

Proje No: 104T224

**Solanaceae'de Kıyaslamalı Genom Analizleri: Model Sistem
Olarak Patlıcan (*Solanum melongena* L.)**

**DOÇ. DR. SAMİ DOĞANLAR
PROF. DR. ANNE FRARY
YRD. DOÇ. DR. RITCHE EANES
DR. MARIE-CHRISTINE DAUNAY
SEVGİ MUTLU**

Nisan 2010

İZMİR

ÖNSÖZ

Patlıcan (*Solanum melongena*) Akdeniz Bölgesi, Çin, Hindistan ve Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde ekonomik öneme sahip olan tarımsal bir bitkidir. Günlük diyetin önemli komponentleri olan vitamin, mineral ve lif içeriği bakımından önemli gıdasal katkısına ek olarak, patlıcan ve yabani türleri antioksidant etkiye sahip tıbbi nitelikli molekülleri içermektedir. Bütün bu olumlu özelliklerine rağmen patlıcan bitkisi genetik ve moleküler çalışmalar açısından Solanaceae ailesi içerisinde enaz çalışılan bir tür durumundadır. Ancak, son zamanlarda değişik çalışma alanları bakımından patlıcan ve yabani türlerinin popüleritesi artmaya başlamıştır. Bu projede ise patlıcan bitkisi kıyaslamalı genom analizleri için model bir tür olarak ele alınmıştır. Bu kapsamda patlıcan için yüksek çözünürlükte yeni bir moleküler genetik bağlantı haritası oluşturulmuştur. Bu amaç için öncelikle AFLP ve SSR markörleri geliştirilmiş ve bağlantı haritasında kullanılmıştır. Ayrıca, bu markörler Türk patlıcan çeşitlerinin ve yabani patlıcan türlerinin genotipik olarak profileyerek genetik varyasyon düzeylerinin belirlenmesinde de kullanılmıştır. Bu çalışmalara paralel olarak uluslararası “The SOL projesi” kapsamında geliştirilen COSII markörleride patlıcan genom haritası oluşturma çalışmalarında kullanılmıştır. Sonuç olarak mevcut patlıcan genom haritası RFLP, AFLP, SSR ve COSII markörlerini içermektedir. Bu çalışmalara ilaveten son zamanlarda bitki ıslah çalışmalarında popüler hale gelen AB-QTL analizleri için popülasyon oluşturulmaya çalışılmıştır. Bu amaç için dört yabani tür donör olarak kullanılmıştır. Projede ayrıca patlıcan genotipleri antioksidant aktiviteleri ve fenolik madde içerikleri bakımından da karakterize edilmiştir. Sonuç olarak, önerilen bu araştırmadan elde edilen bilgiler patlıcan moleküler ıslah çalışmalarında, çekirdek koleksiyonların oluşturulmasında, patlıcan çeşitleri arasındaki genetik ilişkilerin belirlenmesinde ve patlıcan genotiplerinin farmasotik çalışmalar için içeriklerinin karakterizasyonunda ön bilgileri oluşturacaktır.

Bu proje TÜBİTAK tarafından Doç. Dr. Sami DOĞANLAR’a sağlanan destekle tamamlanmıştır (TÜBİTAK 104T224).

İÇİNDEKİLER

ÖZET	6
ABSTRACT	7
1. GİRİŞ	8
2. GENEL BİLGİLER	9
3. GEREÇ VE YÖNTEM	13
3.1. Çalışmada Kullanılan Bitkisel Materyaller	13
3.2. Morfolojik Karakterizasyon	13
3.3. Suda Çözünabilir Antioksidant Aktivitesi	16
3.4. Fenolik Madde İçeriği	17
3.5. Glikoalkaloidlerin Ekstraksiyonu ve Saflaştırılması	17
3.6. SSR Analizleri	20
3.7. AFLP Analizleri	25
3.8. COSII Analizleri	28
3.9. Veri Analizleri	28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
4.1. Patlıcan ve Yabani Türleri Arasında Genetik Varyasyonun Belirlenmesi	29
4.1.1. Morfolojik Analiz Sonuçları	29
4.1.2. Türk Patlıcan Çeşitlerinde AFLP Analizleri	33
4.1.3. Yabani Patlıcan Türlerinde SSR Analizleri	38
4.2. Patlıcan'da Yüksek Çözünürlükte Genom Haritası Oluşturulması	47
4.2.1. AFLP Analizleri Sonuçları	47
4.2.2. SSR Analizleri Sonuçları	51
4.2.3. COSII Analizleri Sonuçları	56
4.3. AB-QTL Populasyonlarının Oluşturulması	65
4.4. Antioksidant Aktivite ve Fenolik Madde İçeriğinin Karakterizasyonu	83
4.5. Glikoalkaloidlerin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu	86
5. SONUÇLAR	92
KAYNAKLAR	97
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU	103

TABLO LİSTELERİ

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan Türk Patlıcan Genotiplerinin Listesi	14
Tablo 2. Çalışmada Kullanılan Yabani Patlıcan Türlerinin Listesi	15
Tablo 3. Antioksidant Karakterlerin Analizi İçin Kullanılan Genotiplerinin Listesi	16
Tablo 4. smSSR primerleri, tekrar motifleri ve primer dizileri	22
Tablo 5. Türk Patlıcan Genotiplerine Uygulanan AFLP Primer Kombinasyonları	28
Tablo 6. Türk Patlıcan Çeşitlerinde Ölçülen Morfolojik Karakterler	32
Tablo 7. AFLP primer Kombinasyonları Başına Düşen Polimorfik Band Sayısı	33
Tablo 8. Patlıcan Türlerinde Uygulanan smSSR Markörleri İle Elde Edilen Allel Sayıları	40
Tablo 9. AFLP Markörleri İle Elde Edilen Bağlantı Grupları, Markör Sayısı ve Bağlantı Grubu Uzunluğu	48
Tablo 10. Patlıcan Anaçlarında Polimorfizm İçin Test Edilen Domates SSR Markörleri	51
Tablo 11. Patlıcan Anaçlarında Polimorfizm İçin Test Edilen Patlıcan EM-SSR Markörleri	52
Tablo 12. Patlıcan Anaçlarında Test Edilen SSR Makörlerinin Polimorfizm Durumu	54
Tablo 13. Çalışmada Kullanılan COSII Markörleri Listesi	56
Tablo 14. Patlıcan'da Haritalanan RFLP ve COSII Markörleri ve İlgili Bağlantı Grupları	60
Tablo 15. <i>Solanum incanum</i> BC2F1 Populasyonuna Ait Bitkilerin DNA Nanodrop Sonuçları	68
Tablo 16. BC2F1 Patlıcan Anaçlarında Test Edilen COSII Makörlerinin Polimorfizm Durumu	75
Tablo 17. Patlıcan Çeşitlerinin Antioksidant Aktiviteleri ve Fenolik Madde İçerikleri	84
Tablo 18. Tiplerine Göre Patlıcan Çeşitlerinin Antioksidant Aktiviteleri ve Fenolik Madde Miktarı Ortalama Değerleri	85
Tablo 19. Saflaştırılan Solamargine ve Solasonine lerin Karşılaştırılması	86
Tablo 20. H-1 NMR Spektrum Değerleri	87

ŞEKİL LİSTELERİ

Şekil 1. smSSR markörlerinin agarose jel resimleri	20
Şekil 2. DNA Analiz Cihazında Çalışılan bir smSSR Örnek Çalışması	24
Şekil 3. DNA Analiz Cihazında Çalışılan bir AFLP Örnek Çalışması	26
Şekil 4. DNA Analiz Cihazında Çalışılan bir AFLP Örnek Çalışmasının Detaylı Görüntüsü	27
Şekil 5. 30 Morfolojik Parametre Kullanılarak Yapılan PCA Görüntüsü	31
Şekil 6. 10 AFLP Primer Kombinasyonu Kullanılarak Yapılan UPGMA Dendogramı	35
Şekil 7. Türk Patlıcan Genotiplerinin AFLP Analizleri İle Elde Edilen İki Boyutlu Görüntüsü	36
Şekil 8. Türk Patlıcan Genotiplerinin AFLP Analizleri İle Elde Edilen Üç Boyutlu Görüntüsü	37
Şekil 9. smSSR Primerleri Kullanılarak Elde Edilen UPGMA Dendogramı	42
Şekil 10. Yabani Patlıcan Türlerinin smSSR Analizleri İle Elde Edilen İki Boyutlu Görüntüsü	43
Şekil 11. Yabani Patlıcan Türlerinin smSSR Analizleri İle Elde Edilen Üç Boyutlu Görüntüsü	44
Şekil 12. Patlıcan Bağlantı Haritasını Oluşturan Genotiplerin Grafıksel Gösterimi	49
Şekil 13. RFLP ve AFLP Markörleri Kullanılarak Yapılan Patlıcan Moleküler Genetik Bağlantı Haritası	50
Şekil 14. Bazı EM-SSR Markörleri Kullanılarak Yapılan Polimorfizm Çalışması Agaroz Jel Görüntüsü	53
Şekil 15. F2 Haritalama Populasyonunda Test Edilen EM-SSR133 markörlerini Açılımını Gösteren Agaroz Jel Görüntüsü	54
Şekil 16. RFLP ve COSII Markörleri Kullanılarak Yapılan Patlıcan Moleküler Genetik Bağlantı Haritası	61
Şekil 17. <i>Solanum aethiopicum</i> x <i>Solanum melongena</i> MM738 Oluşturulan BC1F1 Meyve Görüntüsü	65
Şekil 18. <i>Solanum macrocarpon</i> x <i>Solanum melongena</i> Dusky Oluşturulan F1 Meyve Görüntüsü	66
Şekil 19. <i>Solanum incanum</i> x <i>Solanum melongena</i> Dusky Oluşturulan F1 Meyve Görüntüsü	67
Şekil 20. Tiplerine Göre Patlıcan Çeşitlerinin Antioksidant Aktivitelerinin Dağılım Grafiği	85
Şekil 21. Tiplerine Göre Patlıcan Çeşitlerinin Fenolik Madde İçeriklerinin Dağılım Grafiği	86
Şekil 22. Solamargine ve Solasonine Standartları İle Saflaştırılan Örneklerin Rf Değerleri	88
Şekil 23. Solamargine ve Solasonine Fraksiyonları	88
Şekil 24. Solamargine 1H NMR Spektrumları	89
Şekil 25. Solasonin 1H NMR Spektrumları	90
Şekil 26. Solamargine ve Solasoninlerin Kimyasal yapıları	91

ÖZET

Kıyaslamalı genom analizleri aynı ailenin değişik türleri arasındaki gen ve genomların yapısını ve fonksiyonlarındaki benzerlikleri ve farklılıkları incelemektedir. Esas olarak kıyaslamalı genomiks (1) her türdeki her bir genin rolünü, (2) bir türü diğer bir türden (örneğin fenotipik, büyüme şekli ve çevreye adaptasyon gibi) ayırmadaki önemli değişikliklerin ne olduğunu ve (3) bu değişikliklerin nasıl oluştuğunu (evrimsel işlemleri) araştırmaktadır. Son yirmi yıllık süre içinde değişik bitki taxa'larında yapılan kıyaslamalı genom analizleri sonucunda, 130-240 milyon yıl süren angiosperm evrimi sonrası ortaya çıkan morfolojik, gelişim ve biyokimyasal seviyelerdeki son derece dramatik değişikliklere rağmen, çok değişik bitki türlerinin gen içerikleri ve kromozom boyunca gen sıralarının korunduğu ortaya konmuştur. Dolayısıyla, heterologous DNA markörlerinin ve hatta sekans bilgilerinin akraba türler arasında kullanımı mümkündür. Türler arasındaki genom bilgilerinin birbirine çevirebilme yeteneği minor öneme sahip çok sayıda diğer bitki türlerinde de genom analizlerini hızlandırmıştır.

Solanaceae ailesi aralarında domates, patates, biber, patlıcan ve tütün gibi ekonomik öneme sahip bir çok bitki türünü içermektedir. Makro ve mikro seviyelerde genom'larının korunmuş olması, Solanaceae ailesini doğal ve tarımsal çevrelere adaptasyon ve genetik varyasyonun temellerini ortaya çıkaracak genetik ve moleküler çalışmalar için iyi bir model sistem yapmıştır. Domates bitkisi, Solanaceae ailesi içerisinde major ürünler arasında en küçük diploid genoma (950 Mb) sahip olması, nisbi olarak generasyon zamanının oldukça kısa olması, rutin gen transformasyon sistemine sahip olması, çok çeşitli genetik ve genomik araçların varlığı gibi nedenlerle Solanaceae ailesi içerisinde model olarak belirlenmiştir. Bunun bir sonucu olarak, aile içerisinde geliştirilen bütün kıyaslamalı moleküler genetik haritalar domates için geliştirilen moleküler genetik bağlantı haritası referans alınarak oluşturulmuştur.

Uluslararası Solanaceae Genome Projesi (the SOL) the SOL projesi, esas olarak domates genomunu tamamen sekanlamayı ve diğer Solanaceous türler ile kıyaslamalı genom analizleri yapmayı amaçlamaktadır. The SOL projesinin bu misyonuna uygun olarak, bu projede, patlıcan için genomik araçların geliştirilmesi önerilmiştir. Bu proje önerisi araştırmacılara sadece patlıcan ıslahı için değil ama aynı zamanda Solanaceae ailesinde evrim ve adaptasyon ile ilgili çok geniş boyutlu sorulara yanıt olabilecek bilgilere ve kaynaklara sahip olabilecekleri imkanları sağlamıştır. Önerilen projenin spesifik amaçları şunlardır: (1) patlıcan ve yabani akrabaları arasında genetik varyasyon seviyesinin belirlenmesi, (2) patlıcan, domates, biber ve patates arasında detaylı genom kıyaslamalarına izin verecek bir yüksek çözünürlükte kıyaslamalı genom haritasının geliştirilmesi, (3) patlıcan olarak bilinen *Solanum melongena* ve daha az tanınan diğer kültür patlıcan türleri *S. macrocarpon* ve *S. aethiopicum* arasında genom kıyaslamaları yapılması, (4) ileri gerimelez kantitatif karakter lokus (QTL - Advanced Backcross Quantitative Trait Loci) populasyonlarının ıslah ve gen haritalamasını gerçekleştirmek için oluşturulması, (5) patlıcan bitkisinde biyotik ve abiyotik streslere dayanıklılığı kontrol eden genlerin belirlenmesi için bu populasyonların kullanılması, ve (6) son olarak, patlıcan bitkisinde ve yabani türlerinde ikincil metabolit üretiminin kimyasal ve moleküler olarak karakterize edilmesi. Hep birlikte, bu bireysel amaçlar patlıcan ve Solanaceae'de mevcut ve gelecek araştırmalara güçlü bir temel oluşturacaktır.

ANAHTAR KELİMELER: Patlıcan, Kıyaslamalı Genomik, AFLP, COSII, Moleküler Haritalama, Genetik Çeşitlilik

ABSTRACT

Comparative genomics examines the structural and functional similarities and differences of genes and genomes across species. Comparative genomics studies the role of each gene in each species, the changes (for example, phenotypic, growth habit and adaptation) that differentiate one species from another and the evolutionary processes that accompanied these changes. During the last 20 years, comparative genome mapping has shown that there is a high degree of conservation in gene content and gene order among related species, despite dramatic differences at the morphological, developmental and biochemical levels. Thus, it is possible to use DNA markers and even sequence information across related species. This ability to translate genome information among species has accelerated genome analysis in many minor crops.

Solanaceae includes several economically important crop species including tomato, potato, eggplant, pepper and tobacco. High levels of genome conservation at the macro and micro levels have made this family a model for the identification of the genetic and molecular bases that underlie diversity and adaptation to both natural and agricultural environments. Because it has the smallest genome of the major crops in the Solanaceae, a relatively short generation time, a routine transformation system and numerous genetic and genomic resources, tomato is the model system in the Solanaceae. As a result, all comparative genetic maps in the family have been constructed using tomato as the reference genome. The International Solanaceae Project (SOL) is a recently established consortium of researchers who will be sequencing the entire tomato genome. In addition to this work in tomato, the SOL project also has the goal of strengthening the comparative connection among tomato and other solanaceous species so that scientists who work on these other crops may use the tomato sequence to further their own research. In accordance with the mission of SOL, we proposed to develop eggplant genomics so that researchers have the knowledge and resources to not only improve eggplant but also to address broad questions about evolution and adaptation in the Solanaceae. The specific goals of the proposed project were as follows. We examined the level of genetic diversity in eggplant and its wild relatives. We developed a high resolution comparative map of eggplant that allowed detailed comparisons among eggplant, tomato, pepper and potato. We compared genome organization between the commonly known cultivated eggplant, *Solanum melongena*, and the lesser-known eggplant domesticates, *S. macrocarpon*, *S. aethiopicum* and *S. incanum*. We developed advanced backcross quantitative trait locus populations of these species to facilitate breeding and gene identification. We also used these populations to identify and breed for biotic and abiotic stress tolerances in the crop. Finally, we chemically and molecularly characterized secondary metabolite production in eggplant and its wild relatives. Together these individual goals provided a strong foundation for future research in eggplant and the Solanaceae.

