, bitki genişliği ve tabanda çatal sayısı bakımından ebeveynlerinden daha yüksek veya eşdeğer veriler ortaya koymuş ve çoğu özellik yönünden üstün performans göstermiştir.

Çizelge 4.24'de ebeveyn genotipler (V8 ve V6) ile bunlardan elde edilen H1-F_3 hattının morfolojik performansına göre; özellikle tabanda gövde çapı, kaliks boyu ve kaliks eni bakımından genotipler arasında istatistiksel anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0.01$). Buna karşılık bitki yüksekliği, bitki genişliği, tabanda çatal sayısı ve çiçek sayıları bakımından genotipler arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.24. Ebeveyn genotipler (V8, V6) ve (H1-F_3) hattının bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler

Genotip	Bitki Yüksekliği (cm)	Bitki Genişliği (cm)	Tabanda Çatal (dal) Sayısı (adet)	Tabanda Gövde (sap) Çapı (cm)	Son 5 Çatal Çiçek Sayısı (adet)	Son Alar Bölgesi Çiçek Sayısı (adet)	Kaliks Boyu (mm)	Kaliks Eni (mm)
V8	35.75 ± 1.49 a	28.25 ± 0.63 a	1.50 ± 0.29 a	5.77 ± 0.24 a	15.75 ± 0.85 a	3.00 ± 0.41 a	12.11 ± 0.13 a	8.80 ± 0.21 a
V6	35.25 ± 1.60 a	34.25 ± 3.63 a	1.50 ± 0.29 a	3.67 ± 0.22 c	16.75 ± 0.63 a	3.75 ± 0.48 a	11.35 ± 0.18 b	7.51 ± 0.26 b
H1-F_3	39.00 ± 0.41 a	37.00 ± 3.26 a	1.50 ± 0.20 a	4.76 ± 0.03 b	15.50 ± 0.20 a	3.50 ± 0.20 a	11.36 ± 0.13 b	8.23 ± 0.01 ab
P	0.136	0.139	1.000	0.000	0.366	0.405	0.007	0.004

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0,05$)

Çizelge 4.24'deki baba genotip V6**;** kaliks boyu ve kaliks eni bakımından üst istatistiksel grupta yer alarak generatif organ gelişimi açısından daha avantajlı bir performans sergilemiştir. Anne genotip V8 ise bu özelliklerde daha düşük değerler göstermiştir. H1 hattı**,** tabanda gövde çapı bakımından ebeveynlerinden ayrışarak farklı bir istatistiksel grupta yer almış; kaliks özelliklerinde ise ebeveynlerle benzer veya ara değerler sergilemiştir. Bu durum, melezleme ve seleksiyon süreci sonucunda bazı morfolojik ve generatif özelliklerde ebeveynlerden bağımsız bir varyasyonun ortaya çıkabildiğini göstermektedir.

Çizelge 4.25'de ebeveyn genotipler (V53/2, V8) ile C3-F_4 genotipinin morfolojik özellikler bakımından karşılaştırılması sonucunda; bitki yüksekliği, bitki genişliği ve tabanda gövde çapı özelliklerinde genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0.05$). Buna karşılık tabanda çatal sayısı, çiçek sayıları ve kaliks özellikleri bakımından genotipler arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.25. Ebeveyn genotipler (V53/2, V8) ve (C3-F_4) hattının bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler

Genotip	Bitki Yüksekliği (cm)	Bitki Genişliği (cm)	Tabanda Çatal (Dal) Sayısı (adet)	Tabanda Gövde (Sap) Çapı (cm)	Son 5 Çatal Çiçek Sayısı (adet)	Son Alar Bölgesi Çiçek Sayısı (adet)	Kaliks Boyu (mm)	Kaliks Eni (mm)
V53/2	42.25 ± 1.03 a	40.00 ± 2.34 a	1.75 ± 0.25 a	5.73 ± 0.50 a	17.25 ± 1.11 a	4.00 ± 0.41 a	10.99 ± 0.38 a	8.60 ± 0.45 a
V8	35.75 ± 1.49 b	28.25 ± 0.63 b	1.50 ± 0.29 a	5.77 ± 0.24 a	15.75 ± 0.85 a	3.00 ± 0.41 a	12.11 ± 0.13 a	8.80 ± 0.21 a
C3-F_4	34.25 ± 0.75 b	40.25 ± 0.85 a	1.25 ± 0.25 a	4.32 ± 0.11 b	16.25 ± 0.75 a	3.50 ± 0.29 a	11.56 ± 0.47 a	9.34 ± 0.26 a
P	0.002	0.000	0.440	0.019	0.524	0.220	0.141	0.295

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.26'da ebeveyn genotipler (V53/2 ve V53/1) ile F_4 generasyonunun 97-F_4 hattı ve geri melez 18-A genotipi morfolojik özellikler bakımından karşılaştırıldığında; bitki yüksekliği, bitki genişliği, tabanda çatal sayısı, tabanda gövde çapı ve kaliks boyu özelliklerinde genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0.05$). Buna karşılık, çiçek sayısı ile ilişkili özelliklerde genotipler arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

97-F_4 hattı**,** bitki morfolojisi ile ilişkili özelliklerin büyük bölümünde ebeveyn genotiplerin altında veya ara değerler sergilemiş ve özellikle tabanda gövde çapı bakımından düşük performans göstermiştir. Buna karşılık 18-A geri melez genotipi; tabanda çatal sayısı, tabanda gövde çapı ve kaliks boyu gibi özelliklerde ebeveynlere yakın veya eşdeğer değerler sergileyerek olumlu karakterlerin geriye melezleme yoluyla kazanıldığını ortaya koymuştur (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.26. Ebeveyn genotipler (V53/2, V53/1), (97-F_4) ve backcross (18-A -BC_1F_3) genotiplerin bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler

Genotip	Bitki Yüksekliği (cm)	Bitki Genişliği (cm)	Tabanda Çatal (Dal) Sayısı (adet)	Tabanda Gövde (Sap) Çapı (cm)	Son 5 Çatal Çiçek Sayısı (adet)	Son Alar Bölgesi Çiçek Sayısı (adet)	Kaliks Boyu (mm)	Kaliks Eni (mm)
V53/2	42.25 ± 1.03 a	40.00 ± 2.34 a	1.75 ± 0.25 a	5.73 ± 0.50 a	17.25 ± 1.11 a	4.00 ± 0.41 a	10.99 ± 0.38 a	8.60 ± 0.45 a
V53/1	34.75 ± 0.48 b	30.00 ± 2.04 b	1.00 ± 0.00 ab	4.03 ± 0.20 b	16.75 ± 0.75 a	4.00 ± 0.41 a	9.65 ± 0.19 b	8.10 ± 0.09 a
97-F_4	34.00 ± 1.96 b	27.50 ± 0.87 b	0.50 ± 0.29 b	3.82 ± 0.09 b	16.00 ± 0.71 a	3.25 ± 0.25 a	10.14 ± 0.14 ab	8.80 ± 0.16 a
18-A-BC_1F_3	30.00 ± 1.78 b	27.25 ± 3.20 b	1.75 ± 0.25 a	4.72 ± 0.39 ab	17.25 ± 1.25 a	3.25 ± 0.25 a	10.68 ± 0.18 a	9.05 ± 0.22 a
P	0.001	0.006	0.005	0.007	0.782	0.233	0.010	0.135

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$).

Çizelge 4.27'de ebeveyn genotipler (V53/2 ve V42) ile C4-F_4 hattı ve V42 DH (doubled haploid) genotiplerinin karşılaştırılması sonucunda, bitki yüksekliği, bitki genişliği, tabanda çatal sayısı, tabanda gövde çapı ve kaliks boyu bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0.05$). Buna karşılık kaliks eni bakımından genotipler arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.27. Ebeveyn genotipler (V53/2, V42), (C4-F_4) ve DH V42 genotiplerin bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler

Genotip	Bitki Yüksekliği (cm)	Bitki Genişliği (cm)	Tabanda Çatal (Dal) Sayısı (adet)	Tabanda Gövde (Sap) Çapı (cm)	Son 5 Çatal Çiçek Sayısı (adet)	Son Alar Bölgesi Çiçek Sayısı (adet)	Kaliks Boyu (mm)	Kaliks Eni (mm)
V53/2	42.25 ± 1.03 a	40.00 ± 2.34 a	1.75 ± 0.25 a	5.73 ± 0.50 a	17.25 ± 1.11 a	4.00 ± 0.41 a	10.99 ± 0.38 b	8.60 ± 0.45 a
V42	30.50 ± 0.87 c	19.00 ± 0.82 c	0.00 ± 0.00 b	3.16 ± 0.28 c	14.25 ± 0.25 b	2.75 ± 0.25 b	11.48 ± 0.15 b	7.63 ± 0.09 a
C4-F_4	35.75 ± 0.48 b	34.25 ± 0.85 ab	0.25 ± 0.25 b	4.25 ± 0.14 bc	15.00 ± 0.41 ab	3.00 ± 0.00 ab	11.20 ± 0.09 b	8.30 ± 0.54 a
V42-DH	32.50 ± 0.29 c	28.75 ± 0.85 b	1.25 ± 0.25 a	5.25 ± 0.12 ab	16.00 ± 0.71 ab	3.25 ± 0.25 ab	13.37 ± 0.23 a	7.34 ± 0.25 a
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.052	0.035	0.000	0.114

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.27'deki melezlemelerde elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde; C4-F_4 hattı ara fenotipik özellikler sergilerken, V42 DH genotipi birçok karakter bakımından daha homojen ve belirgin bir morfolojik yapı ortaya koymuş; bu durum doubled haploid uygulamasının ıslah çalışmalarında etkin bir araç olduğunu desteklemiştir.

Çizelge 4.28'de ebeveyn genotipler (V53/2 ve V46) ile C5-F_4 hattı ve 32-1A-BC_1F_3 geri melez hattı karşılaştırıldığında; bitki yüksekliği, bitki genişliği, tabanda çatal sayısı ve tabanda gövde (sap) çapı bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0.001$). Ayrıca kaliks eni açısından da genotipler arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.01$). Buna karşın çiçek sayısı ile ilişkili özellikler ve kaliks boyu bakımından genotipler arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.28. Ebeveyn genotipler (V53/2, V46), (C5-F_4) ve backcross (32-1A -BC_1F_3) genotiplerin bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler

Genotip	Bitki Yüksekliği (cm)	Bitki Genişliği (cm)	Tabanda Çatal (dal) Sayısı (adet)	Tabanda Gövde (sap) Çapı (cm)	Son 5 Çatal Çiçek Sayısı (adet)	Son Alar Bölgesi Çiçek Sayısı (adet)	Kaliks Boyu (mm)	Kaliks Eni (mm)
V53/2	42.25 ± 1.03 a	40.00 ± 2.34 a	1.75 ± 0.25 b	5.73 ± 0.50 a	17.25 ± 1.11 a	4.00 ± 0.41 a	10.99 ± 0.38 a	8.60 ± 0.45 ab
V46	28.25 ± 0.48 c	17.25 ± 0.25 d	0.00 ± 0.00 c	0.23 ± 3.59 b	16.50 ± 0.29 a	3.75 ± 0.48 a	10.32 ± 0.12 a	7.64 ± 0.11 b
C5-F_4	34.00 ± 1.47 b	33.25 ± 1.03 b	2.75 ± 0.25 a	3.62 ± 0.22 b	15.75 ± 0.48 a	3.25 ± 0.25 a	10.28 ± 0.29 a	7.66 ± 0.17 b
32-1A BC_1F_3	24.75 ± 1.03 c	24.00 ± 0.41 c	0.75 ± 0.25 c	3.36 ± 0.06 b	14.75 ± 0.25 a	3.00 ± 0.00 a	10.17 ± 0.27 a	9.16 ± 0.25 a
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.082	0.197	0.208	0.005

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.29.'da ebeveyn genotipler (V53/2 ve V49/2) ile bunlardan elde edilen C7/2-F_4 hattına ait bazı morfolojik özellikler karşılaştırılmıştır. İncelenen özellikler arasında bitki yüksekliği, bitki genişliği, son beş çataldaki çiçek sayısı, son alar bölgedeki çiçek sayısı, kaliks boyu ve kaliks eni bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0.05$). Bu özellikler yönünden C7/2-F_4 genotip, ebeveynleriyle benzer bir fenotipik performans sergilemiştir. C7/2-F_4 hattının değerlendirilen morfolojik özelliklerin büyük bir kısmında ebeveyn genotiplere benzer performans sergilediği, bazı özelliklerde ise ebeveynler arasında ara veya ebeveynlerden birine yakın fenotip gösterdiği ortaya çıkmıştır.

Çizelge 4.29. Ebeveyn genotipler (V53/2, V49/2) ve (C7/2-F_4) hattının bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler

Genotip	Bitki Yüksekliği (cm)	Bitki Genişliği (cm)	Tabanda Çatal (Dal) Sayısı (adet)	Tabanda Gövde (Sap) Çapı (cm)	Son 5 Çatal Çiçek Sayısı (adet)	Son Alar Bölgesi Çiçek Sayısı (adet)	Kaliks Boyu (mm)	Kaliks Eni (mm)
V53/2	42.25 ± 1.03 a	40.00 ± 2.34 a	1.75 ± 0.25 b	5.73 ± 0.50 a	17.25 ± 1.11 a	4.00 ± 0.41 a	10.99 ± 0.38 a	8.60 ± 0.45 a
V49/2	42.25 ± 1.25 a	40.50 ± 0.96 a	3.25 ± 0.25 a	6.47 ± 0.30 a	16.25 ± 0.48 a	3.75 ± 0.25 a	10.53 ± 0.16 a	8.34 ± 0.09 a
C7/2-F_4	40.25 ± 1.25 a	37.75 ± 2.72 a	2.50 ± 0.29 ab	3.95 ± 0.30 b	16.75 ± 1.11 a	3.00 ± 0.41 a	10.86 ± 0.57 a	8.31 ± 0.20 a
P	0.421	0.642	0.010	0.003	0.763	0.184	0.728	0.738

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.30'da ebeveyn genotipler (V53/2 ve V35/2) ile bunların melezlenmesi sonucu elde edilen C1-F_4 hattının morfolojik performansı değerlendirildiğinde; bitki yüksekliği, bitki genişliği, tabanda gövde (sap) çapı ve son alar bölgesi çiçek sayısı bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0.01$). Buna karşılık tabanda çatal sayısı, son 5 çatal çiçek sayısı, kaliks boyu ve kaliks en**i** yönünden genotipler arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.30. Ebeveyn genotipler (V53/2, V35/2) ve (C1-F_4) hattının bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler

Genotip	Bitki Yüksekliği (cm)	Bitki Genişliği (cm)	Tabanda Çatal (Dal) Sayısı (adet)	Tabanda Gövde (Dap) Çapı (cm)	Son 5 Çatal Çiçek Sayısı (adet)	Son Alar Bölgesi Çiçek Sayısı (adet)	Kaliks Boyu (mm)	Kaliks Eni (mm)
V53/2	42.25 ± 1.03 a	40.00 ± 2.34 b	1.75 ± 0.25 a	5.73 ± 0.50 a	17.25 ± 1.11 a	4.00 ± 0.41 ab	10.99 ± 0.38 a	8.60 ± 0.45 a
V35/2	32.50 ± 0.65 b	33.00 ± 1.08 c	1.75 ± 0.25 a	3.42 ± 0.44 b	16.00 ± 0.41 a	4.75 ± 0.25 a	11.15 ± 0.17 a	8.48 ± 0.32 a
C1-F_4	33.25 ± 1.38 b	46.50 ± 1.19 a	2.50 ± 0.29 a	4.66 ± 0.13 ab	16.25 ± 0.48 a	3.00 ± 0.00 b	10.63 ± 0.12 a	8.57 ± 0.18 a
P	0.000	0.001	0.121	0.008	0.476	0.005	0.359	0.966

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.30'daki ebeveyn genotiplerden V53/2, bitki yüksekliği ve tabanda gövde çapı bakımından daha yüksek değerler ortayan koyarak vejetatif gelişim açısından daha güçlü bir performans sergilemiştir. V35/2 genotipi ise özellikle bitki

boyu bakımından daha düşük değerler göstermiş, buna karşılık son alar bölgesi çiçek sayısı yönünden daha yüksek bir performans ortaya koymuştur. C1-F_4 hattı; bitki genişliği bakımından ebeveynlerini aşarak daha üstün performans sergilerken, tabanda gövde çapı bakımından ise ebeveynler arasında ara bir değer sergilemiştir.

Son olarak, Çizelge 4.31'de ebeveyn genotipler (V53/2 ve V57) ile bunların melezlenmesi sonucu elde edilen C6-F_4 hibrit hattı ve geriye melezleme ile oluşturulan 42-1-A-BC_1F_3 backcross hattının morfolojik performansı karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.31. Ebeveyn genotipler (V53/2, V57), (C6-F_4) ve backcross (42-1-A -BC_1F_3) genotiplerin bitki morfolojik özelliklerine ait ortalama değerler

Genotip	Bitki Yüksekliği (cm)	Bitki Genişliği (cm)	Tabanda Çatal (dal) Sayısı (adet)	Tabanda Gövde (sap) Çapı (cm)	Son 5 Çatal Çiçek Sayısı (adet)	Son Alar Bölgesi Çiçek Sayısı (adet)	Kaliks Boyu (mm)	Kaliks Eni (mm)
V53/2	42.25 ± 1.03 a	40.00 ± 2.34 a	1.75 ± 0.25 a	5.73 ± 0.50 a	17.25 ± 1.11 a	4.00 ± 0.41 a	10.99 ± 0.38 b	8.60 ± 0.45 a
V57	34.75 ± 1.18 b	31.50 ± 0.96 b	1.25 ± 0.25 ab	2.85 ± 0.12 b	14.75 ± 0.25 a	3.25 ± 0.25 ab	12.09 ± 0.30 ab	6.64 ± 0.14 b
C6-F_4	33.00 ± 1.29 bc	30.00 ± 0.91 b	0.50 ± 0.29 b	3.87 ± 0.15 b	17.50 ± 1.04 a	3.25 ± 0.25 ab	11.88 ± 0.16 ab	7.57 ± 0.09 ab
42-1-A BC_1F_3	28.00 ± 1.29 c	23.75 ± 1.03 c	0.25 ± 0.25 b	3.49 ± 0.20 b	15.00 ± 0.71 a	2.75 ± 0.25 b	12.80 ± 0.11 a	8.02 ± 0.23 a
P	0.000	0.000	0.006	0.000	0.077	0.073	0.003	0.002

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$).

Çizelge 4.31'e göre; bitki yüksekliği, bitki genişliği, tabanda çatal sayısı, tabanda gövde (sap) çapı, kaliks boyu ve kaliks eni bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0.01$). Buna karşılık son 5 çatal çiçek sayısı ve son alar bölgesi çiçek sayısı yönünden genotipler arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Anne genotip V53/2; bitki yüksekliği, bitki genişliği ve tabanda gövde çapı bakımından en yüksek değerlere sahip iken, özellikle bitki boyu ve gövde çapı bakımından daha düşük değerler sergilemiş, bazı özelliklerde anne genotipten belirgin şekilde ayrışmıştır. C6-F_4 hattı; bitki yüksekliği, bitki genişliği, kaliks boyu ve eni bakımından ebeveynleri arasında ara bir performans göstermiştir. 42-1-A-BC_1F_3 hattı ise; bitki yüksekliği ve bitki genişliği bakımından en düşük değerlere sahip olup V53/2 anne ebeveynden belirgin şekilde ayrışmıştır. Buna karşın kaliks boyu ve kaliks eni bakımından üst istatistiksel grupta yer alarak anne ebeveynine yakın bir performans göstermiştir. Bu durum, geriye melezleme sonucunda bazı özelliklerin anne ebeveyne doğru yöneldiğini**,** bazı özellikler yönünden ise farklılaşmanın devam ettiğini ortaya koymaktadır.

4.3.3. Hasat sonrası incelenen agronomik özellikler

Çalışmada genotiplere ait hasat sonrası agronomik özellikler de incelenmiş ancak söz konusu özelliklere ilişkin veriler tekerrürlü olarak elde edilmediğinden, sonuçlar istatistiksel analizlere tabi tutulmamış; yalnızca ortalama değerler üzerinden değerlendirilmiştir. Bu nedenle hasat sonrası agronomik özelliklerine ait bulgular tanımlayıcı nitelikte olup, genotipler arasındaki karşılaştırmaları ortaya koymak amacıyla yapılmıştır. Hasat ve tohum verimine ilişkin özellikler; tek bitki ağırlığı, bitki başına tohum verimi, hasat indeksi, kapsül içindeki tohum sayısı ve bin tane ağırlığı yönünden incelenmiştir.

Ebeveyn genotiplere ait hasat sonrası agronomik özellikler birlikte değerlendirildiğinde (Çizelge 4.32); tek bitki ağırlığı bakımından en yüksek değer V49/2 genotipinde (14.0 g) belirlenmiş, bunu V53/2 (11.6 g) ve V8 (10.77 g) genotipleri takip etmiştir. En düşük değerler ise V42 (2.07 g) ve V35/1 (2.34 g) genotiplerinde saptanmıştır. Ebeveynler bitki başına tohum verimi yönünden karşılaştırılıdığında ise V8 genotipi 2.87 g ile en yüksek değeri göstermiş, bunu V53/2 (2.38 g) ve V53/1 (1.89 g) izlemiş; V46 (0.22 g) en düşük değeri sergilemiştir. Hasat indeksi bakımından en yüksek değer V42 genotipinde (0.61) belirlenirken, V35/2 ve V53/1 (0.28) bu genotipi takip etmiş, V49/2 (0.04) en düşük hasat indeksine sahip olmuştur. Kapsül içindeki tohum sayısı açısından V53/2 genotipi 13 adet ile en yüksek değeri göstermiş, bunu V35/2 (12.2 adet) ve V49/1 (10.8 adet) izlemiş; V6 (5.2 adet) en düşük değeri vermiştir. Bin tane ağırlığı yönünden ise V6 genotipi 8.39 g ile en yüksek değeri gösterirken, en düşük bin tane ağırlığı V49/1 genotipinde (5.34 g) belirlenmiştir.

Çizelge 4.32. Ebeveyn genotiplerin hasat sonrası verim ve verim bileşenlerine ait agronomik özellikleri

Genotip	Tek bitki Ağırlığı (g)	Bitki Başına Tohum Verimi (g)	Hasat İndeksi	Kapsüldeki Tohum Sayısı (adet)	Bin Dane Ağırlığı (g)
V6	8.83	1.20	0.14	5.20	8.39
V8	10.77	2.87	0.27	9.60	6.78
V20	3.70	0.49	0.13	7.20	5.84
V35/1	2.34	0.41	0.18	6.00	5.73
V35/2	6.13	1.73	0.28	12.20	5.85
V42	2.07	1.26	0.61	9.20	6.02
V46	2.57	0.22	0.09	9.00	6.15
V49/1	2.97	0.56	0.19	10.80	5.34
V49/2	14.00	0.49	0.04	6.00	6.03
V53/1	6.80	1.89	0.28	8.40	6.67
V53/2	11.60	2.38	0.21	13.00	5.50
V57	4.64	0.99	0.21	10.40	6.57

Çalışmada F_4 ve BC_1F_3 generasyonuna ilerletilen genotipler de ebeveynler ile karşılaştırılarak hasat sonrası özellikleri ortaya konmuştur. V8 genotipinin anne ve V46,

V42, V49/2, V57 ve V6 ebeveynlerinin baba olarak kullanıldığı genotipler ile bunlara ait F_4 ve BC_1F_3 genotiplerin hasat sonrası agronomik özellikleri Çizelge 4.33.'de verilmiştir.

Çizelge 4.33. V8 ebeveyni, farklı ebeveyn genotipleri ve bu genotiplerden elde edilen F_4 ve BC hatlarının hasat sonrası agronomik özellikleri

Genotip	**Tek Bitki Ağırlığı (g)**	**Bitki Başına Tohum Verimi (g)**	**Hasat İndeksi**	**Kapsüldeki Tohum Sayısı (adet)**	**Bin Dane Ağırlığı (g)**
V8	10.77	2.87	0.27	9.60	6.78
V46	2.57	0.22	0.09	9.00	6.15
B4/5-F_4	22.00	2.03	0.09	6.00	7.78
40-1	9.23	0.13	0.01	0.40	6.74
Genotip	**Tek Bitki Ağırlığı (g)**	**Bitki Başına Tohum Verimi (g)**	**Hasat İndeksi**	**Kapsüldeki Tohum Sayısı (adet)**	**Bin Dane Ağırlığı (g)**
V8	10.77	2.87	0.27	9.60	6.78
V42	2.07	1.26	0.61	9.20	6.02
B5/3-F_4	6.90	1.10	0.16	7.20	6.67
Genotip	**Tek Bitki Ağırlığı (g)**	**Bitki Başına Tohum Verimi (g)**	**Hasat İndeksi**	**Kapsüldeki Tohum Sayısı (adet)**	**Bin Dane Ağırlığı (g)**
V8	10.77	2.87	0.27	9.6	6.78
V49/2	14	0.49	0.04	6	6.03
B2/5--F_4	9.53	2.18	0.23	8	7.67
Genotip	**Tek Bitki Ağırlığı (g)**	**Bitki Başına Tohum Verimi (g)**	**Hasat İndeksi**	**Kapsüldeki Tohum Sayısı (adet)**	**Bin Dane Ağırlığı (g)**
V8	10.77	2.87	0.27	9.6	6.78
V57	4.64	0.99	0.21	10.4	6.57
B3/4-F_4	15.50	3.18	0.21	9.20	6.77
Genotip	**Tek Bitki Ağırlığı (g)**	**Bitki Başına Tohum Verimi (g)**	**Hasat İndeksi**	**Kapsüldeki Tohum Sayısı (adet)**	**Bin Dane Ağırlığı (g)**
V8	10.77	2.87	0.27	9.60	6.78
V6	8.83	1.20	0.14	5.20	8.39
H1-F_3	12.15	3.83	0.32	9.60	7.75

Çizelge 4.33'e göre, V8 × V46 melezi ve bu melezden ileri kuşaklara ilerletilen B4/5-F_4 bireyi ile BC_1F3 kuşağına ait 40-1 hattı karşılaştırıldığında; bitki başına tohum verimi bakımından V8 ebeveyni 2.87 g ile en yüksek değeri göstermiştir. B4/5-F_4 hattında bu değer 2.03 g olarak belirlenmiş ve V46 ebeveynine (0.22 g) kıyasla belirgin bir artış göstermiştir. Buna karşılık, BC_1F_3 kuşağına ait 40-1 hattında bitki başına tohum verimi oldukça düşük (0.13 g) bulunmuştur. Hasat indeksi açısından V8 genotipi 0.27 ile en yüksek değere sahip olurken, B4/5-F_4 ve V46 genotiplerinde benzer ve düşük değerler tespit edilmiştir. En düşük hasat indeksi 0.01 ile 40-1 hattında belirlenmiş olup, bu durum generatif üretimin sınırlı kaldığını göstermektedir. Kapsül içindeki tohum sayısı bakımından V8 ebeveyni en yüksek değeri (9.60 adet) göstermiş, bunu V46 genotipi izlemiştir. B4/5-F_4 hattında kapsül başına tohum sayısı daha düşük bulunurken, 40-1 hattında bu değer oldukça sınırlı kalmıştır. Bin dane ağırlığı yönünden en yüksek değer B4/5-F_4 hattında (7.78 g) belirlenmiş olup, bu durum söz konusu hattın tohum iriliği bakımından ebeveynlerine göre üstünlük gösterdiğini ortaya koymaktadır.

V8 ebeveyni, V42 hattı ve bunlardan ilerletilen B5/3-F_4 genotipi bitki başına tohum verimi bakımından karşılaştırıldığında; en yüksek değer 2.87 g ile V8 genotipinde belirlenmiştir. V42 hattında bitki başına tohum verimi 1.26 g olarak saptanırken, B5/3-F_4 hattında bu değer 1.10 g düzeyinde kalmıştır. Genotipler hasat indeksi açısından incelendiğinde; V42 genotipinin 0.61 ile en yüksek hasat indeksine sahip olduğu görülmüştür. Buna karşılık, V8 genotipinde hasat indeksi 0.27 olarak belirlenmiş, B5/3-F_4 genotipinde ise bu değer 0.16'ya düşmüştür. Kapsül içindeki tohum sayısı bakımından genotipler arasında büyük farklılıklar gözlenmemiştir. Genotiplerin tohumlarının bin dane ağırlığı değerlendirildiğinde ise; B5/3-F_4 genotipinin 6.67 g ile ebeveynlere yakın bir değer gösterdiği**,** V8 ve V42 genotiplerinde ise bin dane ağırlığının sırasıyla 6.78 g ve 6.02 g olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.33).

Ebeveyn olan V8 ve V49/2 hattı ve bunlardan ilerletilen B2/5-F_4 genotipinin hasat sonrası özellikler bakımından karşılaştırıldığında; bitki başına tohum verimi yönünden en yüksek değer 2.87 g ile V8 genotipinde belirlenmiştir. V49/2 hattında bu değer oldukça düşük (0.49 g) bulunurken, B2/5-F_4 genotipinde bitki başına tohum veriminin 2.18 g'a yükseldiği görülmüştür. Hasat indeksi bakımından değerlendirildiğinde; V8 genotipi 0.27 ile en yüksek değeri sergilerken, V49/2 hattında hasat indeksi oldukça düşük (0.04) bulunmuştur. Kapsül içindeki tohum sayısı bakımından V8 ebeveyni 9.60 adet ile en yüksek değeri göstermiştir. V49/2 hattında kapsül başına tohum sayısı 6.00 adet olarak belirlenirken, B2/5-F_4 hattında bu değer 8 adet ile ebeveynler arasında bir düzeyde yer almıştır. Bin dane ağırlığı yönünden değerlendirildiğinde; en yüksek değer 7.67 g ile B2/5-F_4 hattında tespit edilmiştir. Bu durum, hibrit kombinasyonun kendilenmesiyle elde edilen söz konusu F_4 hattının tohum iriliği ve dolgunluğu bakımından ebeveynlerine kıyasla avantajlı bir performans sergilediğini ortaya kotmuştur (Çizelge 4.33).

V8 ebeveyni, V57 hattı ve bunların melezi olan B3/4-F_4 genotipi hasat sonrası özellikler bakımından karşılaştırıldığında**;** bitki başına tohum verimi yönünden en yüksek değer B3/4-F_4 hattında (3.18 g) belirlenmiştir. V8 ve V57 genotiplerinde bu değer sırasıyla 2.87 g ve 0.99 g olarak saptanmıştır. Hasat indeksi bakımından genotipler arasında belirgin farklılıklar görülmemiş; V8 ve B3/4-F_4 genotiplerinde benzer hasat indeksi değerleri (0.27 ve 0.21) tespit edilmiştir. Kapsül içindeki tohum sayısı bakımından V57 genotipi 10.40 adet ile en yüksek değeri göstermiştir. B3/4-F_4

hattında kapsül başına tohum sayısı 9.20 adet ile ebeveynlere yakın bulunmuştur. Bin dane ağırlığı yönünden genotipler arasında büyük farklılıklar gözlenmemiş; B3/4-F_4 hibriti 6.77 g ile ebeveyn değerlerine yakın bir performans sergilemiştir (Çizelge 4.33).

V8 × V6 melezi ve bu melezden F_3 kuşağına ilerletilen H1-F_3 genotipinin hasat sonrası özellikler bakımından karşılaştırıldığında; bitki başına tohum verimi yönünden en yüksek değer H1-F_4 hibritinde (3.83 g) belirlenmiştir. V8 genotipinde bu değer 2.87 g iken, V6 hattında 1.20 g olarak saptanmıştır. Hasat indeksi açısından değerlendirildiğinde, H1-F_4 genotipi 0.32 ile en yüksek değeri göstermiştir. Kapsül içindeki tohum sayısı bakımından V8 ve H1-F_4 genotipleri benzer değerlere (9.60 adet) sahip olurken, V6 hattında kapsül başına tohum sayısının belirgin şekilde düşük olduğu (5.20 adet) görülmüştür. Bin dane ağırlığı yönünden incelendiğinde, V6 hattı 8.39 g ile en yüksek değeri göstermiştir (Çizelge 4.33).

V8 genotipinin ana ebeveyn olarak kullanıldığı tüm kombinasyonlar birlikte değerlendirildiğinde; bu genotip çoğu karşılaştırmada referans alınabilecek değerlere sahip olmuş ve ileri kuşak hatların geliştirilmesi açısından güçlü bir ana ebeveyn profili ortaya koymuştur. V8 ile farklı hatların melezlenmesi ve bu melezlerin kendilenerek F_5 populasyonuna ilerletilmesi sonucunda elde edilen hatlarda, verim bileşenlerine verilen tepkinin karşı ebeveyn genotipe bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir. Bazı melezlerden türetilen F hatlarında (özellikle B3/4-F_4 ve H1-F_3) bitki başına tohum veriminin V8'i aşması, bu kombinasyonlarda seleksiyon ilerledikçe olumlu genetik kazanımların ortaya çıktığını göstermektedir. Hasat indeksi ve kapsül içindeki dane sayısı bakımından F_4 hatlarının çoğu ebeveynler arasında bir performans sergilerken, bin dane ağırlığı yönünden bazı F_4 hatlarında V8'e kıyasla artış gözlenmiştir**.** Bu durum, seleksiyon süreciyle birlikte özellikle tohum iriliği ve dolgunluğu gibi kalite özelliklerinin iyileştirilebildiğini düşündürmektedir. Genel olarak elde edilen bulgular, V8 genotipinin ana ebeveyn olarak kullanımının uygun olduğunu ve bazı F_4 kuşağı hatlarının ileri ıslah çalışmaları açısından ümitvar materyaller sunduğunu ortaya koymaktadır.

V53/2 genotipinin anne V8, V53/1, V46, V42, V49/2, V57 ve V35/2 genotiplerinin baba olarak kullanıldığı ve bu melezlerden türetilen F_4 ve BC_1F_3 genotiplerin hasat sonrası agronomik özellikleri Çizelge 4.34' de verilmiştir.

Çizelge 4.34'e göre, V53/2, V8 ebeveynleri ve bunlardan elde edilen C3-F_4 hattının hasat sonrası agronomik özellikler bakımından birlikte değerlendirildiğinde; tek bitki ağırlığı açısından en yüksek değer C3-F_4 genotipinde (14.36 g) belirlenmiş, bunu V53/2 (11.60 g) ve V8 (10.77 g) genotipleri izlemiştir. Bitki başına tohum verimi yönünden C3-F_4 hattı 2.96 g ile en yüksek değeri göstermiş, V8 genotipi 2.87 g ile bu hattı yakından takip etmiş, V53/2 genotipinde ise bu değer 2.38 g olarak saptanmıştır. Hasat indeksi bakımından genotipler arasında büyük bir farklılık gözlenmemiştir. Kapsül içindeki tohum sayısı bakımından en yüksek değer V53/2 genotipinde (13 adet) tespit edilmiş, C3-F_4 (9.40 adet) ve V8 (9.60 adet) genotipleri benzer değerlere sahip olmuştur. Bin dane ağırlığı yönünden ise C3-F_4 genotipi 7.10 g ile ebeveynlerine kıyasla daha yüksek bir değer göstermiş olup, bu durum söz konusu hattın tohum iriliği ve dolgunluğu bakımından avantajlı bir performans sergilediğini ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.34. V53/2 ebeveyni, farklı ebeveyn genotipleri ve bu genotiplerden elde edilen F_4 ve BC hatlarının hasat sonrası agronomik özellikleri

Genotip	Tek Bitki Ağırlığı (g)	Bitki Başına Tohum Verimi (g)	Hasat İndeksi	Kapsüldeki Tohum Sayısı (adet)	Bin Dane Ağırlığı (g)
V53/2	11.60	2.38	0.21	13.00	5.50
V8	10.77	2.87	0.27	9.60	6.78
C3-F_4	14.36	2.96	0.21	9.40	7.10
Genotip	**Tek Bitki Ağırlığı (g)**	**Bitki Başına Tohum Verimi (g)**	**Hasat İndeksi**	**Kapsüldeki Tohum Sayısı (adet)**	**Bin Dane Ağırlığı (g)**
V53/2	11.60	2.38	0.21	13.00	5.50
V53/1	6.80	1.89	0.28	8.40	6.67
97 –F_4	10.17	2.36	0.23	7.40	6.85
18-A	10.15	2.86	0.28	10.20	6.04
Genotip	**Tek Bitki Ağırlığı (g)**	**Bitki Başına Tohum Verimi (g)**	**Hasat İndeksi**	**Kapsüldeki Tohum Sayısı (adet)**	**Bin Dane Ağırlığı (g)**
V53/2	11.6	2.38	0.21	13.00	5.50
V42	2.07	1.26	0.61	9.20	6.02
C4-F_4	7.03	0.88	0.13	8.00	8.54
V42-DH	3.76	0.02	0.01	0.10	0.00
V42-DHLab	9.60	2.15	0.22	7.40	5.85
Genotip	**Tek Bitki Ağırlığı (g)**	**Bitki Başına Tohum Verimi (g)**	**Hasat İndeksi**	**Kapsüldeki Tohum Sayısı (adet)**	**Bin Dane Ağırlığı (g)**
V53/2	11.60	2.38	0.21	13.00	5.50
V46	2.57	0.22	0.09	9.00	6.15
C5-F_4	10.13	2.06	0.20	8.20	5.80
32-1B	3.21	0.40	0.12	9.00	6.95
Genotip	**Tek Bitki Ağırlığı (g)**	**Bitki Başına Tohum Verimi (g)**	**Hasat İndeksi**	**Kapsüldeki Tohum Sayısı (adet)**	**Bin Dane Ağırlığı (g)**
V53/2	11.60	2.38	0.21	13.00	5.50
V49/2	14.00	0.49	0.04	6.00	6.03
C7/2-F_4	9.53	1.23	0.13	9.80	6.34
Genotip	**Tek Bitki Ağırlığı (g)**	**Bitki Başına Tohum Verimi (g)**	**Hasat İndeksi**	**Kapsüldeki Tohum Sayısı (adet)**	**Bin Dane Ağırlığı (g)**
V53/2	11.60	2.38	0.21	13.00	5.50
V35/2	6.13	1.73	0.28	12.20	5.85
C1-F_4	7.20	1.27	0.18	10.20	6.36
Genotip	**Tek Bitki Ağırlığı (g)**	**Bitki Başına Tohum Verimi (g)**	**Hasat İndeksi**	**Kapsüldeki Tohum Sayısı (adet)**	**Bin Dane Ağırlığı (g)**
V53/2	11.6	2.38	0.21	13	5.5
V57	4.64	0.99	0.21	10.4	6.57
C6-F_4	7.57	0.86	0.11	9.2	6.34
42-1	7.66	1.8	0.23	10.2	6.04

Çizelge 4.34'e göre, V53/2 ve V53/1 ebeveynleri ile bunlardan elde edilen 97-F_4 ve BC_1F_2 kademesindeki 18-A hatları hasat sonrası agronomik özellikler bakımından birlikte değerlendirildiğinde; tek bitki ağırlığı açısından en yüksek değer V53/2 genotipinde (11.6 g**)** belirlenmiştir. Bunu 18-A (10.15 g) ve 97-F_4 (10.17 g) genotipleri izlerken, V53/1 genotipi (6.80 g) daha düşük bir değer sergilemiştir. Bitki başına tohum verimi yönünden en yüksek değer 18-A genotipinde (2,86 g**)** saptanmış, V53/2 (2.38 g) ve 97 -F_4 (2.36 g) genotipleri bu değere yakın performans göstermiştir. Hasat indeksi bakımından V53/1 ve 18-A genotipleri 0.28 ile en yüksek değerlere sahip olurken, V53/2 genotipinde bu değer 0.21 olarak belirlenmiştir. Kapsül içindeki tohum sayısı açısından en yüksek değer V53/2 genotipinde (13.00 adet) tespit edilmiştir. Bin dane ağırlığı yönünden ise 97-F_4 genotipi 6.85 g ile en yüksek değeri göstermiş, diğer genotipler birbirine yakın değerler sergilemiştir.

V53/2 ve V42 ebeveynleri ile bunlardan türetilen C4-F_4 hattı ve V42 kökenli doubled haploid (DH ve DHLab) hatları hasat sonrası agronomik özellikler bakımından birlikte değerlendirildiğinde; tek bitki ağırlığı açısından en yüksek değer V53/2 genotipinde (11.60 g**)** belirlenmiş, bunu V42 DHLab (9.60 g) ve C4-F_4 hattı (7.03 g) izlemiştir. V42 ebeveyni (2.07 g) ve V42 DH hattı (3.76 g) daha düşük değerler sergilemiştir. Bitki başına tohum verimi yönünden V53/2 genotipi 2.38 g ile en yüksek değeri göstermiş, V42 DH-lab hattı (2.15 g) bu genotipi yakından takip etmiş; V42 DH hattında tohum verimi oldukça düşük (0,02 g) bulunmuştur. Kapsül içindeki tohum sayısı açısından V53/2 genotipi 13 adet ile en yüksek değeri göstermiş, C4-F_4 hattında bu değer 8.00 adet, V42 DHlab hattında ise 7.40 adet olarak belirlenmiştir; V42 DH hattında kapsül içi tohum sayısı oldukça sınırlı (0.10 adet) kalmıştır. Bin dane ağırlığı yönünden en yüksek değer C4-F_4 hattında (8.54 g) tespit edilmiş olup, DHlab hattında orta düzey bir değer (5.85 g) belirlenmiştir. DH hattında ise tohum sayısı çok az olduğu için bin dane ağırlığı hesaplanamamıştır (Çizelge 4.34).

V53/2 ebeveyni, V46 hattı ve bunlardan elde edilen C5-F_4 ile 32-1 genotipleri birlikte değerlendirildiğinde, bitki başına tohum verimi bakımından en yüksek değer V53/2 genotipinde (2.38 g) belirlenmiş, bunu C5-F_4 hattı (2.06 g**)** izlemiştir. V46 ebeveyninde tohum verimi oldukça düşük bulunurken, 32-1 hattında orta düzey bir değer saptanmıştır. Hasat indeksi genotipler arasında genel olarak düşük düzeylerde seyretmiş, belirgin bir üstünlük ortaya çıkmamıştır. Kapsül içindeki tohum sayısı açısından V53/2 genotipi 13.00 adet ile öne çıkarken, diğer genotipler ebeveynlere yakın veya daha düşük değerler göstermiştir. Bin dane ağırlığı yönünden ise 32-1 hattı yüksek bir değer sergileyerek tohum iriliği bakımından dikkat çekmiştir (Çizelge 4.34).

V53/2 ve V49/2 ebeveynleri ile bunlardan elde edilen C7/2-F_4 hattı birlikte değerlendirildiğinde; bitki başına tohum verimi bakımından en yüksek değer V53/2 genotipinde (2.38 g**)** belirlenmiş, C7/2-F_4 hattı (1.23 g) orta düzey bir performans sergilemiştir. V49/2 genotipinde ise tohum verimi oldukça düşük kalmıştır (0.49 g). Hasat indeksi açısından V53/2 genotipi daha yüksek bir değere sahip olurken, V49/2 hattında bu değerin belirgin şekilde düşük olduğu görülmüştür. Kapsül içindeki tohum sayısı bakımından C7/2-F_4 hattı 9.80 adet ile ebeveynler arasında bir değer göstermiştir. Bin dane ağırlığı yönünden genotipler arasında belirgin bir farklılık gözlenmemiş, değerlerin birbirine yakın olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.34).

V53/2 ve V35/2 ebeveynleri ile bunlardan elde edilen C1-F_4 hattı birlikte değerlendirildiğinde, bitki başına tohum verimi bakımından en yüksek değer V53/2 genotipinde (2.38 g**)** belirlenmiş, V35/2 hattı (1.73 g) bu genotipi takip etmiştir. C1-F_4 hattı 1.27 g ile orta düzey bir performans sergilemiştir. Hasat indeksi açısından V35/2 genotipi 0.28 ile öne çıkarken, V53/2 (0.21) ve C1-F_4 (0.18) genotiplerinde daha düşük değerler saptanmıştır. Kapsül içindeki tohum sayısı bakımından V53/2 genotipi 13.00 adet ile en yüksek değeri göstermiş, V35/2 (12.20 adet) ve C1-F_4 (10.20 adet) genotipleri bunu izlemiştir. Bin dane ağırlığı yönünden ise C1-F_4 hattı 6.36 g ile ebeveynlerine kıyasla daha yüksek bir değer sergileyerek tohum iriliği bakımından dikkat çekmiştir (Çizelge 4.34).

V53/2 ve V57 ebeveynleri ile bunlardan türetilen C6-F_4 ve 42-1 genotipleri hasat sonrası özellikler bakımından birlikte ele alındığında; bitki başına tohum veriminin V53/2 genotipinde en yüksek düzeyde gerçekleştiği (2.38 g) görülmüştür. 42-1 hattı (1.80 g) bu değeri izlerken, V57 ve C6-F_4 genotiplerinde tohum veriminin daha sınırlı kaldığı belirlenmiştir. Hasat indeksi bakımından genotipler arasında büyük farklılıklar gözlenmemiş**,** değerlerin 0.11–0.23 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Kapsül içindeki tohum sayısı yönünden V53/2 genotipi öne çıkmış (13.00 adet)**,** diğer genotiplerde bu özellik birbirine yakın düzeylerde (9.00-11.00 adet) seyretmiştir. Bin dane ağırlığı açısından ise genotipler arasında belirgin bir üstünlük oluşmamış, C6-F_4 ve 42-1 hatlarının ebeveynlere yakın değerler sergilediği görülmüştür (Çizelge 4.34).

Tüm tablolar birlikte değerlendirildiğinde; F_4 kuşağına ilerletilmiş hatlar ile BC_1F_2 hatların ebeveyn genotiplere kıyasla birçok hasat sonrası özellik bakımından daha dengeli ve bazı durumlarda üstün bir performans sergilediği görülmektedir. Özellikle bitki başına tohum verimi ve bin dane ağırlığı gibi verimi doğrudan etkileyen özelliklerde, bazı F_4 hatlarının ebeveynleri aştığı ya da ebeveyn değerlerine yakın ve istikrarlı sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Buna karşılık ebeveyn genotipler, bazı özelliklerde (örneğin kapsül içindeki tohum sayısı veya hasat indeksi) yüksek değerlere sahip olmakla birlikte, bu üstünlük her zaman toplam tohum verimine doğrudan yansımamıştır. Elde edilen bu bulgular; F_5 populasyonuna ilerletilmiş hatların ileri ıslah çalışmaları ve seleksiyon süreçlerinde kullanılabilecek, verim ve verim bileşenleri bakımından olumlu özellikler sergileyen ümitvar genetik materyaller olduğunu göstermektedir.