KEYWORDS: Eggplant, Comparative Genomics, Molecular Markers, AFLP, COSII, Molecular Mapping, Genetic Diversity

1. Giriş

Kıyaslamalı genomik aynı ailenin değişik türleri arasında gen yapısı ve fonksiyonundaki benzerlikleri ve farklılıkları araştıran bir çalışma konusudur (PATERSON ve ark. 2000). Esas olarak kıyaslamalı genomik (1) her bir türdeki her bir genin rolünü bulmayı, (2) bir türü diğer bir türden (fenotipik, büyüme şekli ve çevreye adaptasyon gibi) ayırmadaki önemli değişikliklerin ne olduğunu ve (3) bu değişikliklerin nasıl (evrimsel işlemler) oluştuğunu araştırır (BENNETZEN ve FREELING 1997, BENNETZEN 2004). Son yirmi yıllık süreç içerisinde değişik bitki taxa'larında yapılan kıyaslamalı genom analizleri sonucunda, 130-240 milyon yıl süren angiosperm evrimi sonrası ortaya çıkan gelişim, biyokimyasal ve morfolojik değişikliklere rağmen, çok değişik bitki türlerinin gen içerikleri ve kromozom boyunca gen sıralarının korunduğunu ortaya koymuştur (PATERSON ve ark. 2000). Günümüzde, kıyaslamalı genetik haritalar model türleri kullanarak değişik deneysel türlerin evrimleri ve genom organizasyonları hakkında detaylı ipuçları elde etmemizi sağlamıştır. Heterologous DNA işaretleyicilerinin yaygın olarak kullanımı çok sayıda bitki türünde genom analizlerini hızlandırmıştır.

Genel olarak patlıcan ismi kültüre alınmış (domestication) üç *Solanum* türü için kullanılmaktadır. Bu üç tür sırasıyla Asya'da kültüre alınan brinjal patlıcanı *Solanum melongena* ve Afrika'da kültüre alınan scarlet patlıcanı *Solanum aethiopicum* ve gboma patlıcanı *Solanum macrocarpon*'dur. Ancak, dünya'da patlıcan olarak genelde *Solanum melongena* daha yaygın olarak bilinmektedir (DAUNAY ve ark. 1999). *Solanum melongena* özellikle asya ülkeleri ve akdeniz bölgesi ülkeleri başta olmak üzere bütün dünya'da yetiştirilmekte ve günlük diyetimizin önemli bir kısmını teşkil etmektedir. Patlıcan besin değeri bakımından diğer genel olarak tüketilen sebzelere benzer özellikler göstermesine rağmen antioksidant içeriği ve kolesterol azaltma özelliği gibi çok sayıda hastalık tedavi edici özellikleri rapor edilmiştir (DAUNAY ve ark. 2001).

Patlıcan, domates, patates ve biber gibi autogam diploid olup kendine döllen bir bitkidir. 12 kromozoma sahiptir ve nükleer genomu 1100 Mb DNA (2.4 pg/2C) içermektedir ve domates bitkisinden (950 Mb) çok az miktarda fazlalık arz etmektedir (ARUMUGANATHAN ve EARLE 1991). Solanaceae ailesinin major öneme sahip üyeleri domates, biber ve patlıcan çok sayıda bilimsel çalışmalara konu olmalarına ve genetik ve moleküler olarak çok ileri düzeylerde karakterize edilmelerine rağmen, patlıcan ailenin ihmal edilmiş bitkisi olarak kalmıştır. Örneğin, moleküler genetik haritalar domates, biber ve patates bitkileri için 1990 yıllarda oluşturulmuştur. Bu türlerde çok sayıda kantitatif ve kalitatif karakterleri kontrol eden genler belirlenmiş ve hatta bu genlerden bir çoğu günümüzde klonlanmıştır. Yapılan bu kıyaslamalı genom haritalama çalışmaları genom evrimi ve her bir türün genom organizasyonu hakkında çok değerli bilgiler vermiştir. Domates ve patates genomları arasında yapılan genom kıyaslama çalışmaları sonucunda bu iki genomun, centromerde yada centromere yakın bir noktadaki kırılmalar sonucu oluşan, 5 paracentric inversiyon ile ayrıldıkları belirlenmiştir (BONIERBALE ve ark. 1988; TANKSLEY ve ark. 1992). Domates ve biber genomlarıyla yapılan genom kıyaslama çalışmaları sonucunda ise bu iki genomun son ortak atalarından 30'dan fazla kromozom kırılmaları ve çok yoğun bir şekilde oluşan kromozom yeniden düzenlemeleriyle ayrıldığı belirlenmiştir (PRINCE ve ark. 1993; LIVINGSTONE ve ark. 1999). Beklenildiği gibi, çok yakın akraba olan domates ve patates genomlarında uzak akraba olan biber genomuna göre daha az kromozom yeniden düzenlenmeleri oluşmuştur. Buna karşılık, patlıcan genomu için oluşturulan ilk moleküler genetik harita

sadece son zamanlarda yayınlanmıştır (DOGANLAR ve ark. 2002). Bu harita, patlıcan ve yabani akrabalarının son atalarından evrimleri sırasında oluşan kromozomla ilgili olayların incelenmesine imkan sağlamıştır. Patlıcan genomuyla yapılan bu çalışmalarda, domates ve patlıcan genomlarının toplam 28 kromozom kırılmalarıyla (değişiklik) ayrıldığı belirlenmiştir. Bu kırılmaların 23 tanesi paracentric inversiyon ve 5 tanesinde translokasyon şeklinde oluşan değişikliklerdir (DOGANLAR ve ark. 2002). Patlıcan ve patates genomları ise 19 paracentric inversiyon ve 5 translokasyon şeklinde ortaya çıkan toplam 24 kromozom kırılmasıyla en son ortak atalarından ayrılmışlardır (DOGANLAR ve ark. 2002). Patlıcan genomu için oluşturulan genom haritası aile içerisinde kıyaslamalı genom analizleri yapılmasına izin verdiği gibi ilk defa patlıcanda agronomik olarak önemli karakterleri kontrol eden genlerin (QTL) haritalanmasına olanak sağlamıştır (DOGANLAR ve ark. 2002; FRARY ve ark. 2003). Ancak, yinede diğer aile üyeleriyle yapılan çalışmalarla kıyaslandığında, patlıcan bitkisinde daha çok sayıda genetik ve moleküler düzeyde araştırma yapılması gerekmektedir. Patlıcan ıslah ve genetiğine katkılarına ilaveten, ayrıca, bu tür araştırmalar Solanaceae ailesini kıyaslamalı genom analizleri için en uygun bir sistem / model olarak gelişmesine yardımcı olacaktır. Mevcut bitki aileleri içerisinde, Solanaceae ailesi, dört major ürünün (domates, biber, patates ve patlıcan) bütün genom kapsayan moleküler genetik linkage haritalarına sahip olmaları bu aileyi kıyaslamalı genom analizleri (comparative genom analysis) için en uygun ve gelişmiş sistem yapmaktadır. Solanaceae ailesine bağlı türlerin çoğu Amerika'ya endemik olup buralarda kültüre alınmış olmasına rağmen, aralarında üç kültür patlıcanı ve çoğu yabani türleri eski dünya'ya özgün olup Asya ve Afrika'da kültüre alınmışlardır. Bu ilginç durum aile içerisindeki genom kıyaslama çalışmalarına değişik bir boyut kazandırmıştır. Önerilen projede çok yönlü multidisipliner bir yaklaşım alınarak Solanaceae'de kıyaslamalı genom analizleri daha detaylı bilgiler elde edilmesi amaçlanmıştır.

2. Genel Bilgiler

Solanum melongena dünya çapında 1.96 milyon ha alanda yetiştiriciliği yapılan ve yılda 32.7 MT üretilen en önemli sebzelerden birisi durumundadır. Türkiye'de ise toplam 31.000 ha alanda ekimi yapılmaktadır. Patlıcan üretim miktarı bakımından Türkiye toplam 814.000 ton üretim miktarıyla Çin (18.3 MT), Hindistan ((.5 MT) ve Mısır (1.3 MT)'dan sonra dördüncü sırada yer almaktadır (FAO 2008).

Solanaceae çok geniş bir bitki ailesi olup birçok kültüre alınmış ürün içermektedir. Bu ürünler arasında domates, biber, patates, petuniya, tütün ve patlıcan gibi türler yer almaktadır. Brinjal patlıcanı, *Solanum melongena*, Solanaceae aile içerisindeki en kalabalık cins olan *Solanum* cinsinin bir üyesidir (KNAPP ve ark. 2004). *Solanum melongena* 'patlıcan' olarak isimlendirilen üç kültür türünden biridir. Diğer iki patlıcan türü ise kırmızı, scarlet patlıcanı *Solanum aethiopicum* ve gboma patlıcanı *Solanum macrocarpon*'dur. Ancak, bu türler arasından *Solanum melongena* ekonomik ve genetik önem bakımından en önemli türdür. Brinjal patlıcanı birincil dereceden çeşitlilik merkezi olan Hindistan, Çin ve Akdeniz Bölgesinde en yaygın olarak yetiştirilmektedir. Türkiye patlıcanının kültüre alınmasında ikinci dereceden çeşitlilik merkezi olarak kabul edilmektedir (DAUNAY ve ark. 2001, KASHYAP ve ark. 2003). Patlıcan Asya'dan Akdeniz bölgesine kadar çok geniş bir coğrafyaya adapte olmuş bir üründür (CHOUDHURY 1995, LAWANDE ve CHAVAN 1998, COLLONIER ve ark. 2001, NOTHMANN 1986, DAUNAY ve ark. 2001, KASHYAP ve ark. 2003). Türkiye, Suriye ve İran'ın da içerisinde alan Akdeniz bölgesi bu

ürün için ikincil dereceden kültüre alma merkezidir (NOTHMANN 1986, DAUNAY ve ark. 2001, KASHYAP ve ark. 2003). Daha sonraki yüzyıllarda ise bütün Akdeniz bölgesine yayılmış ve İtalya, İspanya, Fransa ve Yunanistan da geniş yetiştirme alanları bulmuştur (LAWANDE ve CHAVAN 1998, DAUNAY ve ark. 2001, FRARY ve ark. 2007).

Son birkaç yılda, patlıcanın deneysel bir sistem olarak ıslah, genetik ve moleküler çalışmalarda popüleritesi artmıştır. Patlıcan için birkaç moleküler genetik bağlantı haritası yayınlanmış (DOGANLAR ve ark. 2002, NUNOME ve ark. 2003, SUNSERI ve ark. 2003, WU ve ark. 2009) ve kantitatif karakter lokusları (QTL) evcilleştirme, morfolojik ve hastalıklara direnç karakterleri için belirlenmiştir (NUNOME ve ark. 2001, DOGANLAR ve ark. 2002b, FRARY ve ark. 2003, SUNSERI ve ark. 2003, TOPPINO ve ark. 2008, MUTLU ve ark. 2008). Ayrıca sınırlı sayıda basit sekans tekrarları (SSR) işaretleyici sistemleri geliştirilmiş ve haritalama ve genetik çeşitlilik çalışmalarında uygulanmıştır (NUNOME ve ark. 2003, STAGEL ve ark. 2008, TÜMBİLEN ve ark. yazımda). Agronomik ve evcilleştirmede rol oynayan kompleks karakterlerin çoğu fenotipik açılımları devamlı varyasyon (continuous variation) gösteren ve bir den çok sayıda gen tarafından kontrol edilen karakterlerdir. Bu tip karakterleri kontrol eden genler kantitatif karakter lokusları (Quantitative Trait Loci = QTL) olarak tanımlanmaktadır. Kantitatif kalıtım gösteren karakterler için populasyonlarda mevcut olan fenotipik varyasyonlar çok sayıdaki kantitatif karakter lokuslarından (QTL), bu lokusların birbirleriyle olan ilişkilerinden, çevresel faktörlerden ve QTL x çevre ilişkilerinden etkilenmektedir (TANKSLEY ve MCCOUCH 1997). Devamlı varyasyon gösteren kantitatif karakterlerin genetik analizleri, farklı fenotipik (discrete variation) açılım gösteren ve tek genle kontrol edilen kalitatif karakterlerin genetik analizlerinden çok daha zor olmasına rağmen, son zamanlarda geliştirilen ve çok yaygın kullanım alanı bulan moleküler teknikler ve istatistiki metodlar kantitatif kalıtım gösteren karakterlerinde genetik analizlerine imkan sağlamıştır (TANKSLEY 1993). Çoğu durumda, kantitatif karakter lokuslarının belirlenmesi ve müteakiben önemli bulunan lokusların bitki ıslahı için kullanımları ayrı birer işlem olarak düşünülmüştür. AB-QTL (Advanced Backcross Quantitative Trait Loci ; İlerletilmiş Gerimelez Kantitatif Karakter Lokusları) stratejisi kantitatif kalıtım gösteren karakterlerin ıslahında kullanılabilecek faydalı allellerin yabancı türlerden moleküler markörler kullanılarak belirlenmesi ve eş zamanlı olarak kültür türlerine aktarılmalrı esasına dayanmaktadır (TANKSLEY ve NELSON 1996). Stratejide başlangıç noktası elit bir hat ile ekzotik yada yabancı bir tür arasında yapılan melezlemeler ve bu melezlemelerden türetilen ve açılım gösteren populasyonlardır. QTL analizleri en az iki generasyon gerimelez yapıldıktan sonra yapılır. İki generasyon geri melez oluşturmanın esas sebebi populasyonlarda elit hattın genomunu geri kazanmaktır (*genome recovery*). Gerekirse ilk geri melez generasyonunda (BC_1F_1) arzu edilmeyen fenotiplere sahip olan bitkiler populasyondan uzaklaştırılır ve melezlemelerde sadece elit hatta mümkün olduğunca benzeyen BC_1F_1 bitkileri kullanılır. Genom haritalama çalışmaları BC_2F_1 generasyonunda başlatılır. Populasyonların fenotipik olarak karakterizasyonu için BC_2F_2 ailesine ait populasyonlar kullanılır. Böylece, BC_2F_1 generasyonundan elde edilen genotipik veriler BC_2F_2 generasyonundan elde edilen fenotipik verilerle ilişkilendirilerek arzu edilen karakterleri kontrol eden QTL bölgeleri ve bu bölgeleri taşıyan bitkiler seçilebilir. Bu strateji özellikle kendine döllen domates (TANKSLEY ve ark. 1996, GRANDILLO ve TANKSLEY 1996, BERNACCHI ve ark. 1998, FULTON ve ark.1997, FULTON ve ark. 2000, FRARY ve ark. 2004), çeltik (XIAO ve ark. 1998, MONCADA ve ark. 2001), mısır (HO ve ark. 2002), pamuk (YU ve ark. 1998, YUAN ve ark.), arpa (PILLEN ve ark. 2004), buğday (HUANG

ve ark. 2003, 2004) gibi çok sayıda bitki türünde başarı ile uygulanmıştır. Önerilen bu proje kapsamında patlıcan (*Solanum melongena*) için AB-QTL analizlerinin yapılması için gerekli populasyonlar oluşturulmaya çalışılmıştır.