4.4. Androgenesis çalışmaları bulguları

4.4.1. Anter kültürü deneme bulguları

4.4.1.1. I. Grup anter kültürü deneme bulguları

I. Grup anter kültürü çalışmaları kapsamında V8 ve V57 genotiplerinin her birisi 5 farklı indüksiyon ortamında androgenesis performansları yönünden test edilmiştir. Bu kültürlerde her 100 anter başına elde edilen ortalama kallus oluşturan anter sayısı, direkt embriyo, embriyo ve sürgün sayıları tespit edilmiş olup, genotip ve indüksiyon ortamlarının bu parametreler üzerindeki etkilerini belirlemek üzere yapılan varyans analizinin (ANOVA) sonuçları Çizelge 4.35'de verilmiştir.

Çizelge 4.35. I. Grup anter kültürü denemelerinde genotip ve indüksiyon ortamlarının kallus oluşturan anter sayısı, embriyo ve sürgün sayısı / 100 anter üzerine etkileri

Genotip	**Kallus Oluşturan Anter Sayısı /100 Anter**	**Direkt Embriyo Sayısı /100 Anter**	**İndirekt Embriyo Sayısı /100 Anter**	**Sürgün Sayısı /100 Anter**
V8	1.34	1.00	3.50	2.10
V57	1.00	0.00	2.10	1.50
P	0.582	**<0.05**	0.391	0.624
İndüksiyon Ortamı	**Kallus Oluşturan Anter Sayısı /100 Anter**	**Direkt Embriyo Sayısı /100 Anter**	**İndirekt Embriyo Sayısı /100 Anter**	**Sürgün Sayısı /100 Anter**
1	1.25 b	0.00 b	3.75 ab	2.10 ab
2	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
3	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
4	**4.59 a**	**2.50 a**	**10.20 a**	**6.90 a**
5	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
LSD (0.05)	1.90	1.45	5.15	3.70
F value	8.670	4.714	5.858	5.040
SE ±	0.67	0.51	1.84	1.33
Pr>F	<0.01	<0.05	<0.01	<0.05
Genel ortalama	1.17	0.50	2.79	1.80

Anter kültürü çalışmaları kapsamındaki 2 genotipin 5 farklı indüksiyon ortamında kültüre alındığı I. Grup anter kültürlerinde gözlemlenebilir farklılıklar ortaya çıkmıştır. Çizelge 4.35'e göre, genotipler arası karşılaştırmalarda kallus oluşumu bakımında en fazla kallus oluşumu V8 genotipinde (1.34 kallus oluşturan anter sayısı/100 anter) oluşmuştur. Kallus oluşumu yönünden genotipler arasında önemli fark ($F = 0.306$, $P > 0.05$) gözlenmemiştir. İndüksiyon ortamı faktörü yönünden en yüksek kallus oluşumu 4 nolu ortamdan (4.59 kallus oluşturan anter sayısı/100 anter) elde edilirken, 1 nolu ortamda 1.25 kallus oluşturan anter sayısı/100 anter meydana gelmiştir. 2, 3 ve 5 nolu ortamlarda ise kallus oluşumu görülmemiştir. Kallus oluşumu bakımından indüksiyon ortamları arasında fark önemli bulunmuştur ($F = 8.670$, $P < 0.01$) (Çizelge 4.35).

I. Grup anter kültürü denemelerinde kullanılan iki genotipten yalnızca V8 genotipinde direkt embriyo oluşumu gözlenmiş ve bu genotipte 1 embriyo/100 anter veriminde direkt embriyo oluşmuş, genotipin bu oluşumdaki etkisi de istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bulunmuştur (Çizelge 4.35). Genotiplerin kültüre alındığı indüksiyon ortamları değerlendirildiğinde; 5 farklı ortamdan yalnızca 4 nolu indüksiyon ortamında direkt embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. İndüksiyon ortamları arasındaki farklılık da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($F = 4.714$; $p < 0.05$) (Çizelge 4.35). Bu bulgular doğrultusunda, II. Grup anter kültürü denemelerinde 4 nolu indüksiyon ortamına farklı BGD kombinasyonları ve aktif karbon kaynakları eklenerek denemelere devam edilmiştir**.**

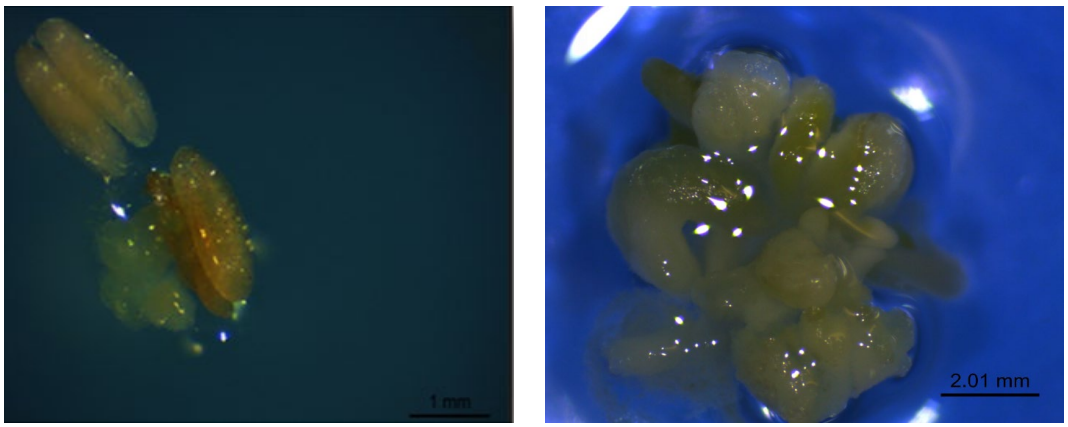
Çizelge 4.36 ya göre genotip ve indüksiyon ortamı interaksiyonu yönünden 100 anterden elde edilen kallus ortalaması 1.67 kallus oluşturan anter sayısı/100 anter olarak gerçekleşmiş, ancak genotip x ortam interaksiyonu bakımından önemli bir fark olmadığı ortaya konulmuştur ($F = 0.115$, $P > 0.001$).

Çizelge 4.36. I. Grup anter kültürü denemelerinde genotip x ortam interaksiyonunun kallus oluşturan anter, embriyo ve sürgün sayısı / 100 anter üzerine etkileri*

İndüksiyon Ortamı	Kallus Oluşturan Anter Sayısı /100 Anter		Direkt Embriyo Sayısı /100 Anter		İndirekt Embriyo Sayısı / 100 Anter		Sürgün Sayısı / 100 Anter	
	Genotipler							
	V8	V57	V8	V57	V8	V57	V8	V57
1	1.67 a	0.83 a	0.00 b	0.00 b	5.42 a	2.08 a	2.50 a	1.67 a
2	0.00 a	0.00 a	0.00 b	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
3	0.00 a	0.00 a	0.00 b	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
4	5.00 a	4.17 a	**5.00 a**	0.00 b	12.08 a	8.33 a	7.92 a	5.83 a
5	0.00 a	0.00 a	0.00 b	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
LSD (0.05)	Önemli değil		2.05		Önemli değil		Önemli değil	
F value	0.115		4.714		0.28		0.118	
SE ±	0.95		0.73		2.60		1.88	
Pr>F	<0.05		<0.05		<0.05		<0.05	
Genel ortalama	1.17		0.50		2.79		1.79	

*LSD testi ile ayrılan ortalamaları için iki yönlü ANOVA kullanılmıştır. Bir sütun içinde farklı harfle ifade edilen ortalamalar $p \leq 0.05$ düzeyinde anlamlı olarak farklıdır.

Çizelge 4.36'ya göre, direkt embriyo verimi bakımından genotipler ve indüksiyon ortamları arasındaki interaksiyon etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($F = 4.714$; $p < 0.05$). İnteraksiyon etkisinin incelendiğinde; genotiplerin indüksiyon ortamlarına verdikleri embriyogenik tepkilerin farklı olduğunu ortaya çıkmıştır. Bu kapsamda, direkt embriyo oluşumu yalnızca 4 nolu indüksiyon ortamında V8 genotipinde gözlenmiş ve bu kombinasyonda 5.00 embriyo/100 anter değeri elde edilmiştir (Şekil 4.12). V57 genotipinde ise hiçbir indüksiyon ortamında direkt embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir. Bu bulgular, direkt embriyogenesis açısından genotiplerin çevresel koşullara verdikleri tepkinin ortama bağımlı olduğunu ve uygun indüksiyon ortamının embriyo oluşumunda belirleyici bir faktör olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.12. I. Grup anter kültürü sonucu elde edilen direkt embriyolar

Genotiplerin indirekt embriyo oluşturma bakımından genel ortalamaları incelendiğinde; V8 genotipinin (2.79 embriyo/100 anter**)** V57 genotipine kıyasla daha yüksek bir ortalama değere sahip olduğu görülmekle birlikte, bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($F = 0.742$; $p > 0.001$) (Çizelge 4.36).

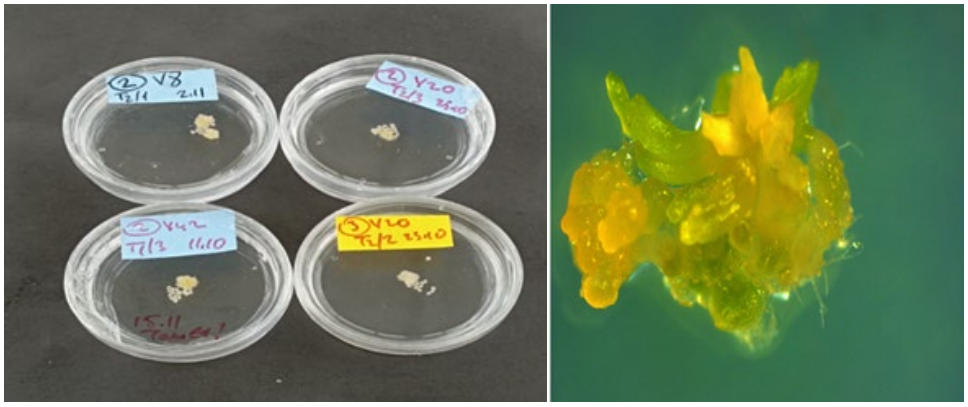
İndüksiyon ortamları arasındaki indirekt embriyo oluşumu değerlendirildiğinde, ortam etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($F = 5.85$; $p < 0.001$). İndüksiyon ortamları incelendiğinde, indirekt embriyo oluşumunun yalnızca 1 ve 4 no'lu ortamlarında gerçekleştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.35).

En yüksek indirekt embriyo verimi 4 no'lu indüksiyon ortamında (10.20 embriyo/100 anter) elde edilmiştir. Buna karşın, 1 nolu ortamda 3.75 embriyo/100 anter elde elde edilirken 2. 3. ve 5. nolu ortamlarda indirekt embriyo oluşumu gözlenmemiştir (Çizelge 4.35).

İndirekt embriyo verimi bakımından genotip × indüksiyon ortamı interaksiyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($F=0.281$, $p>0.001$) (Çizelge 4.36).

Denemede anterlerden elde edilen kalluslar aracılığıyla oluşan indirekt embriyolar, B5 ortamında sürgün gelişiminin teşvik edilmesi amacıyla hormonsuz katı besin ortamlarına aktarılmıştır. Bu doğrultuda elde edilen sürgünlerin genotip, indüksiyon ortamı ve genotip × ortam interaksiyonu bakımından değerlendirilmesi yapılmıştır (Çizelge 4.36).

Genotip ile ortam interaksiyonunun sürgün oluşumu üzerine etkisi incelendiğinde; sürgünlerin yalnızca 1 ve 4 no'lu indüksiyon ortamlarında gerçekleştiği belirlenmiştir. En yüksek sürgün verimi 4 no'lu ortamda V8 genotipinde elde edilmiş (7.92 sürgün/100 anter) (Şekil 4.13), aynı ortamda V57 genotipi daha düşük bir değer (5.83 sürgün/100 anter) oluşturmuştur. Birinci indüksiyon ortamında ise her iki genotipte sınırlı düzeyde sürgün oluşumu gözlenmiş; V8 ve V57 genotiplerinde sırasıyla 2.50 ve 1.67 sürgün/100 anter değerleri kaydedilmiştir. Diğer indüksiyon ortamlarında her iki genotipte de sürgün oluşumu gerçekleşmemiştir (Çizelge 4.36)



Şekil 4.13. I. Grup anter kültürü sonucu elde edilen kalluslar ve sürgünler

Sürgün verimi bakımından genotip × indüksiyon ortamı interaksiyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış, benzer şekilde genotip ve ortamın bireysel etkileri açısından da anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

4.4.1.2. II. Grup anter kültürü deneme bulguları

II. Grup anter kültürü denemeleri kapsamında; 5 genotipin her biri 10 farklı indüksiyon ortamında test edilmiş olup, varyans analiz sonuçlarına göre (Çizelge 4.37) kallus oluşumu bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir ($F = 1.584$; $p > 0.05$). Buna karşılık, indüksiyon ortamları arasında kallus oluşumu yönünden istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı farklar tespit edilmiştir ($F = 11.078$; $p < 0.05$). Bu bulgu, indüksiyon ortamı içeriğinin kallus oluşumu üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

Genotip ve indüksiyon ortamı gruplarından hangi grubun diğerlerinden farklı olduğunu bulmak için LSD testi yapılmıştır. II. Grup anter kültürü denemelerinde 5 genotipin hepsinde kallus oluşmuştur. Bunlar arasından en yüksek kallus üretimi 2.84 kallus oluşturan anter sayısı/100 anter ortalama ile V20 genotipinden elde edilirken, en düşük ortalama 1.45 kallus oluşturan anter sayısı/100 anter ile V46 genotipinde meydana gelmiştir (Çizelge 4.37).

Genotiplerin kültüre alındığı indüksiyon ortamları yönünden ise ortamların hepsinde kallus oluşmuştur. Bunlar arasından en yüksek kallus üretimi ortalama 6.00 kallus oluşturan anter sayısı/100 anter ile 2. ortamdan elde edilirken, onu 4.00 kallus oluşturan anter sayısı/100 anter ortalama ile 8. ortam takip etmiştir. En düşük ortalama değer olan 0.11 kallus oluşturan anter sayısı/100 anter ise 6. ortamda meydana gelmiştir (Çizelge 4.37).

Çizelge 4.37. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip ve ortamların kallus oluşturan anter sayısı/100 anter üzerine etkileri*

	Genotip									
	V8	**V20**	**V42**	**V46**	**V53**					
Kallus Oluşturan Anter Sayısı / 100 anter	2.45 a	2.84 a	2.29 a	1.45 a	2.06 a					
LSD (0,05)	1.15									
F value	1.584									
SE ±	0.41									
Pr>F	<0.178									
Genel ortalama	2.17									
	İndüksiyon Ortamları									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kallus Oluşturan Anter Sayısı / 100 anter	1.78 bcd	**6.00 a**	1.00 cd	0.22 d	1.45 bcd	0.11 d	0.79 cd	4.00 ab	3.00 bc	3.79 ab
LSD (0,05)	1.6									
F value	11.078									
SE ±	0.58									
Pr>F	<0.001									
Genel ortalama	2.21									

Kallus oluşumu açısından genotip × indüksiyon ortamı interaksiyonunun da istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($F = 1.886$; $p<0.05$). Bu durum, genotip ve indüksiyon ortamlarının kallus oluşumunu tek başlarına etkilemelerinin yanı sıra, birlikte değerlendirildiklerinde kallus oluşumu üzerinde önemli bir etkileşim ortaya koyduklarını göstermektedir (Çizelge 4.38).

Ortam ve genotip interaksiyonu yönünden ise, en yüksek ortalama kallus üretimi 2. ve 8. ortamda kültüre alınan V20 ve ve V8 genotipinden (8.89 kallus oluşturan anter sayısı/100 anter) elde edilirken, en düşük ortalama değer 0.55 kallus oluşturan anter sayısı/100 anter 5.,6. ve 7. ortamda kültüre alınan V8, V20 ve V42 genotipinde oluşmuştur (Çizelge 4.38).

Çizelge 4.38. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip x ortam interaksiyonunun kallus oluşturan anter sayısı/100 anter üzerine etkileri*

İndüksiyon Ortamı	Genotip				
	V8	**V20**	**V42**	**V46**	**V53**
1	2.22 bc	0.00c	3.33 bc	0.00 c	3.33 bc
2	5.00 b	**8.89 a**	7.78 a	6.11 ab	2.22 bc
3	0.00 c	5.00 b	0.00 c	0.00 c	0.00 c
4	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c	1.11 c
5	0.55 c	3.33 bc	1.67 c	0.00 c	1.67 c
6	0.55 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c
7	0.00 c	0.55 c	0.55 c	0.00 c	2.78 bc
8	**8.89 a**	3.33 bc	3.89 b	1.11 c	2.78 bc
9	1.67 c	5.55 ab	2.78 bc	2.78 bc	2.22 bc
10	5.55 ab	1.67 c	2.78 bc	4.44 b	4.44 b
LSD (0,05)	3.60				
F value	1.886				
SE ±	1.29				
Pr>F	<0.05				
Genel ortalama	2.21				

*LSD testi ile ayrılan ortalamalar için iki yönlü ANOVA kullanılmıştır. Bir sütun içinde farklı harfle ifade edilen ortalamalar p≤0.05 düzeyinde anlamlı olarak farklıdır

II. Grup anter kültürü denemeleri kapsamında elde edilen direkt embriyo oluşumu verilerine ilişkin varyans analizi sonuçları incelendiğinde (Çizelge 4.39); direkt embriyo oluşumu bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir ($F = 1.978$; $p > 0.01$). İndüksiyon ortamları arasında ise direkt embriyo oluşumu yönünden istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı farklar tespit edilmiştir ($F = 7.918$; $p < 0.01$). Bu bulgu, indüksiyon ortamı içeriğinin direkt embriyo oluşumu üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

II. Grup anter kültürü denemeleri kapsamında, incelenen 5 genotipten 4 tanesinde direkt embriyo oluşumu gözlenmiştir. Genotipler arasında yapılan değerlendirmede, en yüksek direkt embriyo üretimi ortalama 0.61 embriyo/100 anter ile V20 genotipinde elde edilirken, en düşük ortalama değer 0.11 embriyo/100 anter ile V46 genotipinde belirlenmiştir. V42 genotipinde ise direkt embriyo oluşumu gözlenmemiştir (Çizelge 4.39).

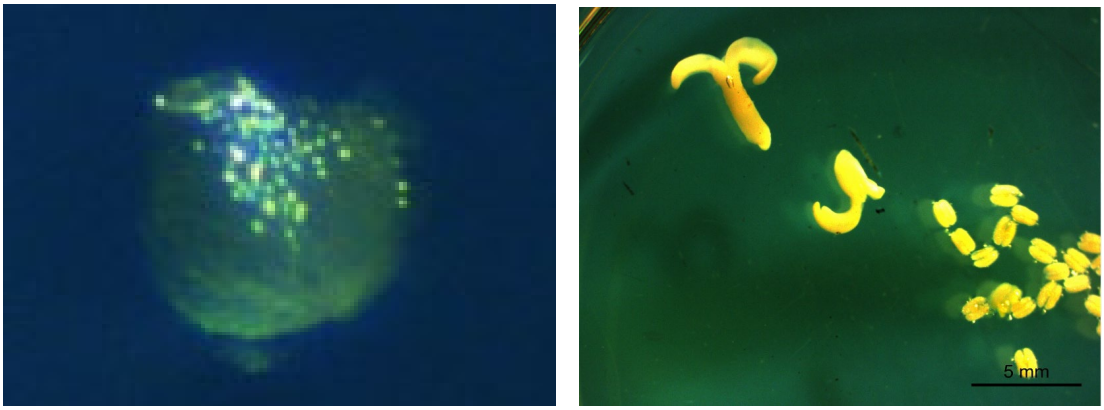
Genotiplerin kültüre alındığı indüksiyon ortamları değerlendirildiğinde, test edilen 10 indüksiyon ortamından yalnızca 3'ünde direkt embriyo oluşumu meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu ortamlar arasında en yüksek direkt embriyo oluşumu ortalama 2.11 embriyo/100 anter ile 1. indüksiyon ortamında elde edilmiş, bunu ortalama 0.11 embriyo/100 anter ile 5. ve 7. indüksiyon ortamları takip etmiştir (Çizelge 4.39). Bu sonuçlar, indüksiyon ortamı içeriğinin direkt embriyo oluşumunu başlatmada ve sürdürmede kritik bir belirleyici faktör olduğunu ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.39. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip ve ortamların direkt embriyo sayısı / 100 anter üzerine etkileri

	Genotip									
	V8		**V20**		**V42**		**V46**		**V53**	
Direkt Embriyo Sayısı/ 100 anter	0.17 a		0.61 a		0.00 a		0.11 a		0.29 a	
LSD (0,05)	0.65									
F value	1.978									
SE ±	0.165									
Pr>F	0.097									
Genel ortalama	0.23									
	İndüksiyon Ortamları									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Direkt Embriyo Sayısı/ 100 anter	**2.11 a**	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.11 b	0.00 b	0.11 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
LSD (0,05)	0.65									
F value	7.918									
SE ±	0.235									
Pr>F	<0.001									
Genel ortalama	0.23									

Direkt embriyo oluşumu açısından genotip × indüksiyon ortamı interaksiyonunun da istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($F = 1.779$; $p < 0.05$) (Çizelge 4.40). Elde edilen bulgular, direkt embriyo oluşumunun yalnızca genotip ile değil, ortam veya genotip x ortam interaksiyonu ile birlikte embriyo oluşumu üzerinde önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır.

Ortam × genotip interaksiyonu bakımından yapılan değerlendirmede, en yüksek ortalama direkt embriyo üretiminin 2. indüksiyon ortamında kültüre alınan V20 genotipinde gerçekleştiği ve bu değerin 5.55 embriyo/100 anter olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.14). Buna karşılık, en düşük ortalama değer olan 0.55 embriyo/100 anter, 1., 5. ve 7. indüksiyon ortamlarında kültüre alınan V46 ve V20 genotiplerinde saptanmıştır (Çizelge 4.40).



Şekil 4.14. II. Grup anter kültürü sonucu elde edilen direkt embriyo ve kotiledon aşamasındaki embriyolar

Çizelge 4.40. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip x ortam interaksiyonunun direkt embriyo sayısı / 100 anter üzerine etkileri*

İndüksiyon Ortamı	**Genotip**				
	V8	**V20**	**V42**	**V46**	**V53**
1	1.67 c	**5.56 a**	0.00 d	0.56 d	2.78 b
2	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
3	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
4	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
5	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.56 d	0.00 d
6	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
7	0.00 d	0.56 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
8	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
9	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
10	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
LSD (0.05)	1.45				
F value	1.779				
SE ±	0.525				
Pr>F	≤0.05				
Genel ortalama	0.23				

*LSD testi ile ayrılan ortalamaları için iki yönlü ANOVA kullanılmıştır. Bir sütun içinde farklı harfle ifade edilen ortalamalar p≤0.05 düzeyinde anlamlı olarak farklıdır

Çizelge 4.40'a göre, direkt embriyo oluşumu bakımından indüksiyon ortamının ana etkisinin genotip etkisine kıyasla daha belirgin olduğu, bununla birlikte genotiplerin farklı indüksiyon ortamlarına verdikleri tepkilerin değişkenlik gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu durum, direkt embriyo oluşumunun yalnızca genetik yapıdan değil,

aynı zamanda kullanılan indüksiyon ortamlarının bileşiminden ve bu ortamların genotiplerle olan etkileşiminden de güçlü biçimde etkilendiğini ortaya koymaktadır.

II. Grup anter kültürü denemelerinde elde edilen kallusların bir süre sonra embriyojenik gelişim gösterdiği gözlenmiştir. Bu kapsamda oluşan indirekt embriyolardan elde edilen veriler de varyans analizine tabi tutulmuştur. Varyans analizi sonuçlarına göre (Çizelge 4.41) indirekt embriyo oluşumu bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($F = 5.023$; $p < 0.01$). Benzer şekilde, kallusların indirekt embriyo oluşturma kapasiteleri indüksiyon ortamları açısından karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ($F = 9.736$; $p < 0.01$).

Çizelge 4.41. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip ve ortamların indirekt embriyo sayısı / 100 anter üzerine etkileri

	Genotip				
	V8	**V20**	**V42**	**V46**	**V53**
İndirekt Embriyo Sayısı/ 100 anter	**5.33 a**	4.72 a	1.78 b	1.72 b	3.79 ab
LSD (0,05)	2.05				
F value	5.023				
SE ±	0.74				
Pr>F	<0.001				
Genel ortalama	3.47				

	İndüksiyon Ortamları									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
İndirekt Embriyo Sayısı/ 100 anter	2.44 bcde	**10.56 a**	2.22 bcde	0.55 cde	2.55 bcde	0.00 e	0.22 de	6.10 ab	5.10 bc	4.90 bcd
LSD (0,05)	2.95									
F value	9.736									
SE ±	1.05									
Pr>F	<0.001									
Genel ortalama	3.46									

Çalışmada indirekt embriyo oluşumu bakımından incelenen 5 genotipin hepsinde indirekt embriyo oluşumu gözlenmiştir. Genotipler arasında yapılan değerlendirmede, en yüksek indirekt embriyo oluşumu ortalama 5.33 embriyo/100 anter ile V8 genotipinde elde edilirken, bunu 4.72 embriyo/100 anter ile V20 genotipi takip etmiştir. En düşük ortalama değer 1.72 embriyo/100 anter ile V46 genotipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.41).

Genotiplerin kültüre alındığı indüksiyon ortamları değerlendirildiğinde, test edilen 10 indüksiyon ortamından yalnızca 6 numaralı ortam hariç diğer ortamlarda indirekt embriyo oluşumu meydana geldiği gözlemlenmiştir. Bu ortamlar arasında en

yüksek indirekt embriyo oluşumu 2. ortamda 10.56 embriyo/100 anter ile elde edilmiştir. İndüksiyon ortamları arasında en düşük indirekt embriyo verimi en ise 0.55embriyo/100 anter ile 4. indüksiyon ortamında gerçekleşmiştir (Çizelge 4.41).

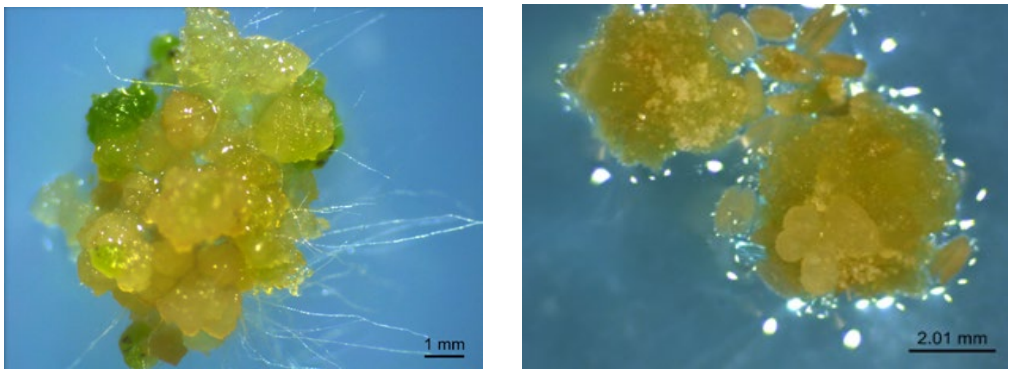
Ayrıca, indirekt embriyo oluşumu yönünden genotip × indüksiyon ortamı interaksiyonunun da istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı olduğu saptanmıştır ($F = 3.845$; $p < 0.001$) (Çizelge 4.42). Elde edilen bu bulgular, indirekt embriyo oluşumunun yalnızca genotip veya indüksiyon ortamının tek başına etkisiyle değil, aynı zamanda genotip ve ortam faktörlerinin birlikte etkileşimiyle şekillendiğini ve bu etkileşimin embriyojenik sürecin başarısında önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.42. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip x ortam interaksiyonunun indirekt embriyo sayısı / 100 anter üzerine etkileri*

İndüksiyon Ortamı	**Genotip**				
	V8	**V20**	**V42**	**V46**	**V53**
1	4.44 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c	7.78 b
2	8.33 b	12.22 b	16.67 b	8.33 b	7.22 b
3	0.00 c	11.11 b	0.00 c	0.00 c	0.00 c
4	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c	2.78 c
5	1.11 c	7.22 b	1.11 c	0.00 c	3.33 c
6	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c
7	0.00 c	1.11 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c
8	**24.44 a**	3.33 c	0.00 c	0.00 c	2.78 c
9	3.33 c	11.11 b	0.00 c	7.22 b	3.89 c
10	11.67 b	1.11 c	0.00 c	1.67 c	10.00 b
LSD (0.05)	6.55				
F value	3.845				
SE ±	2.34				
Pr>F	<0.001				
Genel Ortalama	3.47				

*LSD testi ile ayrılan ortalamaları için iki yönlü ANOVA kullanılmıştır. Bir sütun içinde farklı harfle ifade edilen ortalamalar $p \leq 0.05$ düzeyinde anlamlı olarak farklıdır

Ortam × genotip interaksiyonu bakımından yapılan değerlendirmede ise, en yüksek ortalama indirekt embriyo üretiminin 8. indüksiyon ortamında kültüre alınan V8 genotipinde 24.44 embriyo/100 anter olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.15). V8 genotipini 2. indüksiyon ortamında kültüre alınan 16.66 embriyo/100 anter ile V42 genotipi takip etmiştir. En düşük indirekt embriyo verimi ise 1.11 embriyo/100 anter ile 5. Ortamda kültüre alınan V8 ve V42 genotiplerinde saptanmıştır (Çizelge 4.42).



Şekil 4.15. II. Grup anter kültürü denemelerinde oluşan embriyolar ve gelişimleri

II. Grup anter kültürü denemeleri kapsamında elde edilen indirekt embriyolardan gelişen sürgünler, uygun gelişim düzeyine ulaştıklarında B5 besin ortamına aktarılmıştır. Elde edilen sürgünlere ait veriler, embriyoların köken aldığı indüksiyon ortamları dikkate alınarak değerlendirilmiş ve varyans analizine tabi tutulmuştur. Sürgün oluşumuna ilişkin ANOVA sonuçlarına göre (Çizelge 4.43), sürgün sayısı bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir ($F = 3.339$; $p > 0.01$). Buna karşılık, indüksiyon ortamları için yapılan karşılaştırmalarda anlamlı farklar tespit edilmiştir ($F = 8.771$; $p < 0.01$). Ayrıca, sürgün oluşumu yönünden genotip × indüksiyon ortamı interaksiyonunun da istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($F = 2.718$; $p < 0.001$). Elde edilen bu bulgular, sürgün oluşumunun yalnızca indüksiyon ortamının tek başına etkisiyle açıklanamayacağını; genotip ve indüksiyon ortamı faktörlerinin birlikte etkileşiminin sürgün oluşumu sürecinde belirleyici bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.43. II. Grup anter kültürü denemelerinde genotip ve ortamların sürgün sayısı / 100 anter üzerine etkileri

	Genotip									
	V8		**V20**		**V42**		**V46**		**V53**	
Sürgün Sayısı/ 100 anter	2.55 a		2.40 a		1.11 a		0.89 a		2.50 a	
LSD (0,05)	1.25									
F value	3.339									
SE ±	0.45									
Pr>F	> 0.05									
Genel ortalama	1.89									
	İndüksiyon Ortamları									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sürgün Sayısı/ 100 anter	1.55 bc	**6.33 a**	1.11 bc	0.44 bc	1.22 bc	0.00 c	0.11 c	2.78 bc	2.44 bc	3.00 b
LSD (0,05)	1.80									
F value	8.71									
SE ±	0.64									
Pr>F	<0.001									
Genel ortalama	2.55									

Genotiplerin sürgün sayısı bakımından ortalama değerleri incelendiğinde (Çizelge 4.43), V8 genotipi 2.56 sürgün/100 anter ve V53 genotipi 2.50 sürgün/100 anter ile en yüksek sürgün oluşumuna sahip genotipler olarak öne çıkmaktadır. Bu genotipleri, V20 genotipi 2.45 sürgün/100 anter yakın ortalama değeriyle takip etmektedir. Buna karşılık, V42 genotipi 1.11 sürgün/100 anter ve özellikle V46 genotipi 0.89 sürgün/100 anter değerli sürgün verimi yönünden daha düşük ortalamalara sahip olmuştur. Elde edilen bulgular doğrultusunda sürgün oluşumu bakımından genotipler arasında istatistiki anlamda bir farklılık bulunmamıştır. Sürgün sayısı bakımından indüksiyon ortamları değerlendirildiğinde, test edilen 10 indüksiyon ortamından 6 numaralı ortam hariç, diğer tüm ortamlarda sürgün oluşumu meydana gelmiştir. İndüksiyon ortamları arasında yapılan karşılaştırmada, en yüksek sürgün oluşumu ortalama 6.33 sürgün/100 anter ile 2. indüksiyon ortamında elde edilmiştir. Buna karşılık, en düşük sürgün oluşumu ortalama 0.11 sürgün/100 anter ile 7. indüksiyon ortamında belirlenmiştir.

Sürgünlerin ortam × genotip interaksiyonu bakımından değerlendirilmesi sonucunda ise, en yüksek ortalama sürgün üretiminin 8. indüksiyon ortamında kültüre alınan V8 genotipinde, 10.56 sürgün/100 anter değeriyle gerçekleştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.44).

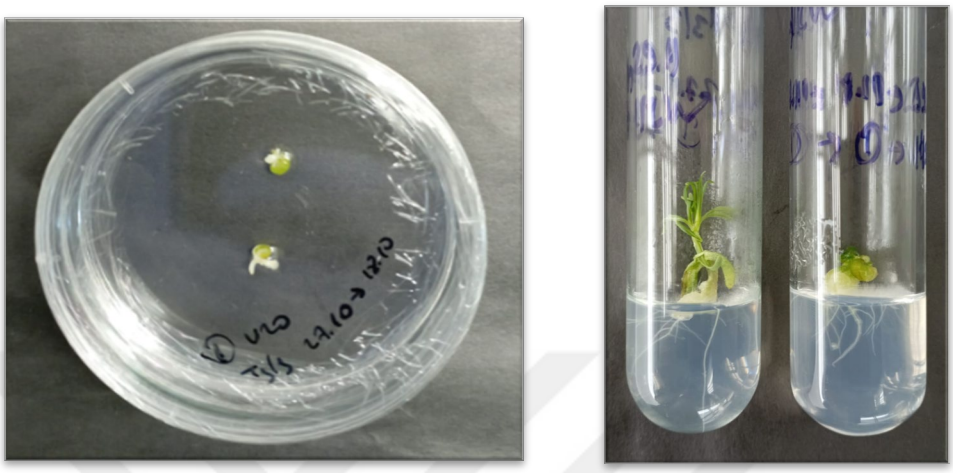
Çizelge 4.44. II. Grup anter kültürü denemlerinde genotip x ortam interaksiyonunun sürgün sayısı / 100 anter üzerine etkileri*

İndüksiyon Ortamı	**Genotip**				
	V8	**V20**	**V42**	**V46**	**V53**
1	3.89 bc	0.00 c	0.00 c	0.00 c	3.89 bc
2	3.33 bc	7.22 ab	2.11 bc	5.55 b	5.00 b
3	0.00 c	5.55 b	0.00 c	0.00 c	0.00 c
4	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c	2.22 bc
5	0.55 c	3.33 bc	0.55 c	0.00 c	1.67 c
6	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c
7	0.00 c	0.55 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c
8	**10.55 a**	1.11 c	0.00 c	0.00 c	2.22 bc
9	1.67 c	5.55 b	0.00 c	2.78 bc	2.22 bc
10	5.55 b	1.11 c	0.00 c	0.55 c	7.78 ab
LSD (0.05)	4.00				
F value	2.718				
SE ±	1.43				
P r>F	<0.001				
Genel ortalama	1.90				

*LSD testi ile ayrılan ortalamaları için iki yönlü ANOVA kullanılmıştır. Bir sütun içinde farklı harfle ifade edilen ortalamalar p≤0.05 düzeyinde anlamlı olarak farklıdır.

II. Grup anter kültürü çalışmaları kapsamında, indirekt embriyolardan elde edilen sürgünler köklendirme ortamlarına aktarılmış**,** ancak bu sürgünlerden kök

gelişmemiştir. Buna karşın, direkt embriyolardan elde edilen sürgünler arasında**,** V20 genotipine ait iki sürgünde ve V53 genotipine ait bir sürgünde B5 ortamında kök gelişimi gerçekleşmiş ve bu bitkiler başarıyla aklimatizasyon sürecine alınmıştır. Ancak, aklimatizasyon aşamasına tabi tutulan bitkicikler daha sonraki dönemde yaşamlarını sürdürememiştir.



Şekil 4.16. Elde edilen direkt embriyoların rejenerasyon ortamındaki gelişimleri

4.4.1.3. III. Grup anter kültürü deneme bulguları

II. Grup anter kültürü denemelerinden elde edilen sonuçlar doğrultusunda III. Grup anter kültürü denemeleri planlanmış ve II. grupta kullanılan 10 farklı indüksiyon ortamı arasından**,** performansı en yüksek olan 1 numaralı ortam en uygun ortam olarak belirlenmiştir. Bu doğrultuda, III. grup denemeler söz konusu ortam esas alınarak yürütülmüştür. 1 nolu ortamında kültüre alınan BC_1F_1 ve F_3 populasyonlarına ait bitkilerden seçilen toplam 6 genotip ile denemeler gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.45.'da sunulmuştur.

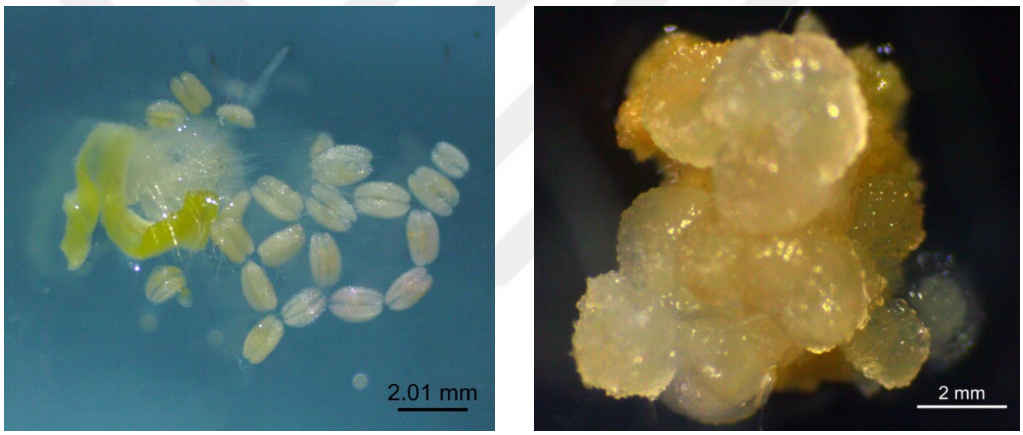
Çizelge 4.45. III. Grup anter kültürü denemelerinde farklı genotiplerin kallus oluşturan anter sayısı, direkt ve indirekt embriyo sayısı /100 tomurcuk üzerine etkileri*

Genotip	Kallus Oluşturan Anter Sayısı /100 anter	Direkt Embriyo Sayısı /100 anter	İndirekt Embriyo Sayısı / 100 anter
B2/5-F_3	3.33	6.67	4.44
B3/4-F_3	5.00	6.67	3.33
C4-F_3	0.55	0.00	0.00
32-1-BC_1F_1	3.33	6.11	3.33
40-1-BC_1F_1	4.44	3.33	2.22
42-1-BC_1F_1	2.22	3.33	1.67
P	0.249	0.414	0.441

*Ortalamalar tek yönlü ANOVA ve Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir. Ancak genotipler arasında anlamlı istatistiksel fark saptanmadığından ($p>0.05$) ortalamalar harflendirilmemiştir.

Çizelge 4.45' deki genotip faktörünün kallus oluşturan anter sayısı, indirekt embriyo sayısı ve sürgün sayısı üzerindeki etkileri incelendiğinde, ortalama değerler arasında sayısal farklılıklar gözlenmiş olmakla birlikte bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). Kallus oluşturan anter sayısı bakımından en yüksek ortalama değer B3/4-F_3 genotipinde (5.00 kallus oluşturan anter/100 anter) elde edilirken, bunu 40-1-BC_1F_1 (4.44 kallus oluşturan anter /100 anter) ve B2/5-F_3 (3.33 kallus oluşturan anter/100 anter) genotipleri izlemiştir. En düşük kallus oluşumu ise C4-F_3 genotipinde (0.56 kallus oluşturan anter sayısı/100 anter) saptanmıştır. Ancak genotipler arasındaki bu sayısal farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.249$).

Direkt embriyo sayısı açısından değerlendirildiğinde (Şekil 4.17), B2/5-F_3 ve B3/4-F_3 genotiplerinin en yüksek ortalama değeri (6.67 embriyo/100 anter) verdiği görülmüş, 32-1-BC_1F_1 genotipi ise 6.11 embriyo/100 anter ortalama ile bu genotipleri takip etmiştir. Buna karşın C4-F_3 genotipinde indirekt embriyo oluşumu gözlenmemiştir. Buna rağmen, genotipler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p=0.414$).



Şekil 4.17. III. Grup anter kültürü denemelerinde elde edilen direkt ve indirekt emriyolar

İndirekt embriyo sayısı sayısı bakımından en yüksek ortalama değer B2/5-F_3 genotipinde (4.44 indirekt embriyo/100 anter) belirlenirken, B3/4-F_3 ve 32-1-BC_1F_1 genotipleri 3.33 indirekt embriyo/100 anter ortalama ile benzer performans göstermiştir. En düşük indirekt embriyo sayısı ise 42-1-BC_1F_1 genotipinde (1.67 indirekt embriyo/100 anter) kaydedilmiştir. Ancak indirekt embriyo sayısı bakımından da genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.441$)III. Grup anter kültürü denemeleri genel olarak değerlendirildiğinde, bazı genotiplerin kallus oluşumu, direkt ve indirekt embriyo gelişimi bakımından daha yüksek ortalama değerler göstermesine rağmen farklılıklar istatistiksel olarak desteklenmemiştir.

4.4.2.Mikrospor kültürü deneme bulguları

4.4.2.1. I. Grup mikrospor kültürü deneme bulguları

I. Grup mikrospor kültürü denemeleri kapsamında, elde edilen embriyo oluşumu genotip ve ortamlardan elde edilen embriyo verilerine ilişkin yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.46.'de gösterilmiştir. Sonuçlara göre embriyo oluşumu bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmiştir ($F = 46.192$; $p < 0.01$). İndüksiyon ortamları arasında da yapılan varyans analizi sonçlarına göre embriyo oluşumu yönünden istatistiksel olarak önemli farklar tespit edilmiştir ($F = 114.720$; $p < 0.01$).

Çizelge 4.46. I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde genotip ve ortamların embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri

	Genotip				
	V8	**V20**	**V42**	**V46**	**V53**
Embriyo Sayısı/ 100 tomurcuk	24.98 c	6.61 cd	**91.21 a**	0.91 d	53.39 b
LSD (0,05)	15.29				
F value	46.192				
SE ±	5.49				
Pr>F	<0.001				
Genel ortalama	35.41				
	İndüksiyon Ortamları				
	1	2	3	4	
Embriyo Sayısı/ 100 tomurcuk	**112.39 a**	11.75 b	3.48 c	0.00 c	
LSD (0,05)	13.64				
F value	114.720				
SE ±	4.91				
Pr>F	<0.001				
Genel ortalama	31.90				

Çizelge 4.46'daki ANOVA sonuçlarına göre hangi grupların birbirinden farklı olduğunu belirlemek için LSD testi uygulanmıştır. Genotipler için LSD değeri 15.29 olarak bulunmuştur. En yüksek embriyo verimi 91.21 embriyo/100 tomurcuk ortalama değer ile V42 genotipinde gözlenirken, bunu en düşük embriyo verimi 53.39 embriyo/100 tomurcuk ortalama değer ile V53 genotipi izlemiştir. Embriyo verimi bakımından en düşük genotip ise V46 genotipinde 0.91 embriyo/100 tomurcuk ile gözlenmiştir. İndüksiyon ortamları arasındaki LSD değeri ise 13.64 olarak bulunmuştur. En yüksek embriyo verimi 112.39 embriyo/100 tomurcuk ortalama ile 1. ortamda, en

düşük embriyo verimi 3.49 embriyo/100 tomurcuk değeriyle 3. ortamda gözlenirken 4. ortamda embriyo verimi görülmemiştir (Çizelge 4.46).