Patlıcan ve Solanaceae ailesi üyeleri ile ilgili son zamanlarda yapılan çalışmaların çoğu cins, tür ve hatta çeşit seviyelerinde gözlenen çok geniş boyutlu morfolojik varyasyondan dolayı ortaya çıkan karmaşayı aydınlatmak üzerine yoğunlaşmıştır. Bu tip çalışmalarda kullanılmak üzere değişik moleküler teknolojiler kullanılmıştır. Bu teknolojiler arasında isozymes (ISSHIKI ve ark. 1994, KARIHALOO ve GOTTLIEB 1995, KAUR ve ark. 2004), cpDNA problemlerini kullanarak yapılan analizler (SAKATA ve ark. 1991, SAKATA ve LESTER 1994), RFLP analizleri (ISSHIKI ve ark. 1998, ISSHIKI ve ark. 2003, DOGANLAR ve ark. 2003), RAPD markörleri (KARIHALOO ve ark. 1995, NUNOME ve ark. 2001, KASHYAP ve ark. 2003) yer almıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise SSR (NUNOME ve ark. 2003, BEHERA ve ark. 2006, STAGEL ve ark. 2008, MUNOZ-FALCON ve ark. 2009, NUNOME ve ark. 2009; TÜMBİLEN ve ark. 2010) ve AFLP markörleri (MACE ve ark. 1999, FURINI ve WUNDER 2004, NUNOME ve ark. 2001, KASHYAP ve ark. 2003, PROHENS ve ark. 2005, MUNOZ-FALCON ve ark. 2009) geliştirilmiş ve patlıcan genom çalışmalarında kullanılmaya başlamıştır. Proje kapsamında Türk ve yabancı menşeyli bazı patlıcan çeşitlerinin yanısıra yabancı patlıcan türleri arasındaki genetik varyasyon düzeyinin belirlenmesi için AFLP ve SSR markörleri kullanılmıştır. Ayrıca, patlıcan için oluşturulan yüksek çözünürlükteki moleküler genetik bağlantı haritasının oluşturulmasında da AFLP, SSR ve COSII markörleri uygulanmıştır.

Son yıllarda *Solanum* cinsindeki bitki türleri (örneğin patates, patlıcan, domates) tarafından üretilen steroidal glikoalkaloidler (SGAs) ve bunların aljikonları (SGAAs) sadece toksisiteleri nedeniyle değil (MENSINGA ve ark. 2005, AL-CHAMI ve ark. 2003, BLANKEMEYER ve ark. 1998) ayrıca antikanser ilaçlar olarak kullanılabilme potansiyelleri (CHANG ve ark. 1998, KUO ve ark. 2000, LIU ve ark. 2004, LIANG ve ark. 2004) ve yararlı farmosetik bileşiklerin sentezinde öncü olarak kullanılabilme özellikleri nedeniyle de özel ilgi toplamışlardır. Bu bileşiklerin ekstraksiyonu ve tıbbi amaçlar için kullanılması bazı patentlerde ve patent başvurularında gösterilmiştir (ATTARD ve ark. 2004, CARTER ve ark. 2006, CHAM ve ark. 1999, KUO ve ark. 1999, LAWSON 2004, MOEHS ve ark. 1999, STANKER ve ark. 1999). Çoğu patlıcan ve yabancı akrabaları yaprak ve meyvelerinde çeşitli alkaloid ve glycoalkaloid'ler içermektedir. Patlıcan yoğun bir şekilde yetiştirildikleri Asya ve Afrika ülkelerinde bir çok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Patlıcan'ın bu tedavi edici özelliği yaprak ve meyvelerinde oluşturdukları alkaloid ve glycoalkaloid'lerden dolayıdır. Bunun yanısıra belirli glycoalkaloid'lerin eczacılık endüstrisinde adjuvant ve chemosensitizers etkide oldukları son zamanlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Alkaloid ve glycoalkaloid'ler özellikle zararlı saldırılarına karşı bitkileri koruma gibi faydalı etkileri olmalarına rağmen, bitkinin tüketilen kısımlarında acılık tadı ve hatta potensiyel zehir etkiside yapabilmektedir. Bu durum, çeşitlerin performansını arttırmada yabancı türler kullanılmışsa daha da önem kazanmaktadır. Çoğu yabancı *Solanum* türlerinin meyvelerinin son derece acı ve keskin olması meyvelerindeki yüksek düzeylerde bulunan alkaloid içeriğinden dolayıdır. Bu türlerin genetik potansiyellerinin ıslah programlarında başarılı bir şekilde ortaya konması ve kullanılabilmesi için, alkaloid ve glycoalkaloid içeriklerinin biyokimyasal olarak ve genetik esaslarının daha iyi anlaşılması gereklidir. Bu projede, bazı kültür (*Solanum melongena*) ve yabancı patlıcan türlerinin (*Solanum*

linnaeanum) toplam alkaloid ve glycoalkaloid içerikleri bakımından karakterize edilmesi ve ayrıca MS ve NMR teknikleri kullanarak türlerdeki değişik bileşiklerin (compound) profillerinin çıkarılması önerilmiştir.

Son zamanlarda, diyet ve insan sağlığı arasında bir bağlantı olduğuna dair ikna edici kanıtlar mevcut bulunmaktadır. Konu ile ilgili çok sayıda rapor sebze ve meyvelerin bilinen temel besin değerlerine ilaveten insan sağlığı üzerine faydalı etkisi olan vitaminler, mineraller ve antioksidan bileşikler gibi biyolojik olarak önemli maddeler içerdiklerini göstermiştir (JONES 2002, RODRIGUEZ ve ark. 2006). Bitkiden türetilmiş antioksidanlar ve oksidatif stresin sebep olduğu hasatlık riskini azaltma potansiyeli özel ilgi çekmektedir. Oksidatif stresin reaktif oksijen türlerinin (ROS) fazla miktarda oluşması sonucu ortaya çıkmaktadır ve insanlarda kanser, yaşlanma, atherosclerosis, cardiovascular hastalıkları gibi birçok disorder lara sebep olabilmektedir (NORDBERG ve ARNER 2001, VALKO ve ark. 2007, VICHNEVETSKAIA ve ROY 1999). Aerobik hayat için gerekli olan oksijen normal hücrel metabolizma sırasında UV, radyasyon, sigara içilmesi ve hava kirliliği gibi çevresel etkilerin de bir sonucu olarak ROS'a dönüştürülmektedir. ROS, özellikle hidroksil radikali (HO[•]), yüksek seviyede kimyasal reaktiviteye sahiptir ve DNA, protein ve yağlar gibi biyolojik olarak önemli moleküllerin normal fonksiyonlarına hemen saldırabilir, oksidize eder ve durdurabilmektedir (NORDBERG ve ARNER 2001, SOMOGYI ve ark. 2007) ve sonuç olarak organizmalarda yıkıcı işlemlere sebep olacaktır (VICHNEVETSKAIA ve ROY 1999, HALLIWELL 2006, SORG 2004). Antioksidanlar O₂ zehirlenmesinde ROS'ni tutarak veya uzaklaştırarak veya zincir reaksiyonları okside edip kırarak organizmaları korumaktadır (VICHNEVETSKAIA ve ROY 1999, PODSEDEK 2007).

Çoğu antioksidanlar insan vücudu ile sentezlenemediği için oksidatif stres karşısında antioksidan savunma sisteminin etkili korumasında insan diyeti önemli bir role sahip bulunmaktadır. Bu nedenle, bu dış kaynaklı antioksidanlar diyet yoluyla alınmalıdır. Bitkilerde diyetle ilgili bir çok antioksidanlar mevcut bulunmaktadır. Bu antioksidanlar arasında C vitamini ve fenolik bileşikler gibi suda çözünebilir antioksidanlar ve karotenoidler ve E vitamini gibi yağda çözünebilir antioksidanlar yer almaktadır (PODSEDEK 2007). Antioksidanlar hidrofilik ve hidrofobik özelliklerinden dolayı hücrenin farklı kısımlarında lokalize olmuştur (SOMOGYI ve ark. 2007). Bazı antioksidanlar sinerjik etkiye sahip bulunmaktadır öyle ki antioksidanlardan birisi serbest radikal azaltırken diğeri serbest radikal tarafından okside edilen antioksidanları yeniden oluştur. Örneğin C ve E vitaminleri bu şekilde sinerjik etkiye sahip olan antioksidanlardır (PODSEDEK 2007, WOLF ve ark. 1998). Bu nedenle, herbir antioksidanın aktivitesi ve içeriğini ayrı ayrı göz önüne almak yerine, meyve ve sebzelerin toplam antioksidan aktivitesini ve insan beslenmesi için faydalarını dikkate almak daha mantıklı olacaktır.

Fenolik bileşikler bitkiler tarafından üretilen en büyük ikincil metabolit grubudur (PODSEDEK 2007) ve meyve ve sebzelerde genel olarak bulunmaktadır. Bitkilerde yüksek seviyelerde bulunması nedeniyle, fenolikler toplam suda eriyen antioksidan aktivitesine önemli bir katkı yapmaktadır. Flavonoidler, yağ öncülleri ve fenolik asitler en önemli fenolik bileşiklerdir (SAKIHAMA ve ark. 2002). Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri hidroksil gruplarının sayısı ve pozisyonuna bağlıdır. Yapılarından dolayı, fenoliklerin hidroksil grupları kolayca H⁺ lerini ROS etkisini azaltmak için ROS'lerine aktarırlar (PODSEDEK 2007). Yürütülen bu projede bazı patlıcan genotipleri antioksidan aktiviteleri ve fenolik madde içerikleri bakımından karakterize edilmiştir.

3. Gereç ve Yöntem

3.1. Çalışmada Kullanılan Bitkisel Materyaller

Proje kapsamında yürütülen Türk patlıcan çeşitleri ve yabancı akrabaları arasındaki genetik varyasyon düzeyinin belirlenmesi çalışması iki alt konu halinde çalışılmıştır. Birinci alt çalışmada toplam 80 adet Türk patlıcan tohum örneği kullanılmıştır. Tohum örneklerine ait tohumlar Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından sağlanmıştır. Çalışmada iki adet yabancı orijinli çeşit kullanılmıştır. Ayrıca, tür dışı kontrol amaçlı üç adet yabancı patlıcan türünde çalışmaya eklenmiştir. Bu türlere ait tohumlar Dr. Marie-Christine Daunay tarafından sağlanmıştır. Çalışmada kullanılan Türk ve diğer patlıcan çeşitleri ve yabancı türler ve meyve tipleri Tablo 1’de verilmiştir. Projenin ikinci alt kısmında patlıcan ve yabancı türlerini içeren 47 değişik tohum örneği ile temsil edilmiş olup germplazmlara ait tohumlar INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), Montfavet, Fransa’dan temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan 47 tohum örneği 18 farklı türden meydana gelmiştir. 18 tür içerisinde yer alan *S. melongena*, *S. incanum* ve *S. aethiopicum* türleri farklı gruplar içerisinde yer aldığı LESTER (1998) ve LESTER ve HASAN (29) tarafından gösterilen birkaç farklı tohum örneği ile temsil edilmiştir. Bu materyallere ait tohumlar birinci kısımda olduğu gibi viyollerine ekilmiş ve 20 cm lik saksılara geçirilen bitkiler seraya aktarılmıştır ve dört yapraklı devreye gelen bitkilerden DNA çıkarılmasına başlanmıştır. Tablo 2 bu çalışmada kullanılacak patlıcan ve yabancı türlerini listelemektedir.

Antioksidan karakterlerin ölçülmesi için toplam 26 patlıcan genotipi kullanılmıştır. Patlıcan çeşitlerine ait tohumlar Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından sağlanmıştır. MM738 genotipine ait tohumlar Dr. Marie-Christine Daunay tarafından sağlanmıştır. Patlıcan çeşitleri tiplerine göre dört gruba ayrılmıştır (Tablo 3): Topan (uzundan daha geniş), Uzun (uzun), Beyli (genişten daha uzun) ve Domates (domates şeklinde). 25 Türk ve bir yabancı menşeyli çeşit 2006 yılında her çeşitten beş tekerrür olmak üzere tarla koşullarında yetiştirilmiştir. Meyveler ticari olgunluk devresinde hasat edilmiştir. Meyveler hasat sonrası yıkandıktan sonra analizler yapılmaya kadar -20 C depolanmıştır. Patlıcan çeşitleri toplam suda çözünebilir antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde içeriği bakımından çalışılmıştır. Bütün analizler hasattan sonra bir ay içerisinde tamamlanmıştır. Her iki analiz içinde, her örnekten enaz üç meyve küçük parçalara bölünmüştür ve çok iyi bir şekilde karıştırıldıktan sonra yaklaşık 100 g lık meyve örneği 200 ml +2°C soğuk distile su içerisinde homojenize edilmiştir. Patlıcan homojenatlar dört kat naylon cloth ile filtre edilmiştir. Antioksidan aktivite analizleri için, 20 g örnek kullanılmıştır. Fenoloik bileşiklerin analizi için, 2.5 g örnek 20 ml distile su ile seyreltilmiştir. Bu örnekler 3000 x g’de +2°C sıcaklıkta 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernetantlar toplanmıştır ve toplam suda çözünebilir antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik içerik için ölçümler yapılmaya kadar buz içerisinde tutulmuştur.

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan Türk ve diğer patlıcan çeşitleri ve yabancı türler

Genotip	Tohum Örneği Numarası	Meyve Tipi	Genotip	Tohum Örneği Numarası	Meyve Tipi	Genotip	Tohum Örneği Numarası	Meyve Tipi
1	TR 66688	Uzun	30	TR 61564	Yuvarlak	56	TR 66584	Uzun
3	TR 66572	Uzun	32	TR 61518	Uzun	57	TR 66587	Uzun
4	TR 43010	Yarı Uzun	33	TR 61493	Uzun	58	TR 66589	Uzun
5	TR 40300	Yarı Uzun	34	TR 61766	Uzun	59	TR 66597	Uzun
6	TR 37266	Yarı Uzun	35	TR 61856	Yarı Uzun	60	TR 66672	Uzun
7	TR 66013	Yuvarlak	36	TR 62049	Uzun	61	TR 66667	Uzun
8	TR 43306	Yarı Uzun	37	TR 62043	Yuvarlak	62	TR 66687	Yarı Uzun
10	TR 66012	Yarı Uzun	39	TR 62073	Yarı Uzun	63	TR 66695	Yarı Uzun
11	TR 66559	Yarı Uzun	40	TR 62072	Uzun	65	TR 66701	Yarı Uzun
12	TR 62668	Uzun	41	TR 62139	Yarı Uzun	66	TR 66709	Yarı Uzun
13	TR 68530	Uzun	42	TR 62101	Uzun	68	TR 66728	Yarı Uzun
14	TR 70633	Uzun	43	TR 62100	Uzun	69	TR 66730	Uzun
15	TR 50591	Uzun	44	TR 61956	Uzun	70	TR 43768	Yarı Uzun
17	TR 62004	Uzun	45	TR 66009	Yarı Uzun	72	TR 55976	Yarı Uzun
18	TR 52348	Yarı Uzun	46	TR 66014	Yarı Uzun	73	TR 56029	Uzun
19	TR 62430	Yarı Uzun	47	TR 66011	Yarı Uzun	74	TR 61540	Uzun
20	TR 62423	Yarı Uzun	48	TR 66018	Yarı Uzun	75	TR 61620	Uzun
21	TR 62491	Yarı Uzun	49	TR 66334	Yarı Uzun	76	TR 61892	Uzun
23	TR 62581	Yarı Uzun	50	TR 66331	Yarı Uzun	78	MM 0738	Yarı Uzun
24	TR 62667	Yarı Uzun	51	TR 55852	Uzun	79	Çamlıca	Uzun
25	TR 62736	Yuvarlak	52	TR 52522	Yuvarlak	80	Dusky	Yarı Uzun
26	TR 62776	Yarı Uzun	53	TR 43134	Uzun	81	MM 0195	<i>S. linnaeanum</i>
28	TR 61593	Uzun	54	TR 43919	Uzun	82	MM 0232	<i>S. aethiopicum</i>
29	TR 61563	Uzun	55	TR 66579	Yarı Uzun	83	MM 0150	<i>S. macrocarpon</i>

Tablo 2. Çalışmada kullanılan patlıcan ve yabani akrabaları.