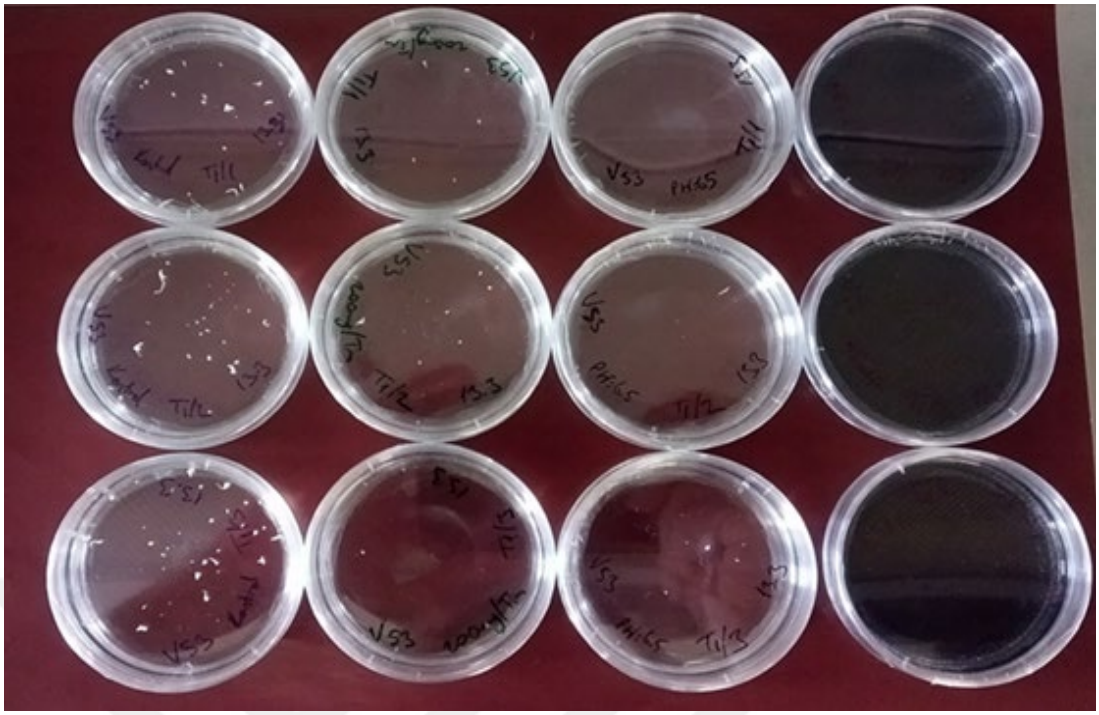
Embriyo oluşumu açısından genotip × indüksiyon ortamı interaksiyonu karşılaştırıldığında ise yine istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($F = 48.928$; $p < 0.01$) (Çizelge 4.47). Sonuçlar, *V. hispanica* 'da mikrospor kültüründe embriyo oluşumunun hem genotipik yapıdan hem de kullanılan indüksiyon ortamından önemli düzeyde etkilendiğini ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.47. I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde genotip x ortam interaksiyonunun embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri*

İndüksiyon Ortamı	**Genotip**				
	V8	**V20**	**V42**	**V46**	**V53**
1	32.08 d	22.91 d	**360.25 a**	3.67 e	143.00 b
2	63.25 c	2.75 e	3.67 e	0.00 e	59.58 c
3	4.58 e	0.91 e	0.92 e	0.00 e	11.00 e
4	0.00 e	0.00 e	0.00 e	0.00 e	0.00 e
LSD (0.05)	30.58				
F value	48.928				
SE ±	10.85				
Pr>F	<0.001				
Genel ortalama	3.22				

*LSD testi ile ayrılan ortalamaları için iki yönlü ANOVA kullanılmıştır. Sütunlar içinde farklı harfle ifade edilen ortalamalar $p \leq 0.05$ düzeyinde anlamlı olarak farklıdır

Çizelge 4.47'deki genotip × indüksiyon ortamı interaksiyonunun da istatistiksel olarak anlamlı bulunması, genotiplerin farklı indüksiyon ortamlarına verdikleri tepkilerin değişkenlik gösterdiğini ve embriyo oluşumunun her genotip–ortam kombinasyonu için farklılık arz edebileceğini göstermektedir. Dolayısıyla, mikrospor kültürü çalışmalarında maksimum embriyo verimi elde edilebilmesi için hem genotip seçiminin hem de uygun indüksiyon ortamının birlikte değerlendirilmesi ve genotip-spesifik kültür protokollerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Genotip ve ortam interaksiyonu için ise LSD değeri 30.58 olarak tespit edilmiştir. En yüksek embriyo verimi V42 genotipinde 360.25 embriyo/100 tomurcuk ortalama değer ile 1. ortamda bulunurken, en düşük embriyo verimi ise tepki veren ortamlar arasından 0.92 embriyo /100 tomurcuk değer ile yine 3. ortamda kültüre alınan V20 ve V42 genotipinde gözlenmiştir (Şekil 4.18). Bu sonuç da aynı genotiplerin farklı ortama farklı tepkiler verdiğinin göstergesi sayılabilir.



Şekil 4.18. I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde V53 genotipinde farklı ortamlarda kültüre alınan mikrosporlardan elde edilen embriyolar; A) pH: 5.9 (Kontrol); B) pH:5.9 + 200 mg /fin; C) pH:6.5; D) pH: 6.5 + Aktif karbon

I. Grup mikrospor kültürü çalışmaları kapsamında gözlemlenen kotiledon aşamasındaki embriyolar için varyans analizi yapılmıştır (Çizelge 4.48). ANOVA sonuçları genotipler ($F=17.319$, $p<0.001$), ortam ($F=50.661$, $p<0.001$) ve genotip x ortam interaksiyonu ($F=17.532$, $p<0.001$) yönünden önemli farklılıklar göstermiştir. Hangi grupların birbirinden farklı olduğunu belirlemek için LSD testi uygulanmıştır.

Genotip için en yüksek kotiledon embriyo V42 genotipinde 9.39 ortalama embriyo/100 tomurcuk değer ile gözlenirken, en düşük kotiledon embriyo 3.21 ortalama değer ile V8 genotipinde gözlenmiştir. Ortamlar arasındaki embriyo değerlerinde ise en yüksek embriyo verimi 12.46 embriyo/100 tomurcuk ortalama ile 1. Ortamda gerçekleşirken, bunu 1.65 embriyo/100 tomurcuk verimiyle 2. ortam izlemiştir. Denemede 3. ve 4.ortamda kotiledon aşamasında embriyo gözlenmemiştir (Çizelge 4.48).

Genotip ve ortam interaksiyonu için (Çizelge 4.49) ise en yüksek kotiledon embriyo verimi, V42 genotipinde 37.58 embriyo/100 tomurcuk ortalama değer ile 1. ortamda bulunmuştur (Şekil 4.18). Genotip x ortam interaksyonlarında V20 ve V46 genotiplerinin kültüre alındığı indüksiyon ortamlarının hiçbirinde embriyo gözlemlenmemiştir. Aynı şekilde 3. ve 4. ortamlarda da hiçbir genotip kotiledon embriyo görülmemiştir.

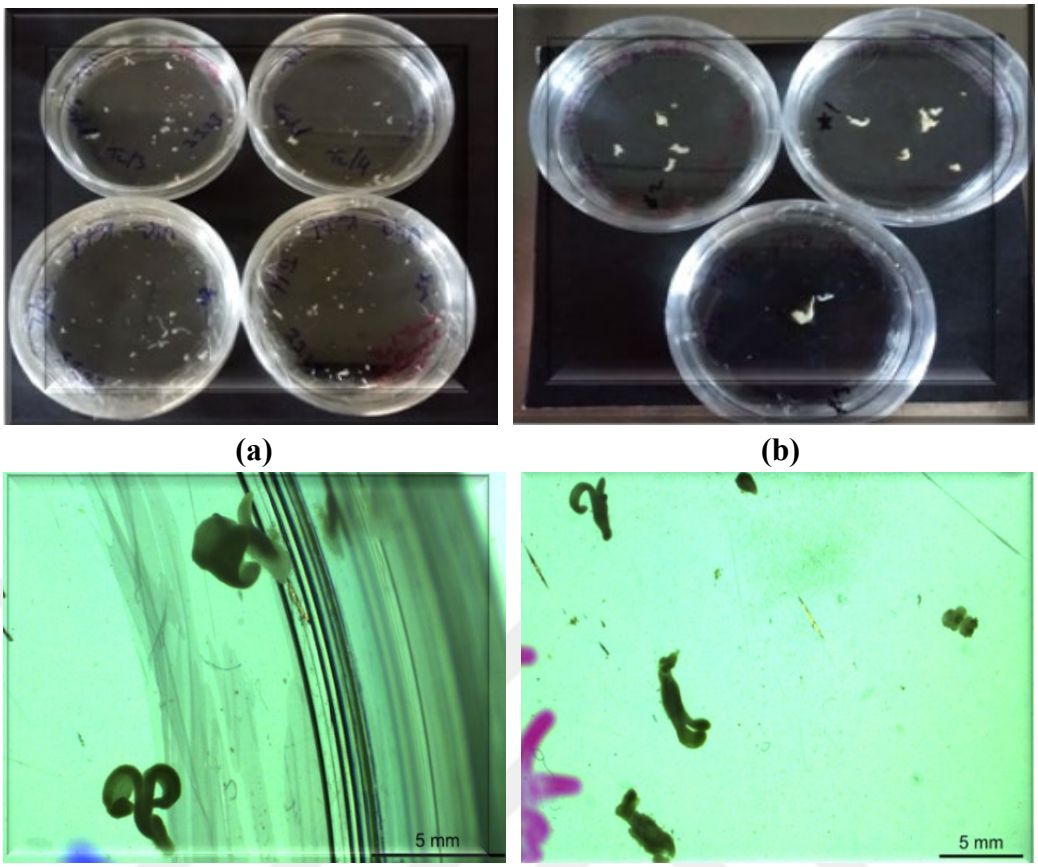
Çizelge 4.48. I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde genotip ve ortamların kotiledon embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri

	Genotip				
	V8	**V20**	**V42**	**V46**	**V53**
Kotiledon Embriyo Sayısı/ 100 tomurcuk	3.21 bc	0.00 c	**9.39 a**	0.00 c	5.04 b
LSD (0,05)	2.64				
F value	17.319				
SE ±	0.95				
Pr>F	<0.001				
Genel ortalama	3.54				
	İndüksiyon Ortamları				
	1	2	3	4	
Kotiledon Embriyo Sayısı/ 100 tomurcuk	**12.46 a**	1.65 b	0.00 b	0.00 b	
LSD (0,05)	2.31				
F value	50.661				
SE ±	0.85				
Pr>F	<0.001				
Genel ortalama	3.53				

Çizelge 4.49. I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde genotip x ortam interaksiyonunun kotiledon embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri*

İndüksiyon Ortamı	**Genotip**				
	V8	**V20**	**V42**	**V46**	**V53**
1	8.25 c	0.00 d	**37.58 a**	0.00 d	16.50 b
2	4.58 cd	0.00 d	0.00 d	0.00 d	3.67 cd
3	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.000 d
4	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d
LSD (0.05)	5.28				
F value	17.532				
SE ±	1.89				
Pr>F	<0.001				
Genel Ortalama	3.608				

*LSD testi ile ayrılan ortalamaları için iki yönlü ANOVA kullanılmıştır. Sütunlar içinde farklı harfle ifade edilen ortalamalar $p \leq 0.05$ düzeyinde anlamlı olarak farklıdır



Şekil 4.19. I.Grup mikrospor kültürü denemeleri kapsamında elde edilen embriyolar; a-b) Globular embriyolar, c-d) kotiledon embriyolar.

I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde V57 genotipinde arabinogalaktan proteinlerinin embriyo ve kotiledonlu embriyo oluşumu üzerindeki etkisi incelenmiş ve elde edilen bulgular Çizelge 3.50'de sunulmuştur. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, arabinogalaktan uygulamasının kontrol grubuna kıyasla embriyo ve kotiledonlu embriyo oluşumu bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar oluşturduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

Çizelge 4.50. I. Grup mikrospor kültürü denemelerinde V57 genotipinde arabinogalaktan proteinlerinin embriyo sayısı ve kotiledon embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri*

İndiksiyon Ortamı	Ortam İçeriği	Embriyo Sayısı / 100 tomurcuk	Kotiledon Embriyo Sayısı / 100 tomurcuk
1	NLN (Kontrol)	**85.25**	**11.91**
2	NLN + 10 mg/L Arabinogalaktan	18.34	0.92
P		0.014	0.040

*Veriler tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) ile değerlendirilmiştir. İki uygulama arasındaki farklar $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlıdır.

Bununla birlikte, her iki uygulamada da embriyo ve kotiledonlu embriyo oluşumunun gerçekleşmiş olması, arabinogalaktanın embriyo indüksiyonunu baskılayıcı bir etki göstermediğini ve mikrosporların embriyojenik potansiyelini olumsuz yönde etkilemediğini ortaya koymaktadır (Çizelge 3.50). Embriyo oluşum düzeylerinde kontrol ve arabinogalaktanlı ortamda ortaya çıkan istatistiksel farklılıklar, arabinogalaktanın etkisinin kullanılan temel besin ortamı, uygulama koşulları ve genotip özelliklerine bağlı olarak değişebileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, arabinogalaktan proteinlerinin mikrospor kültüründeki potansiyel etkilerinin daha net ortaya konulabilmesi için farklı besin ortamları ve konsantrasyonlarla birlikte değerlendirilmesinin yararlı olacağı kanaatine varılmıştır.

4.4.2.2. II. Grup mikrospor kültürü deneme bulguları

II. Grup mikrospor kültürü denemeleri kapsamında kültüre alınan 3 genotipin her birisinin 4 farklı indüksiyon ortamında test edildiği mikrospor kültürleri verilerine göre embriyo oluşumu bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülürken ($F = 34.361$; $p < 0.01$), indüksiyon ortamları arasında yapılan varyans analizi sonçlarına göre de embriyo oluşumu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ($F = 27.751$; $p < 0.01$) (Çizelge 4.51). Varyans analizi sonucuna göre embriyo oluşumu açısından genotip × indüksiyon ortamı interaksiyonunun da istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($F = 12.348$; $p < 0.01$).

Çizelge 4.51. II. Grup mikrospor kültürü denemelerinde genotip ve ortamların embriyo sayısı ve kotiledon embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri*

Genotip	**Genotiplerin Emriyo Sayısı /100 Tomurcuk**	**Genotiplerin Kotiledon Emriyo Sayısı /100 Tomurcuk**
V8	7.56 b	1.14 b
V42	**32.54 a**	**3.44 a**
V46	1.37 b	0.00 b
LSD (0.05)	7.92	1.21
F value	34.361	17.500
SE ±	2.82	0.42
Pr>F	<0.001	<0.001
Genel Ortalama	13.81	1.53
İndüksiyon Ortamı	**Ortamların Emriyo Sayısı / 100 Tomurcuk**	**Ortamların Kotiledon Emriyo Sayısı / 100 Tomurcuk**
1	**37.59 a**	**6.12 a**
2	2.750 c	0.00 b
3	14.97 b	0.00 b
4	0.00 c	0.00 b
LSD (0.05)	9.13	1.32
F value	27.751	40.000
SE ±	3.24	0.48
Pr>F	<0.001	<0.001
Genel Ortalama	13.82	1.53

Kotiledon embriyoların varyans analizine göre, genotipler arasında ($F = 17.500$, $P < 0.05$), ortamlar arasında ($F = 40.000$, $P < 0.001$) önemli farklılıklar bulunmuştur

(Çizelge 4.51). Genotip x ortam interaksiyonu açısından da kotiledomn embriyo verimi bakımından istatiktiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur (F = 17.500, P < 0.01) (Çizelge 4.52).

Çizelge 4.52. II. Grup mikrospor kültürü denemelerinde genotip x ortam interaksiyonunun embriyo sayısı ve kotiledon embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri*

İndüksiyon Ortamı	Emriyo Sayısı /100 Tomurcuk			Kotiledon Emriyo Sayısı /100 Tomurcuk		
	V8	V42	V46	V8	V42	V46
1	23.83 c	**85.25 a**	3.67 d	4.58 b	**13.75 a**	0.00 c
2	1.83 d	5.50 d	0.92 d	0.00 c	0.00 c	0.00 c
3	4.58 d	39.41 b	0.92 d	0.00 c	0.00 c	0.00 c
4	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 c	0.00 c	0.00 c
LSD (0.05)	15.73			2.31		
F value	12.348			17.500		
SE ±	5.63			0.84		
Pr>F	<0.001			<0.001		
Genel Ortalama	13.83			1.53		

*LSD testi ile ayrılan ortalamaları için iki yönlü ANOVA kullanılmıştır. Sütunlar içinde farklı harfle ifade edilen ortalamalar p≤0.05 düzeyinde anlamlı olarak farklıdır

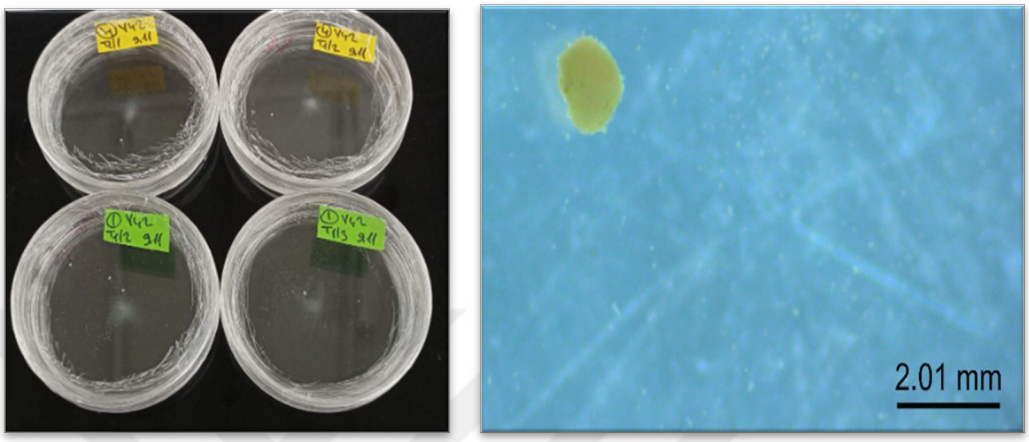
Genotip, ortam ve genotip x ortam interaksiyonlarından elde edilen embriyo verimi karşılaştırıldığında en yüksek embriyo verimi 32.54 embriyo/100 tomurcuk ile V42 genotipinde bulunurken, en yüksek embriyo verimi 37.59 embriyo/100 tomurcuk ile 1. ortamdan elde edilmiştir. Genotip ve ortam interaksiyonu için ise en yüksek embriyo verimi, V42 genotipinde 85.25 embriyo / 100 tomurcuk ortalama değer ile 1. ortamda tespit edilmiştir (Çizelge 4.52).

Kotiledon embriyo veriminde yapılan gözlemler sonucunda ise 3.44 emriyo/100 tomurcuk ile V42 genotipi en yüksek genotip iken bunu 1.14 kotiledon embriyo/100 tomurcuk takip etmiş, V46 genotipinde kotiledon embriyo oluşumu gözlemlenmemiştir (Çizelge 4.51). II. Grup mikrospor kültürü denemelerinde kotiledon embriyolarının oluşumunda ortamın etkisine bakıldığında ise en fazla kotiledon embriyo 6.11 kotiledon embriyo/100 tomurcuk ile 1 numaralı ortamdan elde edilmiş ve diğer 3 ortamdan kotşledon embriyo elde edilmemiştir (Çizelge 4.51).

Genotip x ortam interaksiyonunun kotiledon embriyo üzerine etkisine bakıldığında ise en yüksek kotiledon embriyo 1 numaralı ortamda V42 genotipinden elde edilmiş olup (Çizelge 4.52), elde edilen sonuçlar I. Grup mikrospor kültürü sonuçları ile uyumlu olup, mikrospor kültürü çalışmalarında başarıya ulaşmak için genotip-spesifik ve ortam-uyumlu protokollerin geliştirilmesinin gerekli olduğunu ortaya koymaktadır.

II. Grup mikrospor kültürü deneme sonuçları değerlendirildiğinde, kontrol olarak kullanılan NLN ortamının embriyo oluşumu bakımından dikkat çekici olduğu görülmüştür. Kontrol ortamına kıyasla embriyo veriminin istatistiksel olarak daha düşük

olmasına rağmen CHB ortamında embriyo oluşumunun gerçekleşmiş olması (Şekil 4.20), bu ortamın mikrosporların embriyojenik gelişimini destekleyebilecek potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Buna karşılık, CHU ortamında embriyo oluşumunun gözlenmemiş olması, mikrospor embriyogenezinin ortam bileşimine son derece duyarlı olduğunu ve kullanılan besin elementleri ile büyüme düzenleyici dengesinin embriyo indüksiyonu üzerinde belirleyici rol oynadığını ortaya koymaktadır.



Şekil 4.20. II. Grup mikrospor denemelerinde 3 nolu indüksiyon ortamında (CHB) elde edilen embriyolar

Bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, embriyo veriminin artırılabilmesi için farklı besin ortamlarının denenmesi ve ortam bileşiminin büyüme düzenleyici maddeler (BGD'ler) ile optimize edilmesinin gerekli olduğu anlaşılmaktadır. Özellikle CHB ortamının, kontrol ortamına alternatif veya destekleyici bir temel ortam olarak ele alınabileceği ve uygun BGD kombinasyonları ile embriyo indüksiyon veriminin artırılabileceği düşünülmektedir.

4.4.2.3. III. Grup mikrospor kültürü deneme bulguları

II. Grup mikrospor kültürü denemelerinden elde edilen sonuçlar doğrultusunda III. Grup denemeleri planlanmış ve performansı en yüksek olan 1 numaralı ortam kullanılmıştır. Bu doğrultuda, III. grup denemeler söz konusu ortam esas alınarak yürütülmüştür. 1 nolu ortamında kültüre alınan BC_1F_1 ve F_3 populasyonlarına ait bitkilerden seçilen toplam 5 genotip ile denemeler gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.53.'de sunulmuştur.

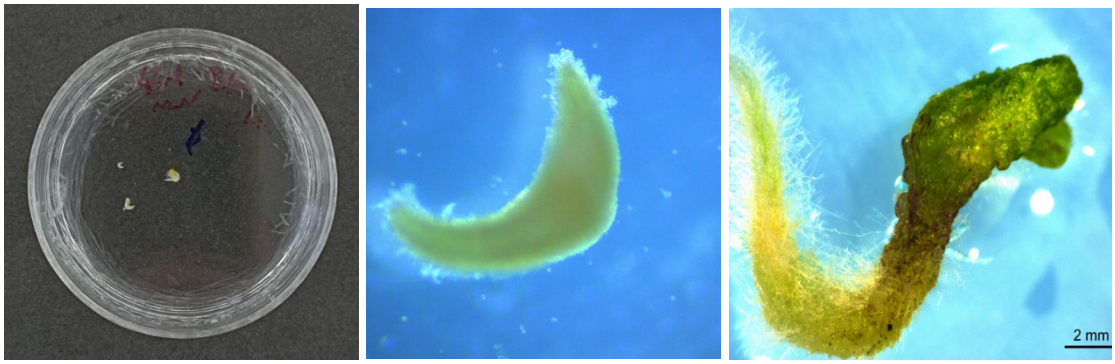
Çizelge 4.53'deki genotipler arasında embriyo sayısı ve kotiledon embriyo sayısı bakımından farklılıklar incelendiğinde, her iki özellik açısından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların bulunduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

Çizelge 4.53. III. Grup anter kültürü denemelerinde farklı genotiplerin embriyo sayısı ve kotiledon embriyo sayısı/100 tomurcuk üzerine etkileri*

Genotip	Embriyo Sayısı /100 tomurcuk	Kotiledon Emriyo Sayısı / 100 Tomurcuk
B2/5-F_3	6.00 c	0.75 b
C3-F_3	7.50 bc	1.50 b
32-1-BC_1F_2	0.75 c	0.00 b
40-1- BC_1F_2	17.25 b	4.50 b
42-1- BC_1F_2	**31.50 a**	**11.99 a**
P	0.000	0.000

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0,05$)

Embriyo sayısı bakımından değerlendirildiğinde (Şekil 4.21), en yüksek ortalama değer 42-1-BC_1F_1 genotipinde (31,50 embriyo/100 tomurcuk) elde edilmiştir. Bu genotipi 40-1-BC_1F_1 (17.25 embriyo/100 tomurcuk) izlemiştir. B2/5-F_3 (6.00 embriyo/100 tomurcuk) ve C3-F_3 (7,50 embriyo/100 tomurcuk) genotipleri daha düşük ortalama değerler göstermiştir. En düşük embriyo sayısı ise 32-1-BC_1F_1 genotipinde (0.75 embriyo/100 tomurcuk) saptanmıştır. Embriyo sayısı bakımından genotipler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p=0.000$) (Çizelge 4.53).

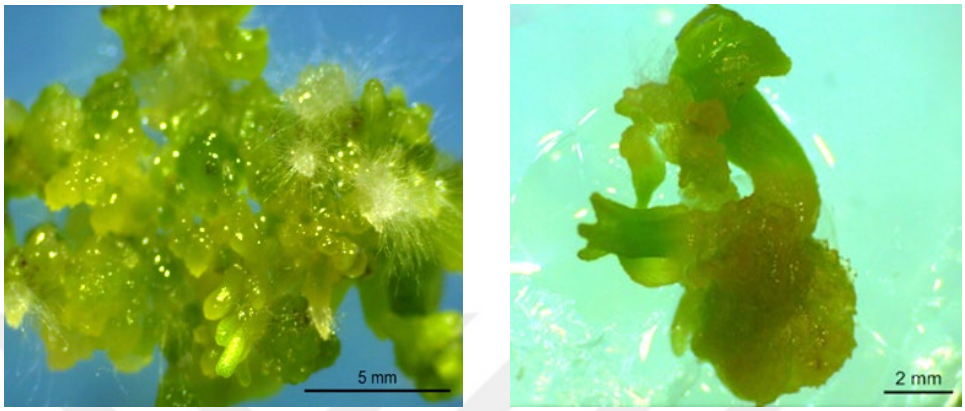


Şekil 4.21. III. Grup mikrospor kültürü çalışmaları sonucu elde edilen embriyolar

Kotiledon embriyo sayısı açısından yapılan değerlendirmede, en yüksek ortalama değer yine 42-1-BC_1F_1 genotipinde (11,99 kotiledon embriyo/100 tomurcuk) elde edilmiştir. Bunu 40-1-BC_1F_1 genotipi (4.50 kotiledon embriyo/100 tomurcuk) takip etmiştir. B2/5-F_3 (0.75 kotiledon embriyo/100 tomurcuk) ve C3-F_3 (1.50 kotiledon embriyo/100 tomurcuk) genotiplerinde daha düşük değerler gözlenirken, 32-1-BC_1F_1 genotipinde kotiledon embriyo oluşumu tespit edilmemiştir. Kotiledon embriyo sayısı bakımından genotipler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.000$) (Çizelge 4.53).

4.4.3. Rejenerasyon, köklendirme ve aklimatizasyon bulguları

I. Grup anter kültürü çalışmalarında elde edilen kallus ve embriyolar, rejenerasyon aşamasına ulaştıklarında hormonsuz B5 besin ortamıına aktarılmıştır. B5 ortamına alınan kallus ve embriyolardan toplam 14 adet sürgün elde edilmiştir (Şekil 4.22). Ancak aynı ortamda alt kültüre alınan sürgünlerde kök gelişimi gözlenmemiştir.



Şekil 4.22. I. Grup anter kültürü denemeleri sonucu rejenerasyon ortamına alınan kalluslardan gelişen sürgünler

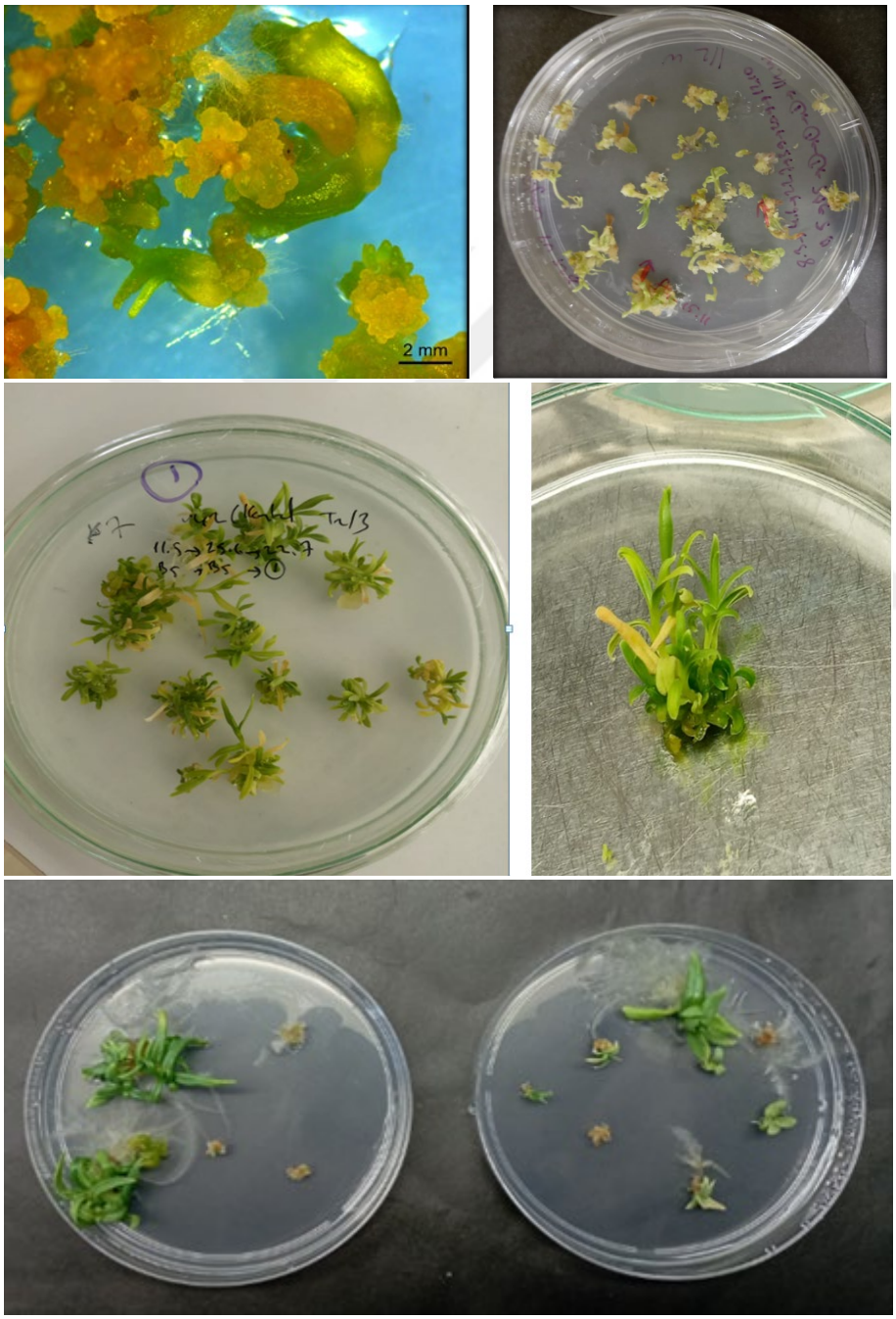
II. Grup anter kültürü çalışmalarında gelişen kalluslar, sürgün rejenerasyonu amacıyla hormonsuz B5 besin ortamıına aktarılmış ve sürgün gelişimleri takip edilmiştir. Elde edilen sürgünlerin büyük çoğunluğunda kök gelişimi veya saçaksı kök oluşumu gözlenmemiştir. Ancak II. Grup anter kültürü çalışmaları kapsamında, V20 genotipinden elde edilen 2 adet ve V53 genotipinden elde edilen 1 adet kotiledonlu embriyo B5 ortamına alınmış ve bu sürgünlerde gerçek kök oluşumu gerçekleşmiştir.

Gerçek kök gelişimi gösteren sürgünler, daha sonra aklimatizasyon amacıyla 1:1:1 oranında torf:perlit:vermikülit içeren yetiştirme ortamına aktarılmış ve kademeli olarak dış koşullara alıştırılmıştır (Şekil 4.23). Ancak dış koşullara adaptasyon sağlayan sürgünler, bir süre sonra seraya aktarılmadan önce kaybedilmiştir.



Şekil 4.23. II. Grup anter kültürü denemeleri sonucu aklimitizasyon aşamasına gelmiş bitki ve aklimatizasyon edilen bitki

I. Grup mikrospor kültürü çalışmaları kapsamında elde edilen embriyolar ile kotiledon aşamasına ulaşan embriyolar, rejenerasyonun desteklenmesi amacıyla hormonsuz B5 besin ortamıına aktarılmıştır. Rejenerasyon ortamına alınan embriyoların gelişimlerini sürdürdükleri, embriyo farklılaşmasının devam ettiği ve bu embriyolardan sürgün oluşumunun gerçekleştiği gözlemlenirken bazı embriyolarında saçsı kök oluşumu ve normal kök oluşumu sergilediği görülmüştür (Şekil 4.24). Bu bulgular, hormonsuz B5 ortamının mikrospor kaynaklı embriyoların rejenerasyonu, sürgün gelişimini ve kök oluşumu açısından uygun bir ortam sunduğunu göstermektedir.

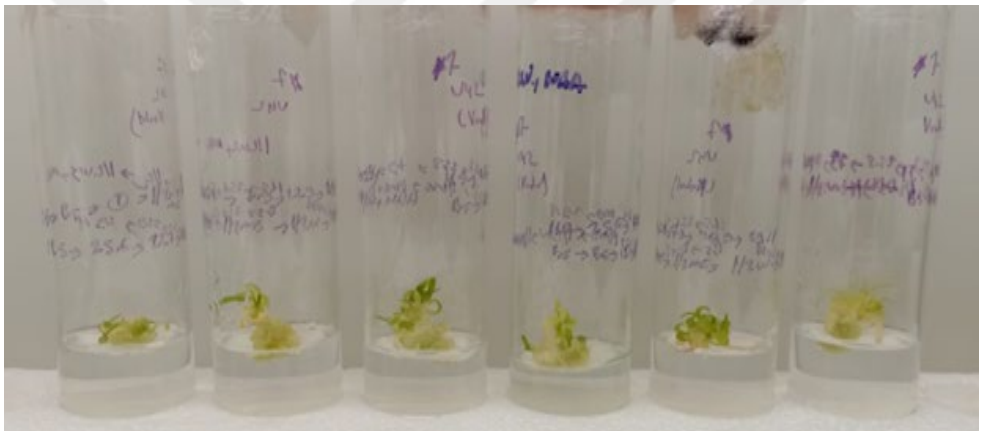


Şekil 4.24. I. Grup mikrospor kültürü denemeleri sonucu rejenerasyon ortamına alınan embriyo ve kalluslardan gelişen embriyo ve sürgünler

B5 rejenerasyon ortamında gerçek kök oluşumunun sınırlı kalması nedeniyle elde edilen embriyolardan gelişen sürgünler, hormonsuz ½ MS ve ½ MS + 1 mg /L NAA ile desteklenmiş ortamlara aktarılmıştır. NAA içeren ortamda kültüre alınan sürgünlerde kallus oluşumu gözlemlenirken, hormonsuz ½ MS ortamına aktarılan sürgünlerde ise kısmi kök gelişimi tespit edilmiştir (Şekil 4.25).



(a)



(b)



(c)

Şekil 4.25. I. Grup mikrospor kültürü denemeleri sonucu köklendirme ortamına alınan sürgünler; a) ½ MS ortamına alınan sürgünler (kültüre alındıktan 3 hafta sonra); b) ½ MS + 1 mg /L NAA ortamına alınan sürgünler (kültüre alındıktan 3 hafta sonra); c) ½ MS ortamına alınan sürgünler (kültüre alındıktan 6 hafta sonra)

Gerçek kök oluşumu gözlenen sürgünlerde daha sonra aklimatizasyon işlemleri yapılmıştır. Aklimatizasyon yapılan bitki sayıları ve genotipleri Çizelge 4.54'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.54. Aklimatizasyonu yapılan genotipler ve bitki sayıları

Genotip	Aklimatizasyonu Yapılan Bitki Sayısı (Adet)	Aklimatizasyondan Seraya Aktarılan Bitki Sayısı (Adet)
V8	32	0
V20	2	0
V42	33	1
V53	7	0

I. Grup mikrospor kültürü çalışmaları sonucunda aklimatizasyona alınan bitkilerden yalnızca bir bitkinin hayatta kaldığı belirlenmiş ve bu bitki daha sonra sera koşullarına aktarılmıştır. Seraya aktarılan bitkide tohum oluşumunun gerçekleştiği gözlemlenmiş olup, bu durum söz konusu bitkide spontan kromozom katlanmasının meydana gelmiş olabileceğini düşündürmüştür. Bu nedenle, ilgili bitkide herhangi bir yapay kromozom katlama işlemi uygulanmamıştır**.** *V. hispanica*'da spontan kromozom katlanma oranının yaklaşık %50 olduğu daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Ferrie, 2009; Ferrie ve Ehlert, 2021).

Spontan katlanma gösterdiği varsayılan DH bitkiden elde edilen tohumların başarılı bir şekilde çimlendiği belirlenmiştir (Şekil 4.26.). Ancak, bitkilerin ploidi düzeylerinin doğrulanmasına yönelik olarak flow sitometri analizi uygulanmamıştır**.**

III. Grup mikrospor kültürü çalışmalarında ise sınırlı sayıda sürgün elde edilmiş olsa da, bu sürgünlerde erken dönemde sararma ve gelişim geriliği gözlenmiş, sürgünler köklendirme ve aklimatizasyon aşamalarına ulaşılamadan kaybedilmiştir.

Saçsı kök oluşumları ve aklimatizasyon aşamasında elde edilen bitkilerin kaybedilmesinin ardından alternatif bir yöntem uygulanmıştır**.** Rejenerasyon ve köklendirme için kültür kaplarına alınan sürgünlerde çiçek oluşumunun gözlemlenmesi üzerine, II. Grup mikrospor kültürü çalışmaları sonucunda elde edilen sürgünlerin bir kısmı, tohum oluşumunu teşvik etmek amacıyla filtreli kaplarda ½ MS besin ortamıına aktarılmıştır (Şekil 4.27).



Şekil 4.26. I. Grup mikrospor kültürü denemeleri sonucu bitkilerin aklimitizasyon aşamaları



Şekil 4.27. II. Grup mikrospor kültürü deneleri sonucu elde edilen sürgünlerin çiçek gelişmleri ve kapsül oluşumu

Ortamlara alınan toplam 10 sürgünden**,** 1 bitkide (V42 genotip) sürgün üzerinde tohum oluşumu gözlemlenirken, 6 sürgünde tohum oluşumu gerçekleşmemiş**,** 2 sürgünde ise çiçeklenme aşamasına gelememiştir (Şekil 4.28).

In vitro koşullarda elde edilen tohumlar vernilizasyon ihtiyaçları karşılandıktan sonra viyollere ekilmiş ve 3 tohumdan 1 si çimlenmiş ve bitki uygun gelişim aşamasında kendilenerek tohumlar çoğaltılmıştır.



a) **b)** **c)**

Şekil 4.28. *In vitro* şartlarda yetiştirilen sürgünlerden elde edilen kapsüller; a) Tohum içermeyen kapsül (V8 genotip); b) Tohum içeren kapsül (V42 genotip); c) *In vitro* kuşullarda elde edilen tohumlar (V42 genotip)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, *V. hispanic*a'da apetal çiçek karakterinin kalıtımı ile birlikte *in vitro* androgenesis teknikleri (anter ve mikrospor kültürü**)** ele alınmıştır. Androgenesis, haploid ve doubled haploid bitki üretimini mümkün kılarak bitki ıslahında çeşit geliştirme süresinin kısaltılması ve genetik safiyetin hızlı şekilde sağlanması açısından önemli bir biyoteknolojik yaklaşımdır. Ancak bu çalışmada androgenesis yöntemlerine alternatif olarak yürütülen melezleme çalışmaları ile de farklı agronomik ve morfolojik özelliklere sahip çeşit adayları geliştirilmiştir**.**

Tezin apetal çiçek karakterinin belirlenmesine ilişkin bölümünde, ilk olarak apetal ve petalli hatlar melezlenerek bu özelliğin kaç gen tarafından kontrol edildiği ortaya konulmaya çalışılmıştır. Yapılan literatür taramalarına göre, apetal çiçek karakterinin *V. hispanica*'da daha önce araştırılmadığı**,** buna karşın özellikle Brassicaceae familyasında bu özelliğin kalıtımına ilişkin çok sayıda çalışmanın bulunduğu görülmektedir (Ramanujum 1940; Singh 1961; Cours ve Williams 1977; Buzza 1983; Rakow ve Séguin-Swartz 1999; Zhang vd. 2005; Jiang 2007). Söz konusu çalışmalarda, apetal çiçek karakterinin farklı genetik mekanizmalarla kontrol edildiği rapor edilmiştir. Nitekim *Brassica rapa*'da apetal çiçek karakterinin kalıtımının tek lokus tarafından kontrol edildiği bildirilirken (Ramanujum 1940; Singh 1961; Cours ve Williams 1977), *Brassica napus*'ta bu özelliğin iki resesif lokus (Buzza 1983; Rakow ve Séguin-Swartz 1999) ya da dört lokus (Lu ve Fu 1990) tarafından kontrol edildiği belirtilmiştir. Ayrıca, bazı çalışmalarda apetal çiçek karakterinin kalıtımında sitoplazmik etkinin bulunduğu ve bu durumun erkek kısırlığı ile ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (Zhang vd. 2005). Brassicaceae familyası dışında yer alan Capsella bursa-pastoris'te ise apetal çiçek özelliğinin iki gen tarafından kontrol edildiği bildirilmiştir (Klepikova vd. 2021).

Tez kapsamında yürütülen melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen F_1 melezleri ile bu hattan türetilen F_2 ve F_3 populasyonlarından elde edilen bulgular, *V. hispanica'*da apetal çiçek karakterinin iki resesif gen tarafından kontrol edildiğini göstermektedir. Elde edilen bu sonuçlar, Brassica türlerinde yürütülen çalışmalar (Buzza 1983; Rakow ve Séguin-Swartz 1999) ile *Capsella bursa-pastoris*'te bildirilen bulgularla (Klepikova vd. 2021) uyumludur. Resiprokal melezlemeler sonucuda elde edilen sonuçlar ise *V. hispanica*'da sitoplazmik bir etkinin bulunmadığını ortaya koymuştur. Brassicaceae türlerinde yürütülen bazı çalışmalarda sitoplazmik etki olduğu bildirilirken (Zhang vd. 2005) bazı çalışmalarda ise sitoplazmik etkinin olmadığı (Singh 1961; Buzza 1983) bildirlmiştir. Apetal çiçek karakterinin sitoplazmik etki açısından farklılık göstermesi; çalışılan bitki türü ve kullanılan genotipler ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmada dikkat çeken bir diğer önemli bulgu, F_2 populasyonunda ebeveynlerden farklı bir fenotipin ortaya çıkmasıdır. Yarı-petalli fenotipin, yetiştirme dönemindeki çevresel ve iklimsel koşullara bağlı olarak değişebildiği daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Ma vd. 2015; McKim vd. 2017). Ancak bu tez çalışmasında, farklı yetiştirme zamanlarına rağmen yarı-petalli bireylerin tutarlı biçimde gözlenmesi ve F_3 ile BC populasyonlarında elde edilen segregasyon sonuçları**,** bu fenotipin çevresel etkilerden ziyade genetik olarak kontrol edildiğini ortaya koymaktadır. Benzer şekilde, *Capsella bursa-pastoris* üzerinde yürütülen çalışmalarda da yarı-petalli fenotiplerin

gözlemlendiği ve yarı petal gelişiminin genetik kontrol altında olduğu rapor edilmiştir (Klepikova vd. 2021).

Elde edilen genotiplerin agronomik özellikleri değerlendirildiğinde, geliştirilen F_5 hatlarının bazı özellikler bakımından ebeveyn genotiplere kıyasla daha yüksek performans gösterdiği, bazı özelliklerde ise daha düşük değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Örneğin, ebeveyn olarak kullanılan V53/2 ve V35/2 genotiplerinin melezlenmesiyle elde edilen C1-F_4 hattı**,** bitki genişliği bakımından ebeveynlerine kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek bir değere sahip olmuştur. Anne ebeveyn olarak kullanılan V53/2 genotipinde bitki genişliği 40.00 cm, baba ebeveyn V35/2 genotipinde ise 33.00 cm olarak ölçülürken, C1-F_4 hattında bu değer 46.50 cm olarak kaydedilmiştir. Bitki yüksekliği bakımından değerlendirildiğinde, V53/2 ebeveyni 32.50 cm**,** V35/2 ebeveyni ise 33.25 cm olarak ölçülmüştür. C1-F_4 hattının bitki yüksekliği 33.25 cm olarak belirlenmiş; bu hat V35/2 ebeveyni ile aynı istatistiksel grupta yer alırken, V53/2 ebeveynine kıyasla daha düşük bir değerde bulunmuştur. Bu durum, ayrışan populasyonlarda bazı bireylerin, ilgili özellik bakımından her iki ebeveynin fenotipik değerlerinin üzerinde veya altında değerlere ulaşabilmesi ile açıklanmakta olup, transgresif ayrışma olarak tanımlanmaktadır (DeVicente 1993). Transgresif ayrışma sonucu ortaya çıkan bu tür uç fenotipler, popülasyonlarda yeni veya seçilim açısından elverişli özelliklerin gelişmesine olanak sağlayan önemli genetik mekanizmalardan biri olarak kabul edilmektedir (Vega 1980; De Vicente 1993).

Tezin androgenesis çalışmaları kapsamında, uygun kültür tiplerinin ve etkili indüksiyon ortamlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda hem anter hem de mikrospor kültürleri kullanılarak farklı genotipler ve farklı indüksiyon ortamları denenmiştir. I. Grup anter kültürü çalışmalarında iki farklı genotip ve beş farklı besin ortamı test edilmiş; elde edilen sonuçlara göre genotipler arasında embriyo ve kallus oluşumu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı**,** buna karşın kullanılan indüksiyon ortamlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Kullanılan indüksiyon ve rejenerasyon ortamlarının bileşimi**,** androgenesis başarısını etkileyen önemli faktörlerden biri olarak bilinmektedir (Zheng, 2003). I. Grup anter kültürü çalışmalarından elde edilen bulgular doğrultusunda, en iyi sonuçların CHB ortamında elde edildiği belirlenmiştir. Benzer şekilde, farklı bitki türlerinde yürütülen androgenesis çalışmalarında da CHB ortamının**,** embriyoid indüksiyonu ve bitki rejenerasyonu açısından başarılı sonuçlar verdiği rapor edilmiştir (Holme vd. 1999; Ekhveh vd. 2013; Sharafat vd. 2023). Bu bulgular, CHB ortamının androgenesis çalışmalarında etkili ve güvenilir bir indüksiyon ortamı olduğunu desteklemektedir. Bununla birlikte, *V. hispanica'*da literatürde anter kültürü ile ilgili bir çalışmanın bulunmaması**,** elde edilen sonuçların tür açısından ilk veriler olması bakımından önemini artırmaktadır. Nitekim Li vd. (2025)**,** *Francesco* karanfil çeşidinde yürüttükleri çalışmada, 1.0 mg L^{-1} TDZ ve 0.5 mg L^{-1} 2,4-D içeren ortamda kültüre aldıkları anterlerden öncelikle kallus, bu kalluslardan ise sürgün elde ettiklerini bildirmişlerdir. Söz konusu çalışmada, kallusların sıvı ortamda kültüre alınmasıyla %100 kallus oluşumu**,** kalluslardan sürgün rejenerasyon oranının ise %80 olduğu rapor edilmiştir. Her ne kadar bu oranlar, bu çalışmada elde edilen sonuçlara kıyasla daha yüksek görünse de, sıvı ortamların katı ortamlara göre Caryophylacea familyası bitkilerinde androgenesis ve rejenerasyon açısından daha etkili olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, bu farklılıkların kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerinin

(BGD) türü ve konsantrasyonuna bağlı olarak değişebileceği literatürde yaygın olarak bildirilmektedir.