Tür İsmi	Grup	Örnek Numarası	Genotip Numarası	Örnek Sayısı
<i>S. aculeastrum</i>		MM 1169	38	1
<i>S. aethiopicum</i>	Kumba	MM 0574	2	3
	Aculeatum	MM 0134	12	1
	Gilo	MM 0232	16	1
<i>S. anguivi</i>		MM 0982	32	2
		MM 1259	19	1
<i>S. burchellii</i>		MM 1235	39	1
<i>S. capsicoides</i>		MM 0376	7	1
<i>S. dasyphyllum</i>		MM 1137	37	1
<i>S. incanum</i>	A	MM 0210	15	17
	A	MM 0661	1	1
	A	MM 0700	24	1
	A	MM 0702	25	1
	A	MM 0707	26	1
	A	MM 0712	27	1
	B	MM 1244	40	1
	B	MM 1426	22	1
	C	MM 0577	5	1
	C/D	MM 0672	42	1
	C	MM 0677	46	1
	C	MM 0715	29	1
	D	RNL 0337	23	1
	D	MM 0674	43	1
	D	MM 0676	45	1
	D	MM 0713	28	1
	D	MM 1248	18	1
<i>S. lidii</i>		MM 1005	33	1
<i>S. linnaeanum</i>		MM 0195	14	1
<i>S. macrocarpon</i>		MM 0132	11	4
		MM 0150	13	1
		MM 1007	34	1
		MM 1129	36	1
<i>S. marginatum</i>		MM 0824	31	1
<i>S. melanospermum</i>		MM 1350	21	1
<i>S. melongena</i>	E (otsu)	MM 0498	6	8
	E (otsu)	MM 0669	41	1
	E (otsu)	MM 0675	44	1
	F (wild)	MM 0686	47	1
	G (ilkel cesit)	MM 1010	35	1
	H (ileri hat)	BIRM/S. 2458	9	1
	H (ileri hat)	LF3.24	10	1
	H (ileri hat)	MM 0738	30	1
<i>S. scabrum</i>		MM 0373	8	1

<i>S. sessilistellatum</i>		MM 1269	20	1
<i>S. sisymbriifolium</i>		MM 0284	17	1
<i>S. viarum</i>		MM 0374	4	1
<i>S. violaceum</i>		MM 0497	3	1

Tablo 3. Antioksidan karakter analizlerinde kullanılan patlıcan çeşitleri

Çeşit	Tohum Örneği Numarası	Patlıcan Tipi	Çeşit	Tohum Örneği Numarası	Patlıcan Tipi
Çamlıca	na*	Uzun	İzmir	TR50592	Uzun
Giresun	TR55678	Uzun	TR61892	TR61892	Uzun
Manisa Uzun	TR62668	Uzun	MM738	na*	Beyli
Kastamonu Uzun	TR37266	Uzun	Çanakkale Kır	TR43010	Beyli
TR66009	TR66009	Uzun	Gaziantep Mor	TR40300	Beyli
Zonguldak	TR68530	Uzun	Burdur Yerli	TR66688	Beyli
Kütahya	TR66559	Uzun	Eskişehir Tombul	TR66012	Beyli
Kemer-27	TR70633	Uzun	TR55976	TR55976	Beyli
Isparta	TR66667	Uzun	Topan-374	TR70635	Topan
Edirne Kırmızı	TR43306	Uzun	TR61986	TR61986	Topan
Bilecik Kemer	TR66017	Uzun	Trabzon	TR55995	Topan
Uşak	TR66572	Uzun	Bursa Topan	TR66013	Topan
İzmir	TR50591	Uzun	Rize	TR55811	Domates

*na = tohum örneği numarası bulunmamaktadır.

3.2. Morfolojik Karakterizasyon

Morfolojik karakterizasyon çalışmaları için yaklaşık 70 patlıcan çeşiti Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü deneme tarlalarında yetiştirilmiştir. Denemelerde tesadüf blokları deneme deseni modeli iki tekerrürlü olarak kurulmuştur. Çalışmada 30 morfolojik karakter incelenmiştir. Değerlendirmeler Uluslararası Bitki Genetik Araştırma Enstitüsü tarafından patlıcan için tanımlanmış metod ve skalalara göre yapılmıştır (IBPGR 1990).

3.3. Toplam Suda Çözünabilir Antioksidan Aktivitesi

Patlıcan meyvelerinden elde edilen örnek dokuların toplam suda çözünabilir antioksidan kapasitesini belirlemek için 1 g örnek (-80°C'de depolanan) Waring Blenderda 20 ml soğuk su ile 2 dakika homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekten elde edilen meyve ekstraktı tülbentten süzülüş ve 20 dakika +4°C'de, 35.000 x g'de santrifüj edilmiştir. Bu şekilde elde edilen meyve ekstraktı antioksidan aktivite miktarlarının tayininde kullanılmıştır. Patlıcan meyvelerinden elde edilen ekstraktın suda çözünabilir antioksidan aktiviteleri RE ve ark. (1999) tarafından önerilen ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)] dekolizasyon metodu kullanarak spektrofotometrik (Shimadzu, 1700 UV Visible Spectrophotometer, Japan) olarak ölçülmüştür. Bu yöntemin esası potasyum persülfatla okside edilerek pH 7.4 PBS (phosphate buffer saline) içerisinde hazırlanmış olan koyu mavi renkli ABTS [2,2'-

azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)] radikalinin örnek tarafından belli süre içerisindeki indirgenme düzeyinin belirlenmesine dayanmaktadır. ABTS radikal katyon solüsyonu (ABTS⁺) 2.45 mM potasyum persulfat içeren 7 mM ABTS karıştırılarak hazırlanmıştır ve 12-16 saat karanlıkta depolanmıştır. İndirgenen ABTS serbest radikali maviden renksiz forma dönüşmekte ve indirgenme düzeyi 734 nm'deki absorbans değerine göre belirlenmektedir. Reaksiyon karışımları 2 mL başlangıç absorbans değeri 0.7 olacak şekilde PBS ile seyreltilmiş ABTS çözeltisi ve 7.5, 15 veya 20 µL örnek karıştırılarak hazırlanmıştır. İnhibisyon testi 1, 3 ve 6 dakika boyunca sürdürülmüş ve farklı süreler sonunda ulaşılan inhibisyon değerlerinden AUC değeri belirlenmiştir. Her analiz en az üç kere tekrarlanmıştır. Standart olarak Troloks kullanılmış ve sonuçlar µM Troloks/g taze meyve olarak verilmiştir. Genotipler arasındaki kıyaslamalar varyans analizi (ANOVA) ve Fisher'in PLSD testi kullanılmıştır.

3.4. Toplam Fenolik Madde İçeriği

Patlıcan meyvelerinden elde edilen örnek dokuların toplam fenolik madde miktarını belirlemek için, 1 g örnek (-80°C'de depolanan) Waring blenderda 20 ml soğuk su ile 2 dakika homojenize edilmiştir. Homojenize edilen patlıcan meyvelerinden elde edilen bitki ekstraktı tülbentten süzülümüş ve 20 dakika +4°C'de, 35.000 x g'de santrifüj edilmiştir. Bu şekilde elde edilen ekstrakt fenolik madde miktarlarının tayininde kullanılmıştır. Toplam fenolik madde tayininde antioksidant kapasitenin belirlenmesinde kullanılan ekstraktan faydalanılmıştır. Yöntem olarak Folin-Ciocalteu ayracını reaktif reagent ve gallic asiti standart olarak kullanan SINGLETON ve ROSSI (1965) tarafından geliştirilmiş spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Absorbans ölçümleri 765 nm'de gerçekleştirilmiş, standart kurvenin hazırlanmasında gallic asit kullanılmıştır. Sonuçlar µg gallic asit/g taze yaprak olarak verilmiştir. Ölçümler sırasında 2 ml örnek 10 ml 2 N Folin-Chiocalteu (1/10 oranında seyreltilmiş) reaktifi ile karıştırılmış ve 3 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Ardından ortama 8 ml % 7.5'lik Na₂CO₃ çözeltisi eklenmiş ve örnek karanlıkta 2 saat bekletilmiştir. Reaksiyon karışımının absorbansı spektrofotometre'de 765 nm 'de belirlenmiştir. Her örnek en az üç kere analiz edilmiştir. Sonuçlar mg gallic asit eş değeri / kg taze meyve ağırlığı olarak ifade edilmiştir. Genotipler arasındaki kıyaslamalar varyans analizi (ANOVA) ve Fisher'in PLSD testi kullanılmıştır.

3.5. Glikoalkaloidlerin (Solamargine ve Solasonine) Ekstraksiyonu ve Saflaştırılması

Patlıcan meyvelerinde bulunan en önemli iki glikoalkaloidin ekstraksiyonu ve saflaştırılması için patates'te SAG analizlerinde genel kabul görmüş metodlar kullanılacaktır (SANFORD ve ark. 1996, YENCHO ve ark. 1998). Bu amaç için 1kg patlıcan meyvesi içerdiği suyun tümü uzaklaştırılana kadar liyofilize edilmiştir. Daha sonra havanda dövülerek toz haline getirilmiştir. Ortamda bulunan lipitlerin uzaklaştırılması amacıyla 250 ml n-hekzan toz patlıcana eklenerek 1 saat süreyle 150 rpm'de çalkalayıcıda karıştırılmıştır. Elde edilen örnek 0,45µm'lik filtre kağıdından süzülerek ortamda bulunan n-hekzan uzaklaştırılmıştır. N-hekzanda glikoalkaloidlerin varlığının tespiti için ince tabaka kromatografisi (TLC) kullanılmıştır. TLC solventi olarak kloroform:metanol:su (61:32:7) (v/v/v) kullanılmıştır. Görüntüleme solventi olarak ise %30'luk sülfürik asit kullanılmıştır. TLC plaka sülfürik asit çözeltisine batırıldıktan sonra 100C'ye kadar ısıtılıp görüntülenmiştir. N-hekzan solventinde glikoalkaloid tespit edilememiştir, sadece lipitler örnekten uzaklaştırılmıştır. Ortamda mevcut pigmentlerin örnekten uzaklaştırılması için aynı işlem n-hekzan yerine diklorometan ile de tekrarlanmıştır. Kalan toz halindeki örneğe 250 ml metanol eklenerek

12 saat reflux yapılarak glikoalkaloidlerin metanole geçmesi sağlanmıştır. Karışım 0,45 µm'lik filtre kağıdından süzülerek metanol ile toz örneğin ayrışması sağlanmıştır. Toz halindeki örneğe 250 ml daha metanol eklenerek 3,5 saat daha reflux yapılmış ve tekrar 0,45 µm'lik filtre kağıdından süzülmüştür. İki solüsyondaki glikoalkaloid varlığı açısından TLC ile kontrol edilmiştir. TLC solventi olarak kloroform:metanol:su (61:32:7) (v/v/v) kullanılmıştır. TLC plaka %30'luk sülfürik asit çözeltisine batırıldıktan sonra 100 °C'ye kadar ısıtılıp görüntülenmiştir. Her iki solüsyonda da glikoalkaloid varlığı tespit edilmiştir. Evaporatörde 50° C'de 90 rpm'de metanol uçurulmuştur. Balonun içindeki örnek karamel halinde kalmıştır. Patlıcan çok fazla şeker içerdiğinden dolayı öncelikle şekerler uzaklaştırılmıştır. Bu amaçla örnek kloroform da çözülmüştür ve filtreye silika doldurulmuştur. Pompa yardımıyla silikadan önce 400-500 ml kloroform, sonra 400-500 ml metanol geçirilmiştir. Kloroform fazı (erlen 1), kloroform – metanol fazı (erlen 2) ve metanol (erlen 3) olmak üzere 3 ayrı erlende solventler toplanmıştır. Şekerler ise silikada bağlı kalmıştır.

Erlen 1 için:

35 cm yüksekliğinde 2,2 cm çapında cam kolon içine 113,982 g silika doldurulmuştur. Örnek oda sıcaklığında kloroform içinde beklerken kristallenmiştir. Elde edilen kristaller filtre kağıdından süzülerek 3. Erlene eklenmiştir. Sıvı kısım ise kolona uygulanmıştır. Örnek kolona uygulanmadan önce evaporatörde solvent uzaklaştırılmış ve örnek silikaya tutturulmuştur. Örnek kolona kuru olarak uygulanmıştır. Kolonda elüsyon solventi olarak kloroform: metanol:su kullanılarak gradient elüsyonu gerçekleştirilmiştir. Elüsyon solventinin miktarları sırasıyla hacim olarak 90:10:0 (200ml), 85:15:0,5 (100ml), 80:20:1 (200ml), 70:30:3 (100ml), 61:32:7 (300ml) kullanılmıştır. Fraksiyonlar 10'ar ml halinde toplanmıştır. Son olarak kolondan 400 ml metanol geçirilmiştir. Bu şekilde 93 fraksiyon toplanmıştır. Her fraksiyon için TLC yapılarak aynı maddeyi içeren fraksiyonlar birleştirilmiştir. Glikoalkaloidler kolona en son uygulanan metanol solventinde belirlenmiştir. TLC solventi olarak her fraksiyon için hangi solvent sisteminde toplanmış ise o solvent sistemi kullanılmıştır. TLC plaka %30'luk sülfürik asit çözeltisine batırıldıktan sonra 100 °C'ye ısıtılıp görüntülenmiştir.

Erlen 2 için:

62 cm yüksekliğinde 4,6 cm çapında cam kolon içine 830 g silika doldurulmuştur. Kloroform-metanol karışımı evaporatörde uçurularak örnek 10 ml kolon başlangıç solventinde çözülmüş ve kolona uygulanmıştır. Kolonda elüsyon solventi olarak etilasetat:metanol:su kullanılarak gradient elüsyon gerçekleştirilmiştir. Elüsyon solventinin miktarları sırasıyla hacim olarak 100:17,5:12,5 (650 ml), 100:20:15 (877,5 ml) kullanılmıştır. Fraksiyonlar 10'ar ml halinde toplanmıştır. Son olarak, kolondan 200 ml metanol geçirilmiştir. Bu şekilde 118 fraksiyon toplanmıştır. Her fraksiyon için TLC yapılarak aynı maddeyi içeren fraksiyonlar birleştirilmiştir. Glikoalkaloidler kolona en son uygulanan metanol solventinde belirlenmiştir. TLC solventi olarak her fraksiyon için hangi solvent sisteminde toplanmış ise o solvent sistemi kullanılmıştır. TLC plaka %30'luk sülfürik asit çözeltisine batırıldıktan sonra 100 °C'ye kadar ısıtılıp görüntülenmiştir.

Erlen 3 için:

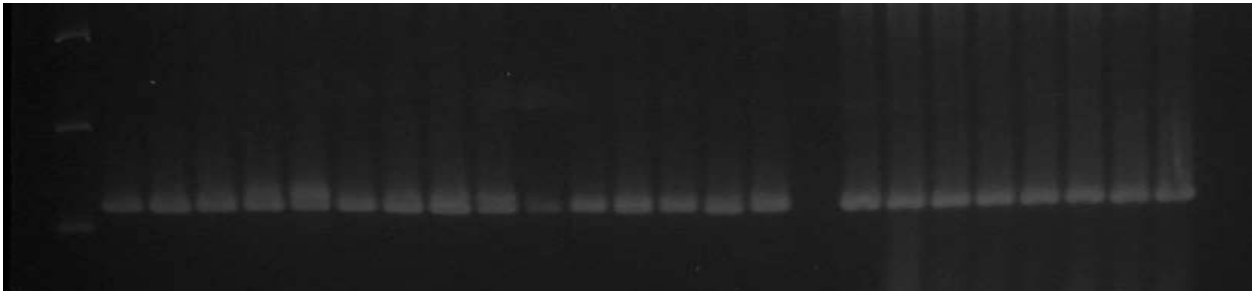
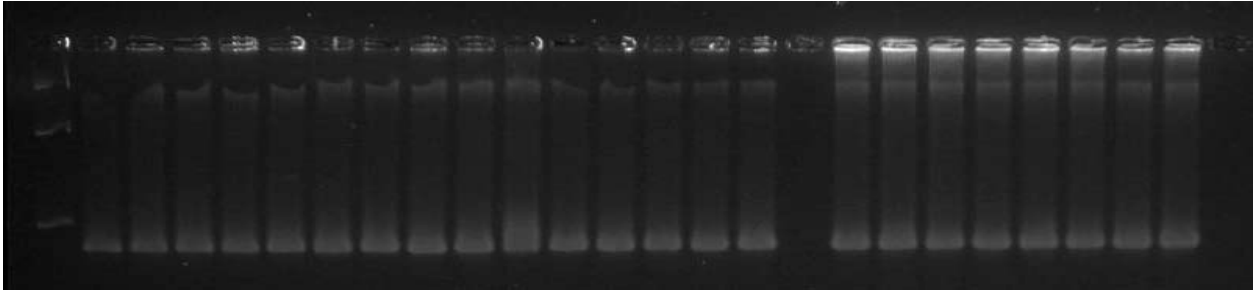
62 cm yüksekliğinde 4,6 cm çapında cam kolon içine 863,75g silika doldurulmuştur. Örnek oda sıcaklığında metanol içinde beklerken kristallenmiştir. Elde edilen kristaller filtre kağıdından süzülmüştür. Erlen 1'de elde edilen kristaller

ile birleştirilmiştir. Kristaller 10 ml kloroform:metanol:su (61:32:7)(v/v/v) içinde çözülerek kolona uygulanmıştır. Kolonda elüsyon solventi olarak kloroform:metanol:su kullanılarak gradient elüsyonu gerçekleştirilmiştir. Elüsyon solventinin miktarları sırasıyla hacim olarak 61:32:7 (500 ml), 70:55:10 (100 ml), 50:60:10 (560 ml) kullanılmıştır. Fraksiyonlar 10'ar ml halinde toplanmıştır. Son olarak, kolondan 400 ml metanol geçirilmiştir. Bu şekilde 129 fraksiyon toplanmıştır. Her fraksiyon için TLC yapılarak aynı maddeyi içeren fraksiyonlar birleştirilmiştir. Glikoalkaloidler kolona en son uygulanan metanol solventinde ve 61-139. fraksiyonları arasında saptanmıştır. TLC solventi olarak her fraksiyon için hangi solvent sisteminde toplanmış ise o solvent sistemi kullanılmıştır. TLC plaka %30'luk sülfürik asit çözeltisine batırıldıktan sonra 100 °C'ye kadar ısıtılıp görüntülenmiştir.

Her üç erlendeki glikoalkaloid içeren metanol fraksiyonları birleştirilmiştir. Birleştirilen metanol fraksiyonlarına ve 61-139. fraksiyonlara kloroform:metanol:su (2:1:2)(v/v/v) solvent sistemi kullanılarak sıvı-sıvı partiyon yapılmıştır. Ayırma hunisinde en üstte su-metanol fazı, ortada beyaz çökeleklerin bulunduğu faz ve en altta kloroform fazı olmak üzere 3 faz oluşmuştur. Glikoalkaloid varlığı TLC ile kontrol edilmiştir. TLC solventi olarak kloroform:metanol:su (61:32:7) (v/v/v) kullanılmıştır. TLC plaka %30'luk sülfürik asit çözeltisine batırıldıktan sonra 100'ye kadar ısıtılıp görüntülenmiştir. Glikoalkaloid içeren fraksiyonlar (metanol fraksiyonunun sıvı-sıvı partiyonundan gelen en üstteki su-metanol fazı ve 61-139 fraksiyonlarının sıvı-sıvı partiyonundan gelen en alttaki kloroform fazı) birleştirilmiştir ve solvent evaporatörde uçurulmuştur. Kuru örnek 400 ml asetonitril ile yıkanarak filtre kağıdından süzümüştür. Safsızlıklar filtre kağıdında kalarak örnekler temizlenmiştir. Daha sonra, örnekler tekrar kurutulmuş ve 10 ml %30'luk metanolde çözülmüştür. Son ayırma için RP (ters faz) silika kolon yapılmıştır. 30 cm yüksekliğinde 4 cm çapında açık cam kolon içine 50 g RP silika doldurulmuştur. Kolondan sırasıyla 300 ml %30'luk metanol (vakum pompası yardımı olmadan), 200 ml %70'luk metanol (vakum pompası yardımı olmadan), 200 ml %75'luk metanol (vakum pompası yardımı ile), 200 ml %80'luk metanol (vakum pompası yardımı ile), 200 ml %90'luk metanol (vakum pompası yardımı ile) geçirilmiştir. Fraksiyonlar 20 ml olarak toplanmış. Her fraksiyon için TLC yapılarak aynı maddeyi içeren fraksiyonlar birleştirilmiştir. TLC solventi olarak her fraksiyon için hangi solvent sisteminde toplanmış ise o solvent sistemi kullanılmıştır. TLC plaka %30'luk sülfürik asit çözeltisine batırıldıktan sonra 100°C'ye kadar ısıtılıp görüntülenmiştir. 26, 27 ve 28. fraksiyonlarda ve %80'lik metanol ile gelen fraksiyonlarda glikoalkaloid varlığı belirlenmiştir ve bu fraksiyonlar birleştirilmiştir. Solvent miktarı evaporatörde 10 ml'ye düşürülerek 60 cm boyunda, 3 cm çapında 353,25 g silika içeren kolona uygulanmıştır. Kolondan 700 ml kloroform:metanol:su (61:32:7) (v/v/v) karışımı geçirilmiştir. İlk 300 ml'den sonra fraksiyonlar 10'ar ml halinde toplanmıştır. Glikoalkaloid varlığı TLC ile kontrol edilmiştir. TLC solventi olarak kloroform:metanol:su (61:32:7) (v/v/v) karışımı kullanılmıştır. TLC plaka %30'luk sülfürik asit çözeltisine batırıldıktan sonra 100°C'ye kadar ısıtılıp görüntülenmiştir. Bu şekilde glikoalkaloid içeren fraksiyonlar birleştirilmiştir. Bu analizlere göre, 1-11. fraksiyonlar solamargine, 12-33. fraksiyonlar solamargine ve solasonine karışımı ve 51-71. fraksiyonlar solasonine olarak tespit edilmiştir. Örneklerin solventi uçurularak liyofilize edilmiştir.

3.6. EST-SSR Markörlerinin Geliştirilmesi

Yabani patlıcan türleri arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmada SSR işaretleyicisi sistemi kullanılmıştır. Projede toplam olarak 50 adet SSR işaretleyicisi geliştirilmiştir. Bu amaç için Cornell University tarafından geliştirilen 3181 adet patlıcan EST kütüphanesinden (<http://www.cornell.sgn.edu>) DNA dizileri elde edilmiş ve PBC Public Database tarafından kullanıma açılan SSR Discovery Input programı (<http://hornbill.cspp.latrobe.edu.au/cgi-bin/pub/ssrprimer/indexssr.pl>) kullanılarak DNA dizilerindeki SSR'lar belirlenmiştir. PBC Public SSR Primer Discovery Input programı her SSR'in yanındaki primerleri dizayn edebilme temeline dayanılarak programlanmıştır. Primer dizayn kriterleri olarak; primer boyutu, (minimum: 18 ve maksimum: 22 nükleotid), primer erime derecesi (T_m, minimum:50°C-maksimum:70°C), primer GC yüzdesi (Minimum: 50%-Maksimum:70%), primer maksimum eşleşme oranı (=8) ve primer maksimum 3' ucu eşleşme oranı (=3) baz alınmıştır. Elde edilen SSR primerleri Integrated DNA Technologies Inc. firmasından temin edilmiştir. Patlıcan genotipleri arasında direkt PCR çoğaltılmasıyla (amplification) polimorfizm belirlenmesi için standart agaroz jel elektroforez yöntemi uygulanarak 50 adet SSR primeri denenmiştir. PCR amplifikasyonu için hazırlanan PCR karışımı içerisinde: 0.5 µl ileri (0.8 µM stok solusyonu) ile 0.5 µl geri (3.2 µM stok solusyonu) primerleri ile birlikte 2.5 µl 10X PCR buffer, 0.5 µl dNTP (10mM), 0.25 µl Taq DNA polimeraz enzimi, 18.75 µl ddH₂O ve yaklaşık olarak 50 ile 100 ng lık 2 µl kalıp DNA yer almıştır. Çalışmada kullanılan PCR amplifikasyon protokolü: 94 °C de 5 dakika ön denaturasyon, 94 °C de 35 tur 30 saniye, 50 °C de 1 dakika ve 72 °C de 1 dakika, son uzama 72 °C de 5 dakika olarak belirlenmiştir. Elde edilen PCR ürünleri 2 µl mavi boya ile karıştırıldıktan sonra her bir örnek TAE tamponu ile hazırlanmış %3 agarose jelle 120 mA de 4 saat yürütülmüştür. Etmidium bromide eklenen jeller elektroforez işleminde sonra jel dokümantasyon sisteminde görüntülenmiştir. Bu çalışma için geliştirilen SSR primerleri aynı zamanda patlıcan genom haritasına da yerleştirileceğinden, agarose jelle dayalı sistemde polimorfizm bulunmadığı için DNA Analiz sisteminde kapillar olarak ayrıştırılmıştır. Şekil 1'den de görüldüğü gibi SSR işaretleyicilerinin agarose jelle dayalı polimorfizm çalışmasından genotipler ayrıştırılamamıştır.





Şekil 1. smSSR işaretleyicilerinin agarose jel resimleri

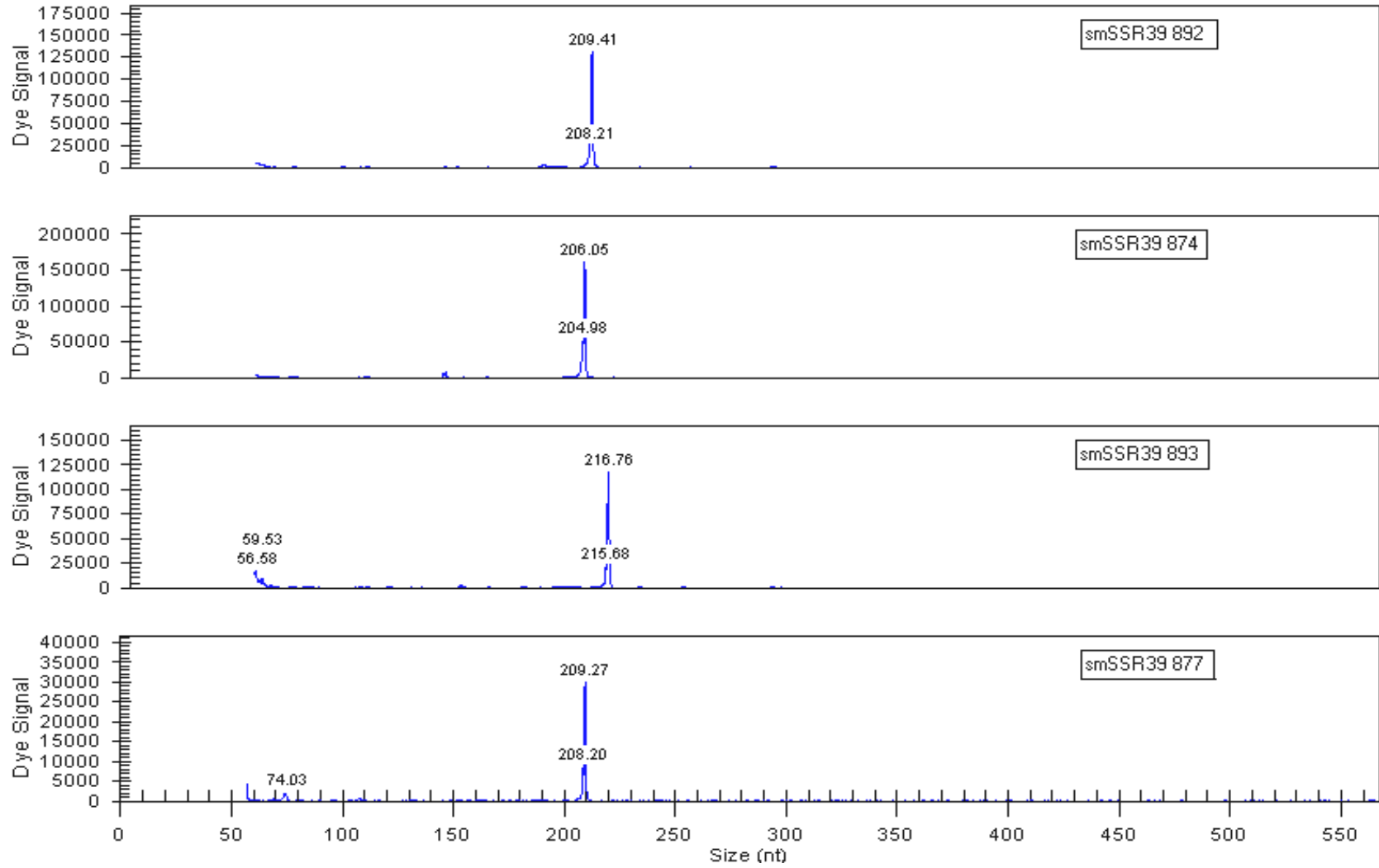
Kapillar sistemde ayırıştırma ve DNA Analiz sisteminde çalışması için smSSR primerleri Beckman Well Red boyasıyla işaretlenmiştir. Bu amaç için SSR primer çiftinden ileri primer (forward) 5' ucuna M13 dizisi eklenmiştir (TGTAACGACGGCCAGT). Normal uygulamada, her bir primer için işaretleme gerekmektedir. Ancak, bu şekilde masraflar çok artacağı için her bir SSR primerine M13 dizisi eklenmiştir ve böylece daha uzun forward primer sentezlenmiştir (Tablo 4). Böylece, sadece M13 primeri işaretlendiği için diğer primerlerin işaretlenmesine gerek kalmamıştır. M13 eklenmiş ve Beckman WellRed boyasıyla işaretlenen primerler Sigma-Proligo tarafından sentezlenmiştir. PCR çalışmaları için en uygun şartlar yapılan denemelerle belirlenmiştir. PCR karışımı içerisinde: 0.75 µl ileri (0.8 µM stok solusynu), 0.75 µl geri (3.2 µM stok solusyonu) ve 0.75 µl M13 primerleri ile birlikte 2 µl 10X PCR tamponu, 0.4 µl dNTP (10mM), 0.2 µl Taq DNA polimeraz enzimi, 13.15 µl ddH₂O ve yaklaşık olarak 50 ile 100 ng lık 2 µl kalp DNA yer almıştır. Bu çalışmada PCR profili: ilk 27 tur için: 94 °C de 5 dakika ön denaturasyon, 94 °C de 30 saniye, 56 °C de 45 saniye ve son uzama için 72 °C de 45 saniye ve daha sonra son bir 8 tur için: 94 °C de 30, 53 °C de 45 saniye, son uzama 72 °C de 45 saniye, daha sonra ürün en son uzama için 72 °C de 10 dakika şeklindedir. Örnekler SSR analizi için Beckman-Coulter CEQ™8800 Genetic Analysis Systemine yüklenmeden önce SLS örnek yükleme solüsyonu ile 1:10 oranında seyreltilmiştir. Her bir örnek için, 3 µl PCR ürünü 27 µl SLS solüsyonu ve 0.5 µl 600 bp size standartı ile seyreltilmiştir. Bu şekilde hazırlanan örnekler DNA Analiz sisteminde kapillar olarak ayırıştırılmıştır. Çalışma sonuçları Şekil 2 de gösterilmiştir. Dört örneğin (06T892, 06T874, 06T893, 06T877) 1 adet SSR işaretleyicisi (smSSR39) ile DNA Analiz sistemi ile analizi sonucunda alınan bilgiler gösterilmiştir. Genotipler arasındaki allel farklılıkları (polimorfizm) her bir sinyalin (peak) büyüklüğü ile belirlenmiştir (Şekil 2).

Tablo 4. Patlıcan EST veribankasından geliştirilen smSSR primerleri için SSR markör tekrar motifleri ve dizileri (smSSR = *S. melongena* SSR)

Markör İsmi	SGN EST Numarası	Tekrar Motifi ve Sayısı	İleri Dizi (F)	Geri Dizi (R)	Sol TM	Sağ TM	Ürün Boyutu (bp)
smSSR01	sgn E513845	(ATT)21	GTGACTACGGTTTCACTGGT	GATGACGACGACGATAATAGA	55.0	55.3	310
smSSR03	sgn E514601	(TA)9 (GA)8	ATTGAAAGTTGCTCTGCTTC	GATCGAACCCACATCATC	54.8	54.3	145
smSSR04	sgn E514602	(TA)9 (GA)8	CTCTGCTTCACCTCTGTGTT	CCATGAAAGAGAAGATCGAG	55.5	55.0	320
smSSR09	sgn E513913	(TTTGC)3	CACATGGGAACCTACTTACC	GACGACCATCAAACAAGAAT	54.5	55.0	344
smSSR11	sgn E515884	(AGC)6	AAACAAACTGAAACCCATGT	AAGTTTGCTGTTGCTGCT	54.5	54.6	126
smSSR12	sgn E516012	(ACCAA)3	AAACAGAAACCAGAGTACTTCA	CAGAAGAAGGTTTCAGTTTGC	53.4	55.2	313
smSSR14	sgn E517698	(ATTA)4	ATACCACATCAATCCAAAGC	CATCATCATCTTCACAGTGG	55.0	54.7	241
smSSR15	sgn E518171	(CCTTT)3	CTGTGGTTGCCTTATCAGTA	TAGTCCAAGGGTTTGATGAC	53.8	55.0	116
smSSR16	sgn E518867	(AGA)7	AAGAATTTGATGTTGAACCG	CTTTATCAGCCAATTTCTGG	55.2	55.1	390
smSSR17	sgn E519219	(ATAC)4	TCTTGCCATTTAATTTCTC	CTATGTCCCTATTATGCCCA	54.6	55.1	115
smSSR18	sgn E519312	(TAAT)4	TTAGGCATTTGATTTAGCCT	TATGTCCCTAAGCATAACGG	54.4	55.4	342
smSSR19	sgn E520513	(GAA)6	GAACAATGATTCATCGGATT	AGTTGATGTTGAATTTCCCA	54.9	55.5	241
smSSR21	sgn E514329	(TAC)5	AAGTTTACATGACAGCACCA	TTGCCATCATCAATACCATA	54.1	54.8	249
smSSR22	sgn E514434	(GCC)5	CTCCGTCAAATTCCTATCAA	GGGAGTCCACATAGAGCATA	55.3	55.2	276
smSSR24	sgn E515827	(TCA)5	GATTTATGGCTTCTGATGGA	TCCTAACCCACTTGATGAAC	55.2	55.0	229
smSSR27	sgn E516784	(TGT)5	ATACATTTGAGCCGAGAGTG	TAAATCTGAGAAGGTCGCAT	55.4	55.0	184

smSSR28	sgn E517072	(TCA)5	CACACTCCTCAGAACTCCAT	CAGCAGTACCTCTTGGTCAT	55.1	55.3	301
smSSR29	sgn E517168	(CTT)5	TCCACTTCAATTTCCAAGTC	GATCGCTTAGCAGAAGCC	55.2	56.2	188
smSSR31	sgn E517356	(TCC)5	CTTCCTACCCACACTTCATC	TAGGCCGGAGATAGTTGTAA	54.6	55.1	225
smSSR35	sgn E517795	(ATG)5	CACCACCAAAGAATTCCTAA	TTGCTAGAAATAGCAAAGGG	55.2	55.0	269
smSSR36	sgn E517835	(CTG)5	AGCACCAGGACAATGAATAC	CCATTTCTTTCTCGACCTTA	55.1	54.6	231
smSSR37	sgn E517892	(AAG)5	AAAGAAGCTTCCGACGAA	CACTTGTTTCAGCACTTTGA	56.1	55.0	115
smSSR40	sgn E518161	(AAG)5	TTCTTTGATCTTCAATTCCAA	ATGAAGCTGTTCATGATTCC	55.0	55.1	283
smSSR41	sgn E518430	(TCA)5	CTCCTCCTGGTAAGGAGTCT	GCAGTATAGAGACGCGAAAT	55.0	54.8	267
smSSR42	sgn E518630	(CAC)5	ACAGTACACCAGAAACGGAA	GTTACAATGACGGTGGATCT	55.7	54.9	160
smSSR44	sgn E519591	(CCA)5	TGCATTTCATA CAGAAACCA	GCAAGGATATCACTGAGCTG	55.1	56.0	233
smSSR45	sgn E519680	(TTC)5	TTTCTCAACCCAAACTGAAC	GCAGCTCTCGCATAGATAGT	55.3	55.0	172
smSSR46	sgn E519853	(CAC)5	GGAAACCTTCATTCATTCA	AGGTCACCGTTACAATTACG	55.2	55.2	272
smSSR47	sgn E520160	(AGA)5	ACACGATGATCATAAGGGAG	ATCTAATCACTGTCGCTGCT	55.0	55.1	189

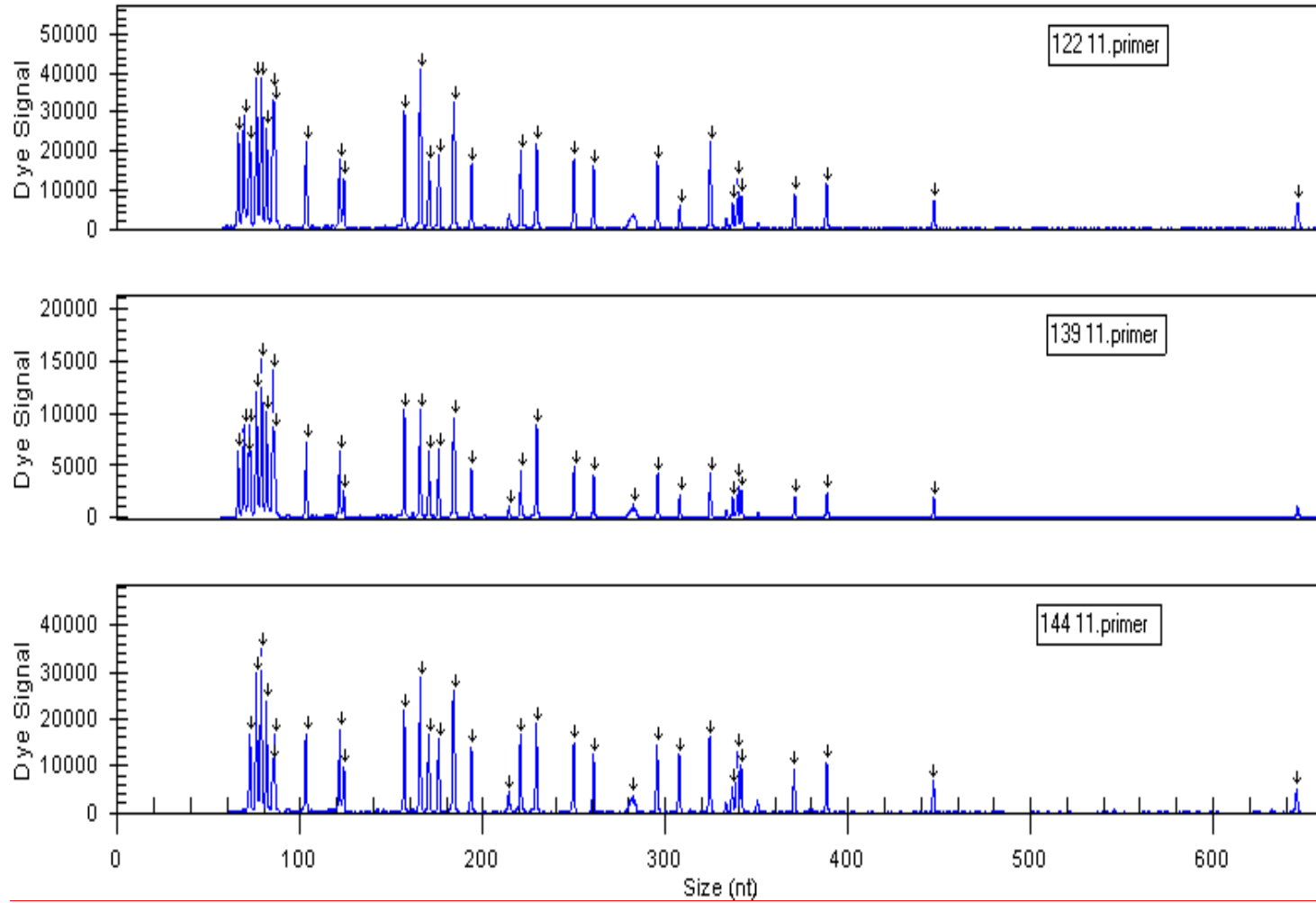
Şekil 2. Örnek bir smSSR çalışması. Polimorfisim her bir bandın büyüklükleri kıyaslanarak belirlenmiştir..



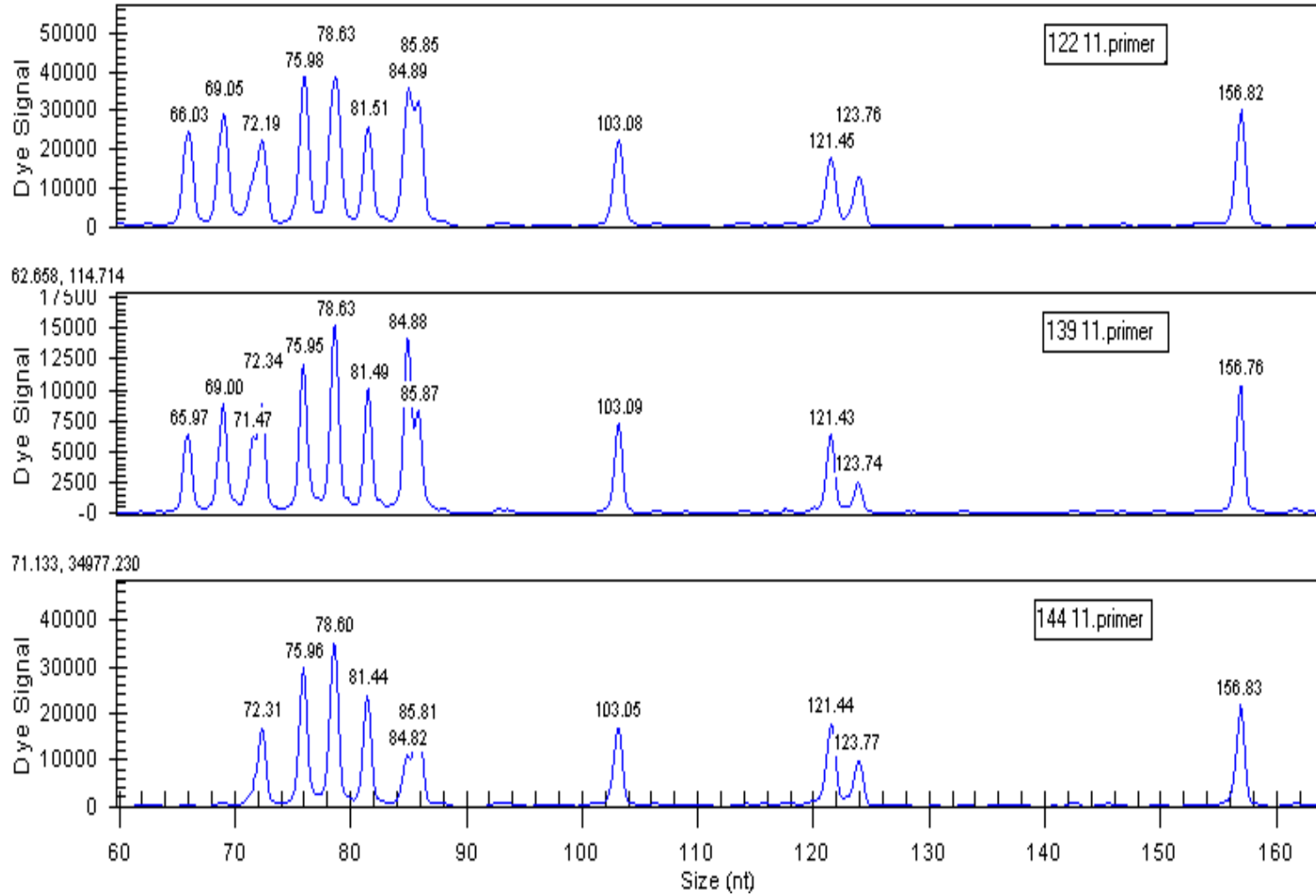
3.7. AFLP Analizleri

AFLP işaretleyicileride (VOS ve ark. 1995) patlıcan gen kaynaklarının genotiplenmesi ve bağlantı haritasının çözünürlüğünün artırılmasında kullanılmıştır. Bu analizler için FURINI ve WUNDER (2004) tarafından tanıtılan yöntem kullanılmıştır. Bu amaç için Invitrogen AFLP Core reaktif ve Starter Primer kitleri kullanılmıştır. Yaklaşık 10 primer kombinasyonu analizlerde üretici firmanın kullanım kılavuzunda belirtildiği gibi kullanılmıştır. AFLP analizinde ilk adım genomik DNA'nın restriksiyon enzimleri ile kesilmesidir. Bunun için, 5 µl DNA (~250 ng), 5 µl 5x reaksiyon tampon çözeltisi, 2 µl *EcoR I/Mse I* ve 13 µl steril dH₂O içeren karışım 1.5 µl mikrosantrifüj tüpü içerisine konmuş, karıştırılmış ve 2 saat süreyle 37°C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra, restriksiyon endonuklease aktivitesini inaktif hale getirmek için, bu karışım 15 dakika süreyle 70°C'de tutulmuştur. İkinci aşamada, 24 µl adaptör bağlama solüsyonu ve 1 µl T4 DNA ligase enzimi DNA karışımına eklenmiş ve iki saat süreyle 20°C'de inkübe edilmiştir. Bu bağlama karışımı 1:10 oranında TE tampon çözeltisi (10 µl mixture + 90 µl TE tampon çözeltisi) ile dilüsyon edilmiştir. Üçüncü aşama, ön amplifikasyon reaksiyonunun hazırlanması aşaması olup bu aşamada, 40 µl ön amplifikasyon primer karışımı, ön aşamada hazırlanmış olan 5 µl dilüsyon edilmiş kalıp DNA, 5 µl 10x PCR tampon çözeltisi + Mg ve 1 µl *Taq* DNA polimerase enzimi içeren karışım 0.5 ml. mikrosantrifüj tübü içerisine eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Santrifügasyondan sonra, karışım müteakip profil (94°C/30 saniye, 56°C/1 dakika, 72°C/1 dakika ve 20 döngü; 4°C'de tutulur) kullanılarak PCR ile çoğaltılmıştır. Bu reaksiyondan 3 µl PCR ürünü alınmış ve 147 µl TE tampon çözeltisi içerisinde dilüsyon edilmiştir. Son aşama seçici AFLP amplifikasyonu aşaması olup bu aşamada, iki reaksiyon karıştırılmıştır. İlk karışım 2.5 µl işaretlenmiş *EcoRI* primeri, 1.5 µl *MseI* primeri (dNTP içerir) ve 1 µl steril dH₂O içermiştir. İkinci karışım 2 µl 10x PCR tampon çözeltisi + Mg, 0.1 µl *Taq* DNA polimerase enzimi ve 79 µl steril dH₂O içermiştir. PCR reaksiyonunu başlatmak için, üçüncü aşamadan elde edilen 5 µl dilüsyon edilmiş PCR ürünü, 5 µl karışım 1 ve 10 µl karışım 2 bir PCR tüpü içerisine konulmuş ve müteakip touchdown profili kullanılarak çoğaltılmıştır (94°C/30 saniye, 65°C/30 saniye, 72°C/60 saniye; sonra 12 döngü PCR yapılmıştır. Bu işlem için her bir döngüde bağlanma sıcaklığı 0.7°C düşürülmüştür, son olarak, 94°C/30 saniye, 56°C/30 saniye, 72°C/1 dakika profili olan 23 döngülük bir PCR daha yapılmıştır. Bütün bu PCR'lar sonrası, iki dilüsyon daha yapılmıştır. İlk dilüsyon; 1:3 PCR ürünü/dH₂O (7 µl PCR + 14 µl dH₂O) dilüsyonudur. İkinci dilüsyon; 27 µl örnek yükleme solüsyonu (SLS), 0.5 µl işaretleyici standartı 600 bp ve ilk dilüsyondan 3 µl kullanarak 1:10 hazırlanan dilüsyondur. Hazırlanan örnekler dizi analizi cihazı kabına yüklenmiş ve bir damla mineral yağ ile kaplanmıştır. Daha sonra, örneklerin yüklendiği kap Beckman-Coulter Genetic Analysis System CEQTM8800 içerisine yerleştirilmiştir. AFLP analizleri Frag-4 metodu (ayırışma 90 °C, 120 saniye. ; capillary 50 °C; injeksiyon 2.0 kV, 30 saniye; ayırışma 4.8 kV, 60 dakika) için kullanılmıştır. Bu aşamadan sonra, sonuçlar istenmeyen veya düşük kaliteli örnekleri çıkarmak için filterlenmiştir. Elde edilen veriler AFLP fragmanlarının varlığı için (1) yokluğu için (0) şeklinde değerlendirilmiştir. Takip edilen protokol kapsamında patlıcan ile daha önce herhangi bir deneme yapılmaması nedeniyle protokolde belirtilen domates, biber ve tütün bitkileri için uygun primerler patlıcan örnekleri için denenmiştir. Netice itibarıyla 22 ortak primer kombinasyonu bulunmuş ve iki farklı patlıcan DNA'sı üzerinden denemeler yapılmıştır. Bu denemeler neticesinde ise 10 kombinasyon belirlenmiş ve bunların tüm örneklere uygulanmasına karar verilmiştir. DNA analiz cihazında yapılan AFLP örneklerinin görüntüsü Şekil 3 ve 4'de verilmiştir. Çalışmada kullanılan primer kombinasyonları Tablo 5'de verilmektedir.

Şekil 3. DNA analiz cihazında yapılan bir AFLP deneme örneği.



Şekil 4. DNA analiz cihazında yapılan bir AFLP deneme örneğinin daha yakın görüntüsü



Tablo 5. Türk Patlıcanlarına uygulanan AFLP primer kombinasyonları.