II. Grup anter kültürü çalışmalarında genotip sayısı artırılmış ve 10 farklı indüksiyon ortamı denenmiştir. Farklı karbonhidrat kaynakları ile bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanıldığı bu denemelerde, kontrol grubu olarak yer alan CHB-3 ortamının (2 mg/L kinetin + 2 mg/L 2,4-D + 10 mg/L arabinogalaktan + %9 maltoz) öne çıkması, bu ortamın *V. hispanica* için uygunluğunu desteklemektedir. Buna karşılık, denemede bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen veya düşük konsantrasyonlarda kullanılan CHB ortamlarında kallus ya da embriyo oluşumu gözlenmemiştir. Bu bulgular, bitki büyüme düzenleyicilerinin embriyo ve kallus oluşumunda kritik bir rol oynadığını bir kez daha ortaya koymaktadır. II. Grup anter kültürü denemelerinde, direkt embriyo ve kallus oluşumu bakımından genotiplerin etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken**,** ortamlar arasında ve genotip × ortam etkileşimlerinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. *V. hispanica*'da anter kültürü üzerine yapılan çalışmaların literatürde olmaması nedeniyle, elde edilen verilerin mutlak anlamda yüksek ya da düşük olarak değerlendirilmesi güç olmakla birlikte, bu sonuçlar tür için uygun ortam kombinasyonlarının belirlenmesi açısından önemli bilgiler sunmaktadır.

Tez çalışması kapsamında yürütülen mikrospor kültürü denemelerinden elde edilen embriyo verimleri Kernan ve Ferrie **(**2006) tarafından bildirilen bulgularla genel olarak uyum göstermektedir. Kernan ve Ferrie **(**2006)**,** *V. hispanica*'da mikrospor kültürü için bir protokol geliştirmiş ve hem genotipin hem de kültür ortamının embriyo oluşumu üzerindeki belirleyici etkisini açıkça ortaya koymuştur. Bu tez çalışmasında gerçekleştirilen I. Grup mikrospor kültürü denemelerinin sonuçlarına göre, en yüksek embriyo verimi V42 genotipinde, BGD içermeyen NLN ortamında**,** 360.25 embriyo /100 tomurcuk olarak elde edilrken aynı ortamda V 46 3.33 embriyo / 100 tomurcuk elde edilmiştir. Buna karşılık, denemeye alınan tüm genotiplerde 4 numaralı (Aktif karbon destekli) ortamda embriyo oluşumu gözlenmemiştir.

Kernan ve Ferrie **(**2006) tarafından yürütülen çalışmada, mikrospor kültüründe genotipe bağlı yanıt farklılıklarının oldukça belirgin olduğu rapor edilmiştir. Söz konusu çalışmada 'White Beauty' genotipinde 352 embriyo /100 tomurcuk gibi yüksek bir embriyo verimi elde edilirken, 'Turkey' genotipinde bu değerin yalnızca 20 embriyo /100 tomurcuk ile sınırlı kaldığı bildirilmiştir. Bu bulgular, *V. hispanica*'da mikrospor embriyogenezinin genotipten güçlü biçimde etkilendiğini ortaya koymaktadır. Benzer şekilde, Arı vd. (2022b) tarafından 66 farklı *V. hispanica* genotipi ile gerçekleştirilen kapsamlı çalışmada, en yüksek embriyo verimi V42 genotipinde 300,6 embriyo /100 tomurcuk olarak belirlenmiş; buna karşın üç genotipte embriyo oluşumu hiç gözlenmemiştir. Bu durum, aynı tür içerisinde dahi mikrospor kültürüne verilen yanıtın genotipler arasında büyük değişkenlik gösterebildiğini ortaya koymaktadır. V42 genotipi ile farklı yıllarda ve farklı çalışmalarda benzer düzeylerde yüksek embriyo verimlerinin elde edilmesi, bu genotipin mikrospor kültürüne yüksek yanıt kapasitesine sahip olduğunu göstermekte ve elde edilen sonuçların tekrarlanabilirliğini ve güvenilirliğini desteklemektedir. Bu tez çalışmasında elde edilen bulgular da, genotipler arasında embriyo oluşum kapasitesi bakımından belirgin farklılıkların bulunduğunu bir kez daha doğrulamıştır. Ayrıca, Arabzai (2025) tarafından baklagiller, tahıllar ve Brassicaceae türlerinde mikrospor kültürü üzerine yapılan derlemede, haploidi ve çift haploid üretiminde genotip etkisinin temel belirleyici faktörlerden biri olduğu

vurgulanmıştır. Bu değerlendirmeler, tez çalışmasında elde edilen sonuçlarla örtüşmektedir.

Bununla birlikte, elde edilen sonuçlar yalnızca genotip etkisinin değil, genotip × kültür ortamı etkileşiminin de mikrospor embriyogenezi üzerinde belirleyici olduğunu göstermektedir. Nitekim bu tez çalışmasında, en yüksek embriyo verimi V42 genotipinde**,** BGD içermeyen NLN ortamında elde edilirken, denemeye alınan tüm genotiplerde 4 numaralı ortamda embriyo oluşumu gözlenmemiştir. Bu durum, belirli genotiplerin yalnızca uygun kültür ortamlarında yüksek embriyogenik potansiyel gösterebildiğini; bazı ortam kombinasyonlarının ise genotipten bağımsız olarak embriyo gelişimini sınırlandırabildiğini düşündürmektedir. Kernan ve Ferrie (2006) tarafından da benzer şekilde, mikrospor kültüründe başarıyı belirleyen en kritik unsurlardan birinin genotip ile ortam bileşiminin uyumu olduğu vurgulanmıştır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, bu tez çalışmasından elde edilen bulgular *V. hispanica*'nın mikrospor kültürüne iyi yanıt veren bir tür olduğunu ortaya koymakla birlikte, mikrospor embriyogenezi başarısının genotipten genotipe önemli ölçüde değiştiğini ve başarılı çift haploid üretimi için uygun genotip seçiminin kritik öneme sahip olduğunu göstermektedir.

I. Grup mikrospor kültürü çalışmalarında farklı ortam denemeleri değerlendirildiğinde, aktif karbon içeren ortamlarda embriyo oluşumunun hiç gözlenmemesi dikkat çekici bir bulgu olarak öne çıkmaktadır. Aktif karbonun mikrospor kültüründeki etkisine ilişkin literatür, bu bileşenin ortam bileşimine bağlı olarak hem destekleyici hem de inhibitör rol oynayabildiğini ortaya koymaktadır. Brassicaceae türlerinde mikrospor kültürü üzerine yapılan bazı çalışmalarda, aktif karbon ilavesiyle embriyo verimlerinin belirgin şekilde arttığı rapor edilmiştir. Bu olumlu etkinin, aktif karbonun fenolik bileşikleri ve toksik metabolitleri adsorbe ederek embriyogenez için daha uygun bir mikroçevre oluşturmasına bağlandığı bildirilmektedir (Dias, 1999; Prem vd., 2008; Shumilina vd., 2020). Bununla birlikte, bitki doku kültürü literatüründe aktif karbonun yalnızca fenolik bileşikleri değil; aynı zamanda büyüme düzenleyicileri, vitaminleri ve bazı mikroelementleri de adsorbe edebildiği**,** bu durumun ise belirli genotip × ortam kombinasyonlarında embriyo indüksiyonu ve gelişimini olumsuz yönde etkileyebileceği vurgulanmaktadır (Thomas 2008). Bu bağlamda, aktif karbonun mikrospor kültüründeki etkisinin genotipten bağımsız tek yönlü bir faktör olarak değil, genotip ve ortam bileşimi ile etkileşim içinde değerlendirilmesi gerektiği anlaşılmaktadır. Nitekim bu tez çalışmasında aktif karbon ilavesi yapılan ortamlarda embriyo oluşumunun gözlenmemesi, aktif karbonun ortamın biyoyararlanım dengesini değiştirmesi ve genotip × ortam etkileşimi kapsamında embriyogenezi baskılaması ile açıklanabilir. Bu durum, literatürde bildirilen farklı tür ve genotiplerdeki değişken aktif karbon etkileriyle uyum göstermektedir.

Mikrospor kültürü çalışmalarında antibiyotik ilavesinin ortam kontaminasyonunu azaltabildiği ve bazı durumlarda embriyo gelişimini teşvik edebildiği bildirilmiş olmasına rağmen (Mineykina 2020)**,** bu tez çalışmasında antibiyotik uygulanan ortamlarda kontrol gruplarına kıyasla daha düşük embriyo verimleri elde edilmiştir. Çalışmamızda bakteriyel kökenli belirgin bir kontaminasyonun bulunmaması, antibiyotiklerin koruyucu etkisinin ortaya konulamamasına neden olmuş; buna karşın embriyo veriminde kontrol grubuna göre bir

düşüş gözlenmiştir. Bu durumun, kullanılan bitki türü ve genotipe özgü fizyolojik farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim literatürde, antibiyotiklerin mikrospor kültüründeki olumlu etkilerinin koşula bağlı olduğu ve her sistemde benzer sonuçlar vermediği vurgulanmaktadır. Asif (2023), antibiyotiklerin bazı kültür tekniklerinde ve uygun dozlarda embriyo gelişimini teşvik edebildiğini; ancak bazı genotip ve ortam kombinasyonlarında embriyogenik aktiviteyi baskılayıcı veya nötr etki gösterebildiğini bildirmiştir. Benzer şekilde, Meng (2014) de antibiyotiklerin dozuna ve kültür koşullarına bağlı olarak hücre bölünmesi ve embriyogenezi olumsuz yönde etkileyebileceğini rapor etmiştir. Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, antibiyotik kullanımının mikrospor kültüründe rutin bir embriyo artırıcı faktör olmadığı, etkisinin genotip, ortam bileşimi, kontaminasyon düzeyi ve kullanılan antibiyotik türü ile doza bağlı olarak değiştiği anlaşılmaktadır.

Androgenesis çalışmaları kapsamında, rejenerasyon ve aklimatizasyon aşamalarında ise önemli sınırlamalarla karşılaşılmıştır. Literatürde de belirtildiği üzere, *Vaccaria hispanica*'da özellikle tüylü (saçak) kök oluşumu, gerçek kök gelişimini sınırlamakta ve bu durum aklimatizasyon sürecinde önemli bir sorun oluşturmaktadır (Arı vd. 2022b).

Genel olarak değerlendirildiğinde, bu çalışma ile *Vaccaria hispanica*'da apetal çiçek karakterinin kalıtımı ilk kez ortaya konmuş, elde edilen bulguların literatürde benzer türlerde bildirilen sonuçlarla uyumlu olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, söz konusu karakterin ıslah programlarında kullanılabilecek nitelikte olduğu ve istenilen agronomik özelliklere aktarılabilirliğinin mümkün olduğu ortaya konulmuştur.

Haploidi çalışmaları açısından değerlendirildiğinde ise, *V. hispanica*'da en etkili androgenesis yönteminin genel olarak mikrospor kültürü olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, elde edilen sonuçlar androgenesis başarısının kullanılan yönteme ve genotipe bağlı olarak önemli farklılıklar gösterebildiğini ortaya koymuştur. Nitekim bu çalışmada, V20 genotipinde mikrospor kültürü ile embriyo elde edilemezken anter kültürü yoluyla embriyo oluşumu sağlanmış, buna karşılık V42 genotipinde anter kültüründe embriyo gelişimi gözlenmezken mikrospor kültüründe başarılı embriyo oluşumu elde edilmiştir. Benzer şekilde, bazı genotiplerin (özellikle V20) anter kültüründe daha başarılı sonuçlar vermesi, anter kültürünün mikrospor kültürüne yalnızca alternatif değil, aynı zamanda tamamlayıcı bir yöntem olarak da değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Bu sonuçlar, *V. hispanica*'da haploid ve doubled haploid bitki elde edilmesine yönelik çalışmalarda tek bir androgenesis yöntemine bağlı kalınmaması, genotipe özgü yanıtların dikkate alınarak mikrospor ve anter kültürlerinin birlikte ve karşılaştırmalı şekilde kullanılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

6. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, Vaccaria hispanica (Mill.) Rauschert türünde yürütülen apetal çiçek özelliğine yönelik araştırmalar kapsamında; söz konusu özelliğin kalıtımının ortaya konulması ve melezleme ile geri melezleme (backcross) ıslah teknikleri kullanılarak farklı özelliklere sahip genotiplere aktarılabilirliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, androgenesis yoluyla (mikrospor ve anter kültürü) yüksek verimlilikte haploid ve DH bitkilerin elde edilmesine olanak sağlayacak etkili kültür ortamları ve protokol kombinasyonlarının geliştirilmesi hedeflenmiştir. Gerçekleştirilen bu çalışmada, öncelikle apetal çiçek özelliğine sahip bitkiler (V8 ve V53/2 genotipleri) petalli hatlar ile melezlenmiş ve elde edilen F_1 bitkileri kendileme yoluyla F_5 generasyonuna kadar ilerletilmiştir. Ayrıca, F_1 bitkiler kullanılarak geri melezleme (backcross) çalışmaları yürütülmüş ve bu yolla elde edilen materyal BC_1F_3 generasyonuna kadar geliştirilmiştir. Ebeveyn genotipler ile başlatılan androgenesis çalışmaları kapsamında, II. grup denemelerde en uygun indüksiyon ortamları belirlenmiş; III. grup androgenesis çalışmaları çerçevesinde ise elde edilen bazı apetal F_3 ve BC_1F_2 genotiplerinden haploid ve çift haploid bitki üretimine yönelik denemeler gerçekleştirilmiştir. Tez çalışması kapsamında elde edilen genel sonuçlar aşağıda özetlenmiştir;

- *V. hispanica*'da apetal çiçek karakterinin kalıtımına yönelik yapılan melezleme ve segregasyon analizleri sonucunda, özelliğin iki gen tarafından kontrol edildiği ve söz konusu özelliğin ortaya çıkışında herhangi bir sitogenetik etkiye bağlı bulunmadığı belirlenmiştir. F_2 populasyonunda gözlenen 12:3:1 (petalli: yarı petalli: apetal) segregasyon oranı, apetal çiçek özelliğinin iki bağımsız genin epistatik etkileşimi sonucu kontrol edildiğini ortaya koymuştur. Bu bulgu, özelliğin Mendel kalıtım esaslarına uygun şekilde aktarıldığını ve çevresel ya da sitogenetik faktörlerden ziyade genetik kontrol altında olduğunu göstermektedir.
- F_1 bitkilerinin kendilenmesi ve geri melezleme (BC) çalışmaları sonucunda, F_4 ve BC_1F_3 generasyonlarında fenotipik olarak stabil apetal çiçekli yeni hatlar elde edilmiştir. Elde edilen bu hatların, apetal çiçek özelliğini kararlı bir şekilde sergilemeleri**,** söz konusu özelliğin ileri generasyonlarda başarıyla sabitlenebildiğini göstermektedir. Bu nedenle, geliştirilen hatlar ileri ıslah çalışmaları ve çeşit geliştirme programları açısından önemli genetik materyaller olarak değerlendirilmiştir.
- Elde edilen ebeveyn hatlar, melez hatlar ve BC populasyonları karşılaştırıldığında, erkencilik bakımından belirgin farklılıkların ortaya çıktığı belirlenmiştir. Özellikle erkenci ebeveyn hatlar ile melezlenen geççi genotiplerde, erkenciliğe doğru bir kaymanın gözlenmesi, söz konusu özelliğin melezleme yoluyla kısmen aktarılabildiğini göstermektedir
- Çalışmanın hasat zamanında apetal genotiplerin kapalı kapsüllü yapıda olması dikkat çekici bir özellik olarak değerlendirilmiştir. Her ne kadar çalışmada

kapalı kapsül özelliği ile veriler ve hesaplamalar yapılmamış olsa da, söz konusu özelliğin ilerleyen çalışmalarda kapsül açılmasının kontrol altına alınmasına yönelik ıslah stratejilerinde dolaylı olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir. Bu bağlamda, ileride yapılacak denemeler ve açılımlar ile birlikte apetal çiçek özelliğinin kapsül yapısı ve tohum kaybının azaltılması açısından değerlendirilmesinin ümit verici olduğu düşünülmektedir.

- Anter kültürü çalışmalarında, genotip ve indüksiyon ortamına bağlı olarak kallus ve embriyo oluşumu sağlanmış; rejenerasyon aşamasında hormonsuz B5 rejenerasyon ortamının etkisi görülmüştür. Ancak, sürgünlerin büyük bir kısmında kök gelişiminin sınırlı kaldığı ve aklimatizasyon aşamasında bitki kayıplarının yaşandığı belirlenmiştir.
- Anter kültürü çalışmalarında, genotip ve indüksiyon ortamlarının kültür başarısı üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Yapılan karşılaştırmalar sonucunda**,** anter kültürü için en uygun indüksiyon ortamının CHB-3 ortamı olduğu tespit edilmiştir. Buna karşılık, mikrospor kültürü denemelerinde en yüksek yanıtın hormonsuz NLN ortamından elde edildiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, anter ve mikrospor kültürlerinin farklı fizyolojik gereksinimlere sahip olduğunu ve bu nedenle kültür tipine özgü ortam optimizasyonunun gerekli olduğunu ortaya koymaktadır.
- Mikrospor kültürü çalışmalarında**,** embriyo oluşumu başarıyla gerçekleştirilmiş olup, mikrospor kültürünün embriyo verimi bakımından anter kültürüne kıyasla daha etkin olduğu görülmüştür..
- Androgenesis çalışmalarında kullanılan genotiplerin yanıtları, uygulanan androgenesis tekniğine bağlı olarak farklılık göstermiştir. Anter kültürü denemelerinde en yüksek yanıt V20 genotipinden elde edilirken, mikrospor kültürü çalışmalarında ise en iyi sonuçlar V42 genotipinde gözlenmiştir. Bu bulgu, genotiplerin androgenetik kapasitesinin kültür tekniğine özgü olarak değişebildiğini ve başarılı bir haploid üretimi için genotip × teknik uyumunun dikkate alınması gerektiğini ortaya koymaktadır.
- III. Grup androgenesis çalışmaları kapsamında kullanılan F_3 ve BC_1F_2 genotiplerinin androgenetik yanıtlarının**,** ebeveyn genotiplere bağlı olduğu belirlenmiştir. Örneğin, V57 genotipinde anter kültürü yoluyla embriyo elde edilemezken**,** V8 genotipinde başarılı embriyo oluşumu gözlenmiştir. Bununla birlikte, bu iki hattın melezi olan B3-4 hattında da anter kültürü sonucunda embriyo elde edilmiştir. Bu durum, anter kültürüne yanıt verebilme özelliğinin genotipik bir özellik olduğunu ve melezleme yoluyla sonraki generasyonlara aktarılabildiğini birkez daha ortaya koymaktadır.
- Yapılan androgenesis çalışmaları sonucunda sürgün oluşumu sağlanmış olmakla birlikte, elde edilen sürgünlerde köklenme ve aklimatizasyon başarılarının istenilen düzeyde olmadığı belirlenmiştir. Bu durumun, *V. hispanica* üzerinde daha önce gerçekleştirilen benzer çalışmalarda bildirilen bulgularla uyumlu olduğu görülmektedir.
- Özellikle mikrospor kültürü kaynaklı embriyoların ortam koşullarında bazı sürgünlerde çiçeklenmenin gözlemlenmesi, mikrosporların rejeneratif

potansiyelini ortaya koymuş; bu sürgünlerde tohum oluşumunu teşvik etmeye yönelik alternatif kültür yaklaşımlarının uygulanabileceği değerlendirilmiştir.

- Genel olarak, bu tez çalışması ile *V. hispanica*'da apetal çiçek karakterinin kalıtımı aydınlatılmış, ıslah programlarında kullanılabilecek ileri generasyon apetal hatlar geliştirilmiş ve androgenesis uygulamalarının potansiyeli ile mevcut sınırlılıkları ortaya konulmuştur.

7. KAYNAKLAR

Ahmadi, B., Shariatpnahi, M.E., Ojaghkandi M.A., Heyderi A.E. 2014. Improved microspore embryogenesis induction and plantlet regeneration using putrescine, cefotaxime and vancomycin in *Brassica na*pus L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 118.3: 497-505.

Anonim 2022. http://www.carnationbioproducts.ca/pages/seed-production.html [Son erişim tarihi: 20 Haziran 2025]

Anonim 2026. https://www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme/il-ve-ilceler-istatistik.aspx [Son erişim tarihi: 15 Ocak 2026]

Asif, M., Eudes, F., Randhawa, H., Amundsen, E., Yanke, J., & Spaner, D. 2013. Cefotaxime prevents microbial contamination and improves microspore embryogenesis in wheat and triticale. *Plant cell reports*, *32*(10), 1637-1646.

Ari, E., Mutlu, N., Topuz, A., İkten, H., Deniz, İ.G., Genc, İ. 2016. *Vaccaria hispanica* (Mill.) Rauschert Genotiplerinin Haploidiye Tepkilerinin Belirlenmesi, Moleküler Karakterizasyonları ve Tohum İçeriklerinin Tespiti.112O136 nolu TUBİTAK 1001 Proje Sonuç Raporu, Antalya.

Ari, E., Mutlu, N., Soylu, İ., Bedir, H., Genç, İ., & Deniz, İ.G. 2022a. Morphological and agronomic characterization of Turkish Vaccaria hispanica (Mill.) Rauschert populations. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, *46*(6), 933-946.

Ari, E., Bedir, H., Deniz, I.G., Genc, I., & Seguí-Simarro, J.M. 2022b. Evaluation of the androgenic competence of 66 wild Turkish Vaccaria hispanica (Mill.) Rauschert genotypes through microspore culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *148*(1), 209-214.

Bae, S.J., Islam, M.M., Kim, H.Y., & Lim, K.B. 2020. Induction of Tetraploidy in Watermelon with Oryzalin Treatments. *Hortic. Sci. Techno* 38, 385–393.

Balsevich, J. 2008. Prairie Carnation (*Saponaria vaccaria*) – A Potential New Industrial/Medicinal Crop for the Prairies. http://www.ssca.ca/conference/ conference2008/Balsevich.pdf,

Bedir, H., Ari, E., Vural, G.E., & Seguí-Simarro, J.M. 2022. Effect of the genotype, explant source and culture medium in somatic embryogenesis and organogenesis in *Vaccaria hispanica* (Mill.) Rauschert. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 1-15.

Birchler, J.A., Yao, H., Chudalayandi, S., Vaiman, D., & Veitia, R.A. 2010. Heterosis. *The Plant Cell*, *22*(7), 2105-2112.

Bowman, J.L., Smyth, D.R., & Meyerowitz, E.M. 1989. Genes directing flower development in Arabidopsis. *The Plant Cell*, *1*(1), 37-52.