<i>EcoR</i> I / <i>Mse</i> I combinations					
	M - CAC	M - CAT	M - CAG	M - CAA	M - CTA
E - ACA	√ (3.pri.com)				
E - ACC		√ (5.pri.com)			
E - ACT	√ (11.pri.com)	√ (13.pri.com)	√ (6.pri.com)		
E - AAC			√ (7.pri.com)		
E - AGC				√ (16.pri.com)	√ (19.pri.com)
E - AGG			√ (18.pri.com)	√ (17.pri.com)	

3.8. COSII Analizleri

Korunmuş ortolog setleri (COSII) işaretleyicileri domates ve arabidopsis arasındaki sekans ortolojisi kullanılarak tasarlanmış PCR temelli kesilmiş çoğaltılmış polimorfizm (CAP) işaretleyicileridir. COSII analizler WU ve ark. (2009) tarafından tanımlanan metoda göre yapılmıştır. Bu metoda göre; PCR analizleri için toplam 25 ul reaksiyon karışımı kullanılmış olup reaksiyon karışımı içerisinde 50 ng kalıp DNA, 1 pmol ileri (forward) ve geri (reverse) primerler, 1x PCR tamponu, 0.2 mM dNTPs ve 0.5 U Taq polimerase içermiştir. Ürünler belirtilen programla çoğaltılmıştır: başlangıç DNA denatürasyonu için 94°C'de 5 dakika; denatürasyon için 94°C'de 45 saniye; tavlama (annealing) reaksiyonu için 55°C'de 45 saniye ve uzama için 72°C'de 45 saniye (35 döngü olmak üzere); son uzama 72°C'de 10 dakika ve 4°C'de tutmayı içermiştir. Gerekli olduğu durumlarda (özellikle COSII işaretleyicileri için) polimorfizmi belirlemek için ürünler restriksiyon enzimleri ile kesilmiştir. DNA parçaları (fragmentleri) %2'lik agaroz jel ile elektroforezde ayrıştırılmıştır..

3.9. Veri Analizleri

Morfolojik karakterlerin ortalamaları, standart hataları ve dağılımlar her bir tohum örneği için ortalama değerlerden hesaplanmıştır. Temel bileşenler analizi (PCA = Principal components analysis) JMP 7.0 software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) programı kullanılarak uygulanmıştır. Moleküler verilerinin analizi için örnekler (SSR ve AFLP lokusları) sırasıyla 1 ve 0 olarak numaralandırılan piklerin (bantların) varlık veya yokluluklarına göre genotiplendirilmiştir. Her bir SSR ve AFLP lokusları (fragmenti) için polimorfik bilgi içeriği hesaplanmıştır. Bu bilgi için $PIC_i = 2 f_i (1-f_i)$ formülü kullanılmıştır. Bu formüle göre f_i değeri i markörü için varolan bantların sıklığı olarak ifade edilmiştir (ROLDAN-RUIZ ve ark. 2000). Analiz edilen bu veriler daha sonra dendrogram çizimi için kullanılmıştır. NTSYS-pc versiyonu 2.2j (Applied Biostatistics Inc, Setauket, New York, ABD) programı (ROHLF 1998) örnekler arasındaki benzerlik ve farklılıkları belirlemek amacıyla bir matris oluşturmak amacıyla kullanılmıştır. Bu yazılım aritmetik ortalama kullanarak yapılan ölçülmemiş çift grup yönteminde (UPGMA = unweighted-pair group method arithmetic average) içeren birkaç gruplandırma metodunu içermektedir ve verilerin korelasyonu ile bileşenlerin iki yada üç boyutlu çizimlerini içeren dendogramların oluşturulmasını sağlamaktadır.

Dendrogram çizilebilmesi için kalitatif veriler örnekler arasında benzerlik ve farklılığı belirleyen bir matris oluşturulması amacıyla kullanılmıştır. Bu amaç için seçilen yöntem Dice yöntemidir (DICE 1945) ve bu yöntem örneklerin katsayı benzerliklerinin hesaplanmasına dayanmaktadır (MOHAMMADI ve PRASANNA 2003, GULSEN ve ark. 2007). Tanımlanan benzerlik matrisi daha sonrasında yazılımda bulunan SHAN modülü kullanılarak yapılan UPGMA gruplandırma yöntemi ile bir dendrogram çizmek amacıyla kullanılmıştır. Gruplandırmanın etkinliğini belirlemek amacıyla kofenetik korelasyon katsayısı MANTEL (1967) yöntemi ile hesaplanmıştır. İkinci adım olarak, temel bileşen analizleri (PCA = Principle Component Analysis) örneklerin çoklu düzlemlerde örneklerin organizasyonunu temsil eden iki boyutlu ve üç boyutlu grafikleri oluşturmak amacıyla kullanılmıştır (MOHAMMADI ve PRASANNA 2003). Bu amaçla verilerin korelasyon matrisi yazılımdaki SMINT modülü ile hesaplanmıştır. Eigen modülü kullanarak Eigen değerler hesaplanmıştır ve temel koordinatlar analizi (PcoA) yapılmıştır. AFLP, COSII ve SSR işaretleyicileri kullanılarak elde edilen genotipik veriler moleküler genetik bağlantı haritası oluşturulması ve QTL analizlerinin yapılmasında kullanılmıştır. Moleküler genetik bağlantı haritasının (bağlantı gruplarının ve işaretleyici sıralarının belirlenmesi) oluşturulmasında Mapmaker v. 2 (LANDER ve ark. 1987) ve JoinMap v. 4 (STAM 1993) programları; QTL analizlerinin yapılmasında MapQTL v. 5 (VAN OOIJEN ve MALIEPAARD 1996) ve Qgene v. 4 (NELSON 1997) programları kullanılmıştır..

4. Bulgular ve Tartışma

4.1. Patlıcan ve yabancı türleri arasında genetik varyasyonun belirlenmesi

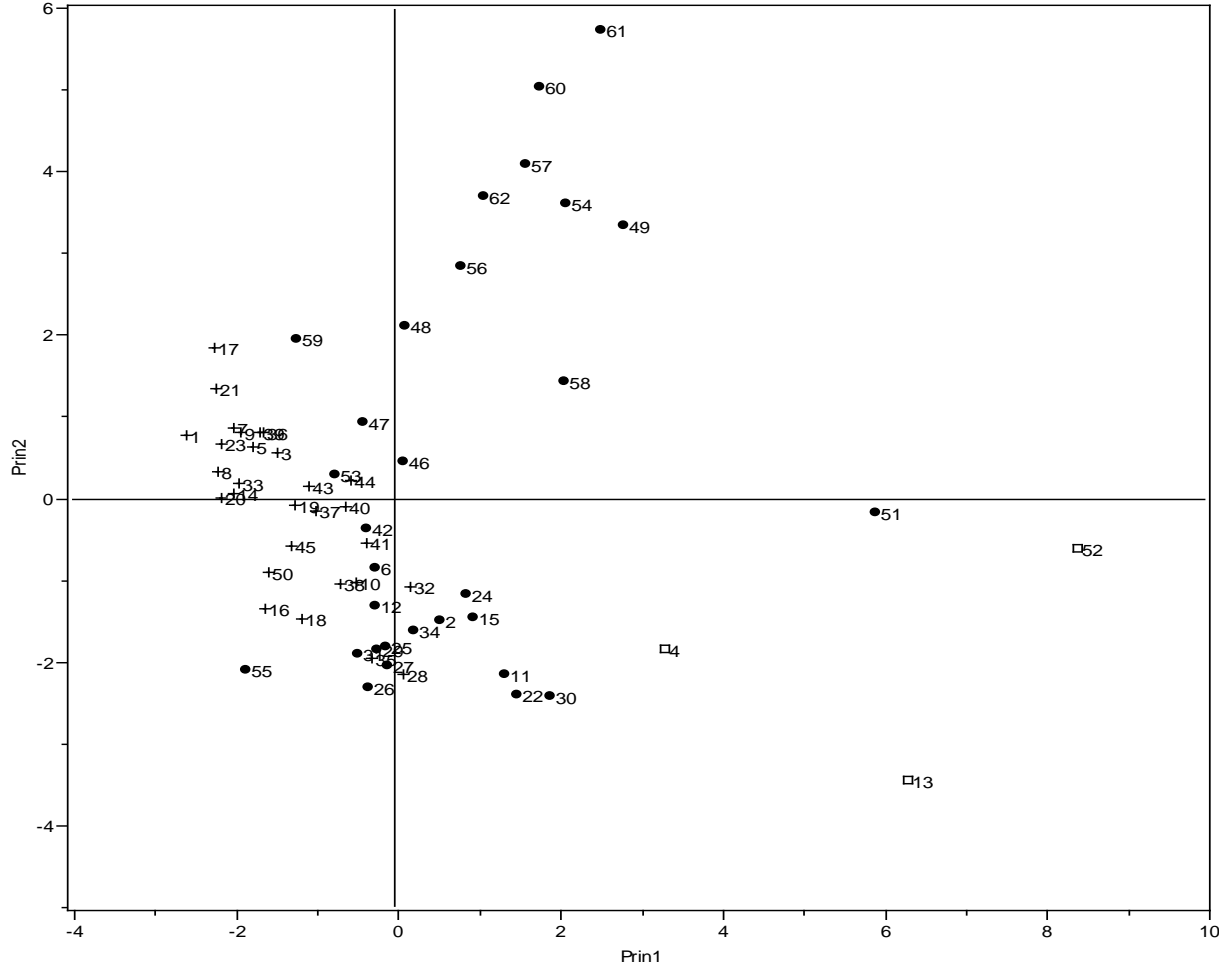
4.1.1. Morfolojik Analizler

Türkiye patlıcan bitkisi için ikincil dereceden genetik çeşitlilik merkezidir ve değişik morfolojik özelliklere sahip olan çok sayıda kültür çeşiti ve zaman içerisinde çiğçilerin seçerek oluşturdukları yerel çeşitler bulunmaktadır. Patlıcan'da genetik çeşitlilik düzeyinin belirlenmesi çalışması iki kısım halinde yürütülmüştür. Projenin bu alt başlığının birinci kısmında Türkiye'de yetiştirilmekte olan 70 civarında patlıcan kültür ve yerel çeşitleri arasındaki genetik çeşitlilik düzeyi morfolojik ve moleküler olarak belirlenmiştir. Bu amaç için Türk patlıcan çeşitlerine ait tohumlar Menemen Tarımsal Araştırma Enstitüsü Gen Bankasından sağlanmıştır. Çalışmada kullanılan diğer iki adet yabancı orijinli çeşit (Dusky, Amerikan orijinli bir çeşit ve MM738, Fransız orijinli bir çeşit) ve üç adet yabancı türe ait tohumlar INRA – Fransa'da araştırmacı olarak görev yapan Dr. Marie-Christine Daunay'den temin edilmiştir. Bütün tohumlar 26.05.2005 tarihinde tohum viyollerine ekilmiştir. Çimlenmesini tamamlayan genotipler daha sonra 20 cm çapındaki saksılara aktarılmış ve seraya transfer edilmiştir. Dört yapraklı devreye gelen bitkiler toplanarak DNA'ları çıkarılmıştır. Çalışmada kullanılan bütün genotipler Tablo 1'de verilmiştir. Yerel ve dış kaynaklı patlıcan çeşitleri arasındaki genetik çeşitlilik çalışmalarında moleküler işaretleyici tekniği olarak AFLP markör sistemi kullanılmıştır. Morfolojik analizler için bitkiler Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü – Menemen, İzmir'de deneme tarlalarında yetiştirilmiştir. Denemelerde iki tekerrürlü tesadüf deneme blokları esas alınmış ve her bir tekerrürde 10 bitki yer almıştır. Tarla koşullarında yaşanan kayıplardan dolayı denemeye alınan 67 genotipten sadece 61 adeti morfolojik olarak karakterize edilmiştir. Agronomik öneme sahip 30 morfolojik karakterler patlıcan genotiplerinde vejetatif dönemde ve meyve karakterleri bakımından incelenmiştir. Vejetatif ve

meyve karakterlerine ait sonuçlar Tablo 6'de verilmiştir. Morfolojik değerlendirmelerde IBPGR tarafından oluşturulan skala değerleri kullanılmıştır (Tablo 6; IBPGR 1990).

Türk patlıcan çeşitleri meyve şekillerine dayalı olarak sınıflandırılmışlardır (Tablo 1). Bu analizlere göre morfolojik analizlerde kullanılan tohum örneklerinden, üç tanesi yuvarlak, 30 adeti yarı-uzun (genişten daha uzun) ve 29 tanesi ise uzun (genişten birkaç kez daha uzun) olarak belirlenmiştir. Tohum örnekleri toplam 30 morfolojik karakter bakımından karakterize edilmişlerdir (Tablo 6). Beş parametre bakımından hiç varyasyon gözlenmemiştir: kotiledon rengi (yeşil), hipokotilde antoksiyanin (var), yapraklarda diken (yok), meyve pozisyonu (sarı) ve tohum rengi (kahverengimsi sarı). Buna karşılık meyve şekli ve rengi karakterleri önemli düzeyde varyasyon göstermiştir. Meyve şekli (uzunluk/genişlik oranı) kutupları yassılaştıktan (uzundan daha geniş) genellikle çok az eğrilik ile çok uzun arasında değişiklik göstermiştir. Meyve rengi ticari olgunluk döneminde süt beyazından siyaha ve fizyolojik olgunluk döneminde ise koyu sarıdan açık kahverengiye kadar geniş bir dağılım göstermiştir. Vejetatif karakterler daha az varyasyon göstermişlerdir.

Morfolojik karakterlerin ortalamaları, standart hataları ve dağılım oranları her bir tohum örneği için ortalama değerlerden hesaplanmıştır. Temel bileşenler analizleri (PCA) için JMP 7.0 software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) programı kullanılmıştır. Morfolojik verilerin çok değişkenli temel bileşenler analizlerine göre (PCA) birinci, ikinci ve üçüncü komponentler tohum örnekleri arasındaki toplam varyasyonun, sırasıyla, %16.1, %13.3, ve %7.7'sini açıklamıştır. Sonuç olarak, ilk üç komponent toplam varyasyonun %37.05'ini açıklamıştır. İlk komponentte tohum örneklerini ayıran en önemli parametre uzunluk/genişlik oranı, meyve kesiti, meyvenin en geniş kısmı, meyve ucu şekli, meyve genişliği ve eğriliği karakterlerini içeren meyve şeklidir. Meyve uzunluğu/genişliği oranı ve meyve eğriliği ilk komponentle negatif olarak ilişkili bulunmuştur (sırasıyla, $r = -0.383$ ve -0.242). Halbuki, diğer karakterler ilk komponentle pozitif korelasyon göstermiştir ($r = 0.378$ ve $r = 0.292$ arasında değişmiştir). İkinci komponentte tohum örneklerini ayırt eden en önemli parametre yaprak, tohum ve meyve karakterleridir. Yaprak genişliği ikinci komponentle en yüksek düzeyde korelasyon gösterirken ($r = 0.345$) diğer karakterlerde (tohum sayısı, meyve uzunluğu, yaprak derinliği, ve yaprak büyüklüğü) pozitif olarak korelasyon göstermiştir ($r = 0.312$ ile $r = 0.291$ arasında değişmiştir). İki boyutlu olarak çizildiğinde, PCA meyve tipine bağlı olarak tohum örnekleri arasında bazı ayrışmalara göstermiştir (Şekil 5). Uzun tipler birbirine en yakın gruba oluştururken yarı-uzun tipler birbirleri arasında daha gevşek bir şekilde ilişkili bulunmuşlardır. Yuvarlak tipler ise morfolojik olarak diğer tiplerden daha farklı bulunmuşlardır. Bununla birlikte, bu çalışmada sadece üç yuvarlak tohum örneği incelenmiştir. İlginç bir şekilde, yarı-uzun tiplerin bazıları morfolojik olarak uzun tiplere oldukça benzer bulunmuşlardır. Örneğin, 41 ve 42. Genotipler sırasıyla, uzun ve yarı-uzun tipler olup birbirlerine çok benzemektedirler.



Şekil 5. 30 morfolojik parametreye dayalı olarak Türk patlıcan tohum örnekleri arasındaki ilişkileri gösteren iki boyutlu PCA çizimi; + = uzun meyveli tipler, • = yarı-uzun meyveli tipler, □ = yuvarlak meyveli tipler.

Tablo 6. Türk patlıcan çeşitlerinde ölçülen morfolojik karakterler için belirlenen skalalar, ortalama değerler ve dağılım oranları

Karakter	Skala Değeri	Ortlama ± SE	Dağılım
Kotiledon Rengi	3-7 (3 = yeşil, 7 = menekşe)	3.00 ± 0	3-3
Hipokotilde Antoksiyanin	0-1 (0 = yok, 1 = var)	1.00 ± 0	1-1
Bitki Büyüme Şekli	3-7 (3 = dik, 7 = yatık)	4.13 ± 0.13	3-5
Yaprak Ayası Uzunluğu	3-7 (3 = kısa, 7 = uzun)	5.06 ± 0.08	3-7
Yaprak Ayası Genişliği	3-7 (3 = dar, 7 = geniş)	5.32 ± 0.09	5-7
Yaprak Ayası Büyüklüğü	3-7 (3 = küçük, 7 = büyük)	5.10 ± 0.10	3-7
Yaprak Ayası Derinliği	1-9 (1 = çok zayıf, 9 = çok güçlü)	5.10 ± 0.05	5-7
Yaprak Ayası Ucu Açısı	1-9 (1 = çok akut, 9 = çok geniş)	3.45 ± 0.13	1-5
Yaprak Dikenleri	0-9 (0 = hiç yok, 9 = çok sayıda)	0 ± 0	0-0
Bitki Yüksekliği	1-9 (1 = çok kısa, 9 = çok uzun)	6.58 ± 0.10	5-7
Bitki Çapı/Genişliği	1-9 (1 = çok kısa, 9 = çok geniş)	6.81 ± 0.08	5-7
Çiçeklenme Başlangıcı	3-7 (3 = erkenci, 7 = geçici)	5.19 ± 0.08	5-7
50% Çiçeklenme için Geçen Gün Sayısı	Gün sayısı	43.61 ± 0.64	35-56
Taç Yaprak Rengi	1-9 (1 = yeşilimsi beyaz, 9 = mavimsi menekşe)	6.29 ± 0.14	5-9
50% Meyve Tutum için Geçen Gün Sayısı	Gün sayısı	55.69 ± 0.46	48-65
Meyve Uzunluğu	1-9 (1 = çok kısa, 9 = çok uzun)	8.10 ± 0.13	7-9
Meyve Çapı/Genişliği	1-9 (1 = çok küçük, 9 = çok büyük)	7.10 ± 0.09	5-9
Meyve Uzunluğu / Meyve Çapı Oranı	1-9 (1 = uzundan daha geniş, 9 = birkaç kez daha geniş)	8.03 ± 0.21	1-9
Meyve Eğriliği	1-9 (1 = hiç yok, 9 = U-şeklinde)	2.95 ± 0.23	1-8
Meyve Kesiti	1-9 (1 = dairesel, 9 = çok düzensiz)	1.77 ± 0.22	1-9
Meyvenin En Geniş Kısmı	3-7 (3 = tabanından ¼ daha geniş, 7 = tabanından ¾ daha geniş)	5.19 ± 0.08	5-7
Meyve Tepe Şekli	3-7 (3 = çıkıntılı, 7 = bastırılmış)	4.55 ± 0.20	3-7
Ticari Olgunlukta Meyve Rengi	1-9 (1 = yeşil, 9 = siyah)	7.24 ± 0.13	2-9
Fizyolojik Olgunlukta Meyve Rengi	1-9 (1 = yeşil, 9 = siyah)	6.35 ± 0.34	2-8
Meyve Eti Yoğunluğu	1-9 (1 = çok gevşek, 9 = çok yoğun)	5.87 ± 0.22	3-9
Meyve Çanak Uzunluğu	1-9 (1 = çok kısa, 9 = çok uzun)	3.68 ± 0.14	1-5
Meyve Çanak Dikenleri	0-9 (0 = hiç yok, 9 = çok sayıda)	3.71 ± 0.23	1-7
Meyve Pozisyonu	1-9 (1 = dik, 9 = sarkık)	9.00 ± 0	9-9
Meyve Başına Düşen Tohum Sayısı	0-9 (0 = hiç yok, 9 = çok sayıda)	7.55 ± 0.11	7-9
Tohum Rengi	1-9 (1 = beyaz, 9 = siyah)	4.00 ± 0	4-4

4.1.1. AFLP Analizleri

AFLP analizleri için patlıcan genotipleri herbir hattan 10 bitki olacak şekilde sera koşullarında yetiştirilmiştir. DNA'lar 70 tohum örneği için yetiştirilen her bitki için genç yapraklardan çıkarılmıştır. DNA izolasyonu için, Wizard Genomic DNA Purification Kiti (Promega, Madison, WI, USA) kullanılmıştır. DNA'lar TE tamponu içerisine alındıktan sonra her bir genotipten 5 µl DNA alınarak yeni bir tüp içerisine alınmış ve her bir örnek için eşit konsantrasyonda DNA havuzu oluşturulmuştur. Elde edilen DNA'ların konsantrasyon seviyesini tespit etmek için NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer (NanoDrop Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA) kullanılmış ve finalde DNA konsantrasyonu 100 ng/µl ayarlanmıştır. AFLP analizleri için Invitrogen AFLP Core Reagent ve Invitrogen AFLP Starter Primer Kiti kullanılmıştır. AFLP analizleri için kullanılan protokol birkaç modifikasyonla AFLP Analysis System I kullanım klavuzu içerisinde tanıtılmıştır. Protokoldeki ilk değişiklik *EcoRI* and *Mse I* ile yapılan restriksiyon enzim parçalanmasında kullanılan DNA miktarının oranı 700 ng'na çıkarılmıştır. İkinci farklılık olarak ilk PCR amplifikasyonu sonrası, örnekler 1:50 yerine 1:40 oranında seyreltilmiştir. Seçici PCR amplifikasyonu için kit içerisinde sağlanan *Mse I* primeri ve fluorescent olarak işaretlenmiş *EcoRI* primeri CEQ 8800 Genetic Analysis Sisteminde (Beckman-Coulter) kullanılmıştır. Kullanım klavuzunda tanıtıldığı gibi domates, biber ve patates için çok iyi çalıştığı rapor edilen primer kombinasyonları iki patlıcan tohum örneğine ön çalışma şeklinde uygulanmıştır. Bu şekilde 22 primer kombinasyonu test edilmiş ve en iyi sonuç veren 10 primer kombinasyonu Türk patlıcan çeşitleri arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesi çalışmasında kullanılmıştır (Tablo 5).

Tablo 7. AFLP primer kombinasyonları Başına Düşen Polimorfik Fragment Sayısı

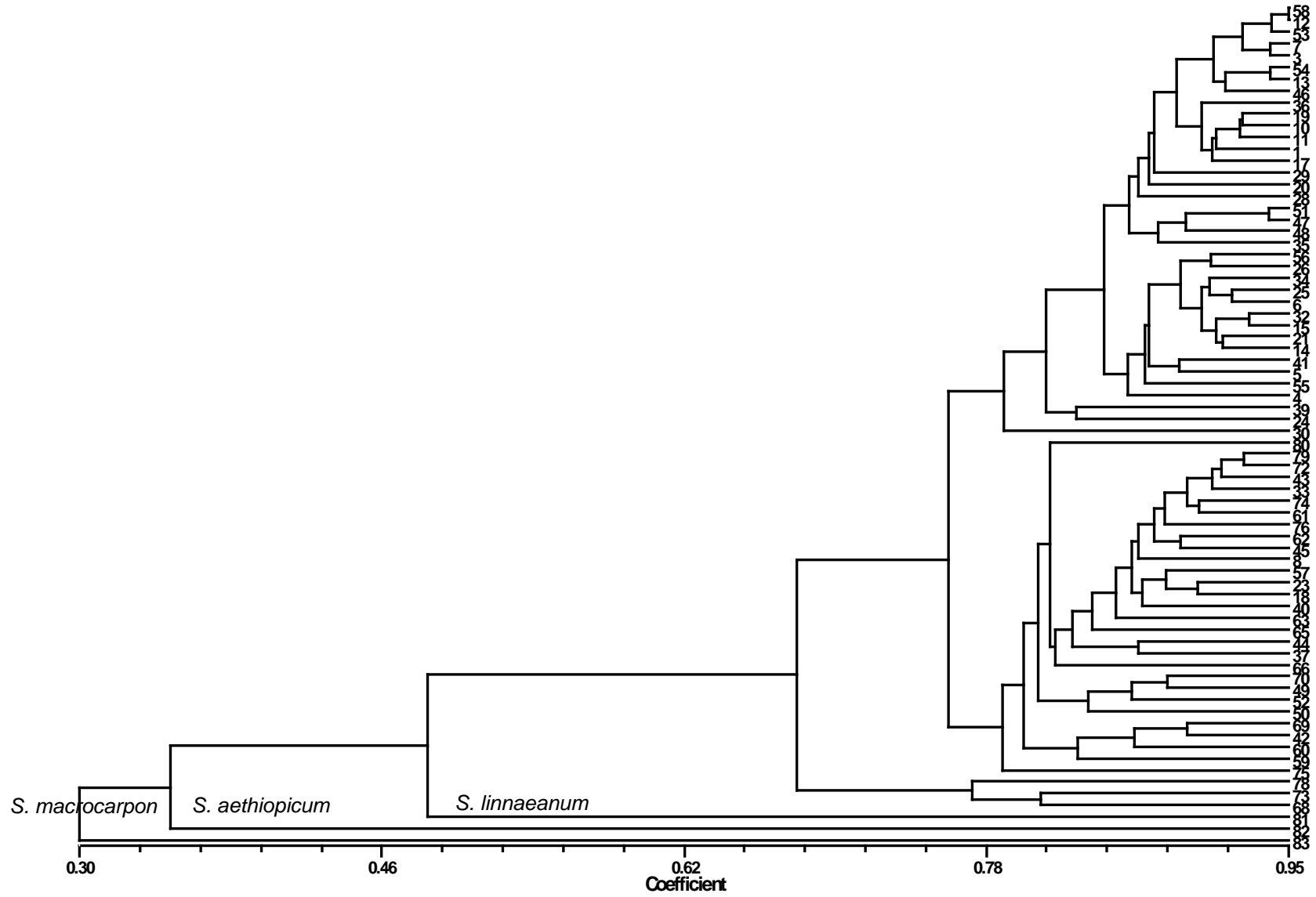
<i>EcoRI</i> primer	<i>MseI</i> primer	Polimorfik Fragment Sayısı	Ortalama PIC ± SE (median)
E - ACA	M - CAC	56	0.189 ± 0.022 (0.129)
E - ACC	M - CAT	62	0.145 ± 0.020 (0.067)
E - ACT	M - CAC	41	0.089 ± 0.016 (0.055)
E - ACT	M - CAT	63	0.223 ± 0.023 (0.192)
E - ACT	M - CAG	37	0.157 ± 0.026 (0.084)
E - AAC	M - CAG	26	0.111 ± 0.027 (0.057)
E - AGC	M - CAA	58	0.171 ± 0.021 (0.117)
E - AGC	M - CTA	58	0.134 ± 0.020 (0.061)
E - AGG	M - CAG	36	0.208 ± 0.034 (0.056)
E - AGG	M - CAA	47	0.223 ± 0.024 (0.227)

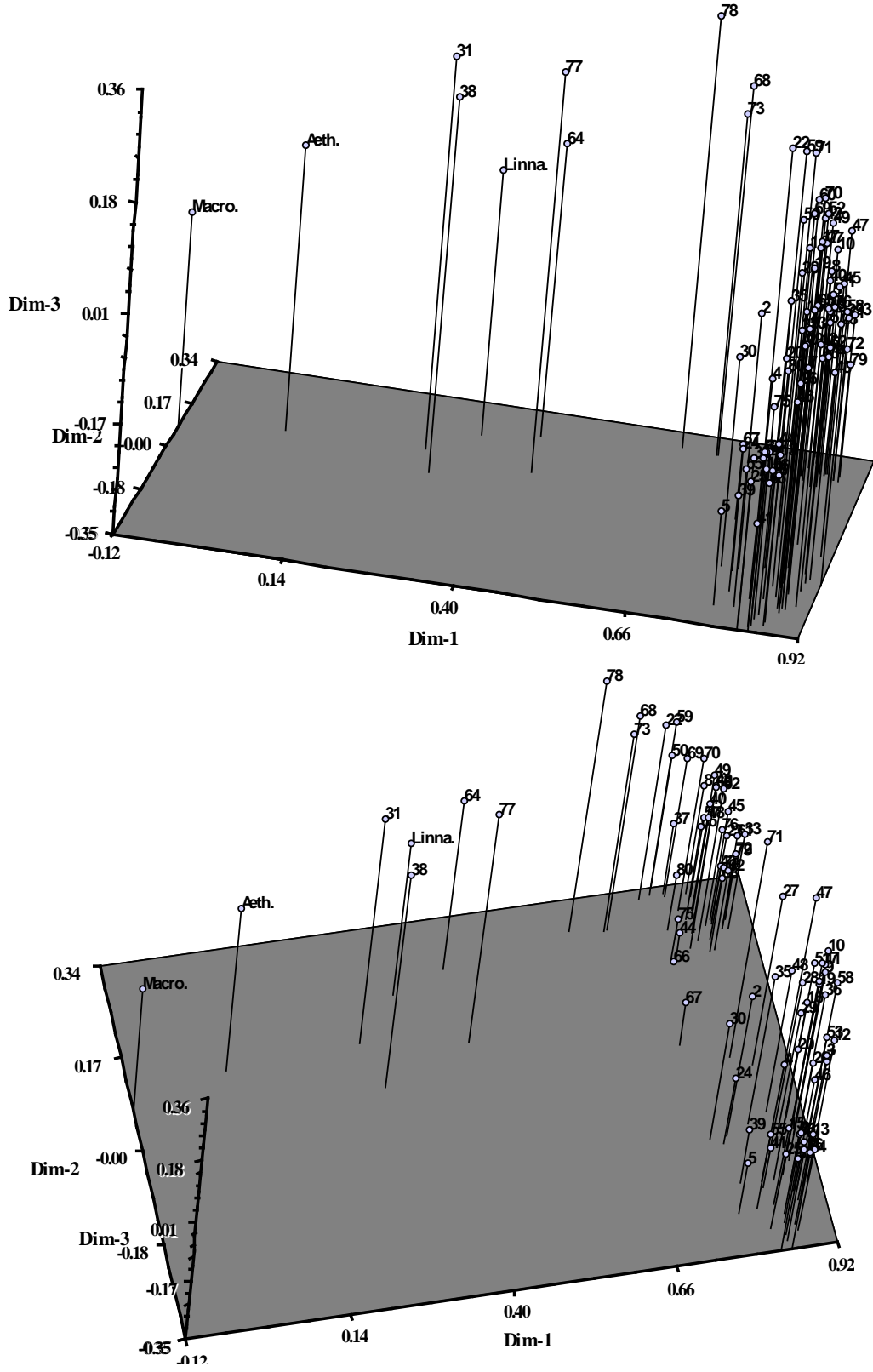
Genetik Analiz Sistemi için örneklerin hazırlanması son adımdır. Seçici PCR ürünleri öncelikle dH₂O ile 1:5 oranında ve daha sonra SLS (örnek yükleme solüsyonu) ile 1:10 oranında ikinci kere seyreltilme işlemi yapılmıştır. 3 µl DNA örneği 30 µl SLS ve 0.5 µl boyut standard-600 (GenomeLab, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA) ile karıştırılmıştır. Fragmentlerin ayrıştırılması için Genetik Analiz Sisteminde yer alan Frag 4 metodu kullanılmıştır: kapillar sıcaklığı 50°C, 120 saniye için denatürasyon sıcaklığı 90°C, enjeksiyon gerilimi 30 saniye için 2.0kV ve ayrıştırma gerilimi 60 dakika için 4.8 kV olarak kullanılmıştır.

Patlıcan için daha önceden yayınlanmış AFLP primer kombinasyonlarına göre (MACE ve ark. 1999; MUNOZ-FALCON ve ark. 2008), 10 AFLP primer kombinasyonu üçlü eşleşmeler halinde kullanılmıştır (E-ACT/M-CAG, E-AAC/M-CAG, E-AGC/M-CAA). Toplam 484 polimorfik parçacık (fragment) 10 primer kombinasyonundan güvenilir bir şekilde skorlanmıştır. Böylece, her bir primer başına ortalama 48.4 ± 3.8 (SE) polimorfik parçacık (markör) düşmüştür. E-ACT/M-CAT ve E-ACC/M-CAT primer kombinasyonları en polimorfik markörler olarak belirlenmiş ve bu markörler sırasıyla 63 ve 62 polimorfik lokus üretmiştir (Tablo 7). Buna karşın, E-AAC/M-CAG kombinasyonu 26 parçacık ile en düşük seviyede polimorfik lokus amplifiye etmiştir. AFLP makörlerinin PIC değerleri ortalama ve orta değerleri sırasıyla 0.17 ve 0.08 olmak üzere 0.03 ile 0.50 arasında değişiklik