Buzza, G.C. 1983. The inheritance of an apetalous character in Canola (*B. napus* L.). *Cruciferae Newsletter* 8, 11–12.

Cam, I.B., Balci-Torun, F., Topuz, A., Ari, E., Deniz, İ.G. 2018. Genc Physical and chemical properties of cow cockle seeds (*Vaccaria hispanica* (Mill.) Rauschert) genetic resources of Turkey. *Ind. Crops Prod.,* 126, pp. 190-200.

Carranza, J.M. 1973. The carnation, a new host for *Sclerotinia sclerotiorum* in Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomia 49*(2), 221-222.

Chen, B.Y., Wu, X.M., Lu, G.Y., Gao, G.Z., Xu, K., & Li, X.Z. 2006a. Molecular mapping of the gene (s) controlling petal-loss trait in *Brassica napus*. *Yi Chuan= Hereditas*, *28*(6), 707-712.

Chen, BiYun, C.B., Wu XiaoMing, W.X., Lu GuangYuan, L.G., Gao GuiZhen, G.G., Xu Kun, X.K., & Li XiangZhi, L.X. 2006b. Inheritance of apetalous trait in two kinds of apetalous rapeseed mutants.

Chen, W., Zhang, Y., Ren, J., Ma, Y., Liu, Z., & Hui, F. 2019. Effects of methylene blue on microspore embryogenesis and plant regeneration in ornamental kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*). *Scientia horticulturae*, *248*, 1-7. 248: 1-7.

Chu, C.C. 1981. The N6 medium and its applications to anther culture of cereal crops.

Chu, C.C., Hill, R.D., Brule-Babel, L. 1990. High frequency of pollen embryoid formation and plant regeneration in Triticum aestivum L. on monosaccharide containing media. *Plant Science*, 66(2), 255-262.

Condie, J.A., Nowak, G., Reed, D.W., Balsevich, J.J., Reaney, M.J.T., Arnison, P.G., Covello, P.S. 2011. The biosynthesis of Caryophyllaceae-like cyclic peptides in *Saponaria vaccaria* L. from DNA-encoded precursors. *The Plant Journal*, 67: 682–690.

Cours, B.J. and Williams, P.H. 1977. Genetic studies in *Brassica campestris* L. *Plant Breeding* Abstract 51, 1533.

Cullen, J. 1967. Vaccaria. In: Davis PH (editor). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburg, UK: Edinburgh University Press, Vol: 2, pp. 177-179.

DeVicente, M. C., & Tanksley, S. 1993. QTL analysis of transgressive segregation in an interspecific tomato cross. *Genetics*, *134*(2), 585-596.

Dolcet-Sanjuan, R., Clavería, E., Ortigosa, A., & Arús, P. 2000. Carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) dihaploid lines resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. Dianthi. In *IV International Symposium on İn vitro Culture and Horticultural Breeding 560* (pp. 141-144).

Duan, X., Zhao, C., Jiang, Y., Zhang, R., Shan, H., & Kong, H. 2020. Parallel evolution of apetalous lineages within the buttercup family (Ranunculaceae): outward

expansion of AGAMOUS1, rather than disruption of APETALA3-3. *The Plant Journal*, *104*(5), 1169-1181.

Duddu, H.S., Shirtliffe, S.J, 2014. Variation of seed dormancy and germination ecology of cowcockle (*Vaccaria hispanica*). Weed Science 62 (3): 483-492. https://doi.org/10.1614/WS-D-13- 00125.1.

Duddu, H.S., Shirtliffe, S.J., Willenborg, C.J. 2015. Evolutionary adaptation in cow c ockle *Vaccaria hispanica*: a potential alternative crop. Genetic Resources and Crop Evolution 62 (6): 879-891. https://doi.org/10.1007/s10722-014-0198-y

Dunwell, J.M. 2010. Haploids in flowering plants: origins and exploitation. *Plant biotechnology journal* 8.4 377-424.

Efthimiadou, A., Karkanis, A., Bilalis, D., & Katsenios, N. 2012. Cultivation of cow cockle (*Vaccaria hispanica* (Mill.) Rauschert): an industrial–medicinal weed. *Industrial Crops and Products*, *40*, 307-311.

Ekhveh, M.J., Moieni, A., & Javaran, M.J. 2013. The evaluation of response to isolated microspores culture in some Iranian hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Journal of Agricultural Science*, *5*(7), 206.

Ellialtioglu, S., Sari N., Abak, K. 2001. Sayfa:137-189. Haploid Bitki Üretimi. Bitki Biyoteknolojisi I – Doku Kültürü ve Uygulamaları.

Ferrie, A.M.R., Bethune, T., Kernan, Z. 2005. An overview of preliminary studies on the development of doubled haploid protocols for nutraceutical species. *Acta Physiol Plant.* 27:735–741.

Ferrie, A.M.R., Balsevich, J., Ehlert, Z. 2009. Methof For Production of Saponaria from Microspores. *United States Patent Application Publication*. Pub.No.: US 2009/0210959 A1. http://www.faqs.org/patents/app/20090210959

Ferrie, A.M.R. and Ehlert, Z. 2021. Doubled Haploidy for Cow Cockle (*Saponaria vaccaria* L.). *Doubled Haploid Technology, Springer Protocol*, Volume 3, Editor: Jose M. Seguí-Simarro, pp 263-270

Ferrie, A.M.R. 2009. Current Status of Doubled Haploids in Medicinal Plants. *In Advances in Haploid Production in Higher Plants*. Chapter 18. Eds: A. Touraev et al.

Ferrie, A.M.R. and Caswell, K.L. 2011. Isolated microspore culture techniques and recent progress for haploid and doubled haploid plant production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 104. 3 301-309.

Fletcher, J. 1897. Weeds (Bulletin 28). Canada Department of Agriculture, Central Experimental Farm

Fu, S.Z., Lu, Z.J., Chen, YQ, Q.i.C.K., Pu, H.M., Zhang, J.F.1991. Inheritance of apetalous character and its breeding potency in *Brassica napus* L. In: Fang GH (ed) *Proceedings of the symposium China international rapeseed sciences*" Shanghai Science and Technology Press, Shanghai, pp 29–35

Fu, S.Z., Zhang, J.F., Chen, YQ, Q.i.C.K. 1996. Study on plant-type structure and its ideotype in rapeseed. *Oil Crops* China 4:23–27

Gamborg, O.L., Miller, R., & Ojima, K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental cell research*, *50*(1), 151-158.

Germana, M.A. 2011. Anther culture for haploid and doubled haploid production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *104*(3), 283-300.

Ghosh, S., Watson, A., Gonzalez-Navarro, O. E., Ramirez-Gonzalez, R. H., Yanes, L., Mendoza-Suárez, M. & Hickey, L. T. 2018. Speed breeding in growth chambers and glasshouses for crop breeding and model plant research. *Nature protocols*, *13*(12), 2944-2963.

Guclu-Ustundag, O., Balsevich, J., Mazza, G. 2007. Pressurized low polarity water extraction of saponins from cow cockle seed. *Journal of Food Engineering* 80: 619– 6302007

Gupta, K., Prem, D., Nashaat, N.I., & Agnihotri, A. 2007. Phenotypic variations in plant progenies of interspecific crosses involving Brassica juncea/B. carinata. In *Proceedings, 12th International Rapeseed Congress, Wuhan, China; Sustainable Development in Cruciferous Oilseed Crops Production, (ed.) Tingdong Fu & Chunyun Guan, Science Press USA Inc* (Vol. 1, pp. 239-242).

Habekotte, B. 1997. Options for increasing seed yield of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.): a simulation study. *Field Crops* Res 54:109–126.

Hoekstra, S., Van Zijderveld, M.H., Heidekamp, F., & Van der Mark, F. 1993. Microspore culture of *Hordeum vulgare* L.: the influence of density and osmolality. *Plant Cell Reports*, *12*(12), 661-665.

Holme, I.B., Olesen, A., Hansen, N.J.P., Andersen, S.B. 1999. Anther and isolated microspore culture response of wheat lines from northwestern and eastern Europe. *Plant Breeding*, *118*(2), 111-117.

Höfer, M. 2004. *İn vitro* androgenesis in apple improvement of the induction phase. *Plant Cell Reports* 22.6 365-370.

Hu, M., Hu, Q., Yu, J., Zhou, L., Zuo, D., Cai, M. & Zhu, B. 2025. Development, characteristics, and gene expression profiles of a chromosomal deletion line of *Brassica juncea* (AABB, 2n= 36) with apetalous feature derived from interspecific hybridization. *Plant Physiology and Biochemistry*, *218*, 109330.

ISTA. 2023. International Rules for Seed Testing. *International Seed Testing Association*, Bassersdorf, Switzerland.

İzmirli, A., Ari, E., Kaba, A., & Mutlu, N. 2025. First Report of *Sclerotinia sclerotiorum* Causing Stem Rot Disease in Cow Cockle (*Vaccaria hispanica*) in Türkiye. *Plant Disease*.

Jamaux, D.I. and Spire, D. 1999. Comparison of responses of ascospores and mycelium by ELISA with anti-mycelium and anti-ascospore antisera for the development of a method to detect *Sclerotinia sclerotiorum* on petals of oilseed rape. *Annals of Applied Biology,* 134, 171–179.

Jeong, W-H., Harada, K., Yamada, T., Abe, J., Kitamura, K. 2010. Establishment of new method for analysis of starch contents and varietal differences in soybean seeds. *Breeding Science,* 60: 160-163.

Jiang, L. 2001. A mutant with apetalous flowers in oilseed rape (*Brassica napus*): Mode of inheritance and influence on crop physiology and sclerotinia infection. PhD Thesis, Georg-August-Universitaet Goettingen, Germany).

Jiang, L. 2007. Breeding for apetalous rape: inheritance and yield physiology. *Advances in Botanical Research,* 45. 217-231.

Kelly, A., Fray, M., Arthur, E.A., Lydiate, D.J., & Evans, E.J. 1995. The genetic control of petalless flowers and upright pods. In *Proceedings of the 9th International Rapeseed Congress,* (pp. 4-8).

Kernan, Z., Ferrie, A.M.R. 2006. Microspore embryogenesis and the development of a double haploidyprotocol for cow cockle (*Saponaria vaccaria*). *Plant Cell Rep,* 25: 274– 280.

Klepikova, A.V., Shnayder, E.D., Kasianov, A.S., Remizowa, M.V., Sokoloff, D.D., & Penin, A.A. 2021. Lepidium-like, a naturally occurring mutant of *Capsella bursa-pastoris*, and its implications on the evolution of petal loss in Cruciferae. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 714711.

Krüger, W. 1975. Die Beeinflussung der Apothezien- und Ascosporen- Entwicklung des Rapskrebserregers *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary durch Umseltfaktoren. Pflanzen Krankheiten 2, 101–108

Kumar, S.V., Rajeshkumar, P., Senthilraja, C., & Nakkeran, S. 2015. First report of Sclerotinia sclerotiorum causing stem rot of carnation (*Dianthus caryophyllus*) in India. *Plant Diseasea*, *99*(1280), 10-1094.

Kurt, R., İmren, E. 2018. Türkiye'deki önemli tıbbi ve aromatik bitkilerin endüstri içi ticaret göstergeleri ile statik ve dinamik analizi. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, *20*(3), 548-557.

Lara-Fioreze, A.C.C., Tomaz, C.A., Fioreze, S.L., Pilon, C., Zanotto, M.D. 2013. Genetic diversity among progenies of *Crambe abyssinica* Hochst for seed traits. *Industrial Crops and Products* 50: 771- 775.

Li, Z., Hosotani, M., Yagi, M., Koyama, R., & Uno, Y. 2025. Anther-based regeneration of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) for haploid production. *İn vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, *61*(4).

Lichter, R.1982. Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 105.5 (1982): 427-434.

Lu, Z.J. and Fu, S.Z. 1990. Inheritance of apetalous character in Rape (*Brassica napus* L.) and its implication in breeding. *Jiangsu Journal of Agriculture of Sciences,* 6, 30–36.

Ma, N., Chen, W., Fan, T., Tian, Y., Zhang, S., Zeng, D., & Li, Y. 2015. Low temperature-induced DNA hypermethylation attenuates expression of RhAG, an AGAMOUS homolog, and increases petal number in rose (*Rosa hybrida*). *BMC plant biology*, *15*, 1-13.

Mazza, G., Biliaderis, C.G., Przybylski, R., Oomah, B.D. 1992. Compositional and morphological characteristics of cow cockle (*Saponaria vaccaria*) seed, a potential alternative crop. Journal of Agricultural and Food Chemistry 40 (9): 1520- 1523. https://doi.org/10.1021/jf00021a009.

Memon, R.A., Bhatti, G.R., Khalid, S., Mallah, A., Ahmed, S. 2013. Illustrated weed flora of wheat crop of Khairpur District, Sindh. *Pakistan Journal of Botany.* 45 (1): 39-47.

Murashige, T., & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures.. *Physiologia plantarum*, *15*(3).

Shumilina, D., Kornyukhin, D., Domblides, E., Soldatenko, A., & Artemyeva, A. (2020). Effects of genotype and culture conditions on microspore embryogenesis and plant regeneration in Brassica Rapa ssp. Rapa L. *Plants*, *9*(2), 278.

Markets & Markets. 2022. Nutraceutical Ingredients Market worth $227.5 billion by 2025. http://www.marketsandmarkets.com/PressReleases/nutraceutical-ingredient.asp [Son erişim tarihi: 15.11.2024]

McKim, S.M., Routier-Kierzkowska, A.L., Monniaux, M., Kierzkowski, D., Pieper, B., Smith, R.S., ... & Hay, A. 2017. Seasonal regulation of petal number. *Plant Physiology*, *175*(2), 886-903.

Mejza, S. J., Morgant, V., DiBona, D. E., & Wong, J. R. 1993. Plant regeneration from isolated microspores of *Triticum aestivum*. *Plant Cell Reports*, *12*(3), 149-153.

Mendham, N.J., Rao, M.S.S., Buzza, G.C.1991. The apetalous flower character as a component of a high yielding ideotype. I*n: Proceedings of the 8th international rapeseed congress*, Saskatoon, Canada, 596–600

Mineykina, A., Shumilina, D., Bondareva, L., Soldatenko, A., & Domblides, E. 2020. Effect of beta-lactam antibiotics on microspore embryogenesis in Brassica species. *Plants*, *9*(4), 489.

Miyoshi, K.1996. Callus induction and plantlet formation through culture of isolated microspores of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Plant Cell Reports,* 15.6 391-395.

Mosquera, T., Rodríguez, L.E., Parra, A., & Rodríguez, M. 1997. *İn vitro* adventive regeneration from carnation (*Dianthus car*yophyllus) anthers. In *International Symposium on Cut Flowers in the Tropics 482* (pp. 305-308).

Murty, Y. S., & Kumar, V. 1976. *İn vivo* production of plantlets from the anthers of *Dianthus caryophyllus* L.

Nitsch, J.P. and Nitsch, C. 1969. Haploid plants from pollen grains. *Science*, *163*(3862), 85-87.

Oelck, M.M. 2008. SAPONIN Inc. – The Prairie Carnation. http://www.slideshare.net/ MOelck/saponin-at-abic-2008-cork-ireland [Son erişim tarihi: 2 Kasım 2011]

Ozcelik, H., Yildirim, B. 2011. Türkiye çövenlerinin (Gypsophila L. ve Ankyropetalum Fenzl spp.) ekonomik önemi, kullanım olanakları ve korunması üzerine düşünceler. *SDÜ Orman Fakültesi Dergisi*, 12: 57-61

Palmer, R.G., Matson, A.L., & Knap, H.T. 2004. Registration of an apetalous male-sterile genetic stock (T368) of soybean. *Crop science*, *44*(6), 2282-2284.

Prem, D., Gupta, K., Sarkar, G., Agnihotri, A. 2008. Activated charcoal induced high frequency microspore embryogenesis and efficient doubled haploid production in *Brassica juncea*. *Plant Cell Tissue Organ Cult*ure, 93, 269–282.

Meng, Q., Liu, Z., Zhang, Y., Liu, C., Ren, F., & Feng, H. 2014. Effects of antibiotics on *in vitro*-cultured cotyledons. *İn vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, *50*(4), 436-441.

Rakow, G. and Se´guin-Swartz, G. 1999. Development of apetalous *Brassica napus*. In ‘‘Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress, p. 69. Canberra, Australia.

Ramanujam, S. 1940. An apetalous mutant in turnip (*Brassica campestris* L.). *Nature,* 145, 552–553.

Reich, J, and Syama, C. 2022. Predicting field diseases caused by *Sclerotinia sclerotiorum*: A review." *Plant Pathology.*

Saharan, Govind Singh, and Naresh Mehta. 2008. Sclerotinia diseases of crop plants: biology, ecology and disease management. *Springer Science* & Business Media

Sari, H., Sari, D., Eker, T. & Toker, C. 2021. De novo super-early progeny in interspecific crosses *Pisum sativum* L.× *P. Fulvum*. Sibth. et Sm. *Sci. Rep.* 11, 1–14

Sato, S., Katoh, N., Yoshida, H., Iwai, S., & Hagimori, M. 2000. Production of doubled haploid plants of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) by pseudofertilized ovule culture. *Scientia horticulturae*, *83*(3-4), 301-310.

Seguí-Simarro, J.M. 2010. Androgenesis revisited. *The Botanical Review* 76.3 (377-404.

Seguı´-Simarro, J.M., Jacquier, N.M.A., Widiez, T. 2022. Overview of *İn vitro* and *İn vivo* Doubled Haploid Technologies. *Doubled Haploid Technology, Springer Protocol*, Volume 1, Editor: Jose M. Seguí-Simarro, pp 3-22

Sharafat, A.R., Ari, E., & Izmirli, A. 2023. The Effect of Dimethyl Sulfoxide on Embryogenesis and Green Plant Regeneration in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Anther Culture. *In Biology and Life Sciences Forum,* (Vol. 27, No. 1, p. 46). MDPI.

Shariatpanahi, M.E., Bal, U., Heberle-Bors, E., & Touraev, A. 2006. Stresses applied for the re-programming of plant microspores towards *in vitro* embryogenesis. *Physiologia Plantarum*, *127*(4), 519-534.

Shumilina, D., Kornyukhin, D., Domblides, E., Soldatenko, A., & Artemyeva, A. 2020. Effects of genotype and culture conditions on microspore embryogenesis and plant regeneration in *Brassica Rapa* ssp. Rapa L. *Plants*, *9*(2), 278.

Singh, D. 1961. An apetalous mutant in toria brown sarson (*Brassica campestris* var. brown sarson) and its inheritance. *Current Science,* 30, 62–63.

Thomas, T.D. 2008. The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotechnology advances*, *26*(6), 618-631.

Touraev, A., Ilham, A., Vicente, O., Heberle-Bors, E.1996. Stress-induced microspore embryogenesis in tobacco: an optimized system for molecular studies. *Plant Cell Reports,* 15.8 561-565.

Vega, U., & Frey, K. J. 1980. Transgressive segregation in inter and intraspecific crosses of barley. *Euphytica*, *29*(3), 585-594.

Young, C.S., and C.P. Werner. 2012. Infection routes for Sclerotinia sclerotiorum in apetalous and fully petalled winter oilseed rape. *Plant pathology*, 61.4 730-738. 20.

Yu, K., Wang, X., Chen, F., Chen, S., Peng, Q., Li, H., ... & Guan, R. 2016. Genome-wide transcriptomic analysis uncovers the molecular basis underlying early flowering and apetalous characteristic in Brassica napus L. *Scientific reports*, *6*(1), 30576.

Zhang, J.F., Fu, S.Z., Chen, Y.Q., Qi, C.K., Yang, J.M., Zhu, X.D. 1998. Study on plant-type structure and its ideotype in rapeseed. II. Effect of apetalous character on establishing ideotype. Chin J Oil Crop Sci 1:33–37

Zhang, W. X., Li, D. R., Tian, J. H. and Yang, C. L. 2005. The discovery and study of apetalous sterility mutant in *Brassica napus* L. *Journal of Oil Crops in China,* 27, 13–15.

Zhang, Y., Wang, X., Zhang, W., Yu, F., Tian, J., Li, D., & Guo, A. 2011. Functional analysis of the two Brassica AP3 genes involved in apetalous and stamen carpelloid phenotypes. *Plos one*, *6*(6), e20930.

Zhang, R., Guo, C., Zhang, W., Wang, P., Li, L., Duan, X., & Kong, H. 2013. Disruption of the petal identity gene APETALA3-3 is highly correlated with loss of petals within the buttercup family (Ranunculaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(13), 5074-5079.

Zhao, Y., Wang, M.L. 2004. Inheritance and agronomic performance of an apetalous flower mutant in *Brassica napus* L. *Euphytica*, 137:381–386

Zhou, Y.T., Wang, H.Y., Zhou, L., Wang, M.P., Li, H.P., Wang, M.L., & Zhao, Y. 2008. Analyses of the floral organ morphogenesis and the differentially expressed genes of an apetalous flower mutant in *Brassica napus*. *Plant cell reports*, 27(1), 9-

Wang, X., Yu, K., Li, H., Peng, Q., Chen, F., Zhang, W., & Zhang, J. 2015. High-density SNP map construction and QTL identification for the apetalous character in *Brassica napus* L. *Frontiers in plant science*, *6*, 1164.

White, P. R. 1943. A handbook of plant tissue culture (Vol. 56, No. 2, p. 151). LWW.

Willenborg, Christian J., and Eric N. Johnson. 2013. Influence of seeding date and seeding rate on cow cockle, a new medicinal and industrial crop. *Industrial Crops and Products,* 49: 554-560.

ÖZGEÇMİŞ

Ahmet İZMİRLİ

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora 2020-2025	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Antalya
Yüksek Lisans 2016-2018	Uşak Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Bölümü, Uşak
Lisans 2012-2016	Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Kayseri

Yayınlar ve Eserler

Yıldırım, M. U., Bulduk, İ., Sarıhan, E. O., Küçük, G., Cin, S. T., & İzmirli, A. (2019). Effects of different doses of plant growth regulators on some characteristics of summer snowflakes (*Leucojum aestivum* L.). *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, *7*, 163-168.

Fidan, H., Calis, O., Ari, E., Atasayar, A., Sarikaya, P., Tek, M. I., ... & Firat, G. (2023). Knockout of elF4E using CRISPR/Cas9 for large-scale production of resistant cucumber cultivar against WMV, ZYMV, and PRSV. *Frontiers in Plant Science*, *14*, 1143813.

Sharafat, A. R., Ari, E., & Izmirli, A. (2023). The Effect of Dimethyl Sulfoxide on Embryogenesis and Green Plant Regeneration in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Anther Culture. In *Biology and Life Sciences Forum* (Vol. 27, No. 1, p. 46). MDPI.

İzmirli, A., & Yıldırım, M. U. (2023). Tıme-Based Changes In Essentıal Oıl Contents And Components Of Englısh Lavender (*Lavandula Angustifolia* Mıll.) After Foliar Application Of Gibberellic Acid (Ga 3). *Japs: Journal Of Animal & Plant Sciences*, *33*(3).

İzmirli, A., Ari, E., Kaba, A., & Mutlu, N. (2026). First Report of Sclerotinia sclerotiorum Causing Stem Rot Disease in Cow Cockle (*Vaccaria hispanica*) in Türkiye. *Plant Disease*, PDIS-09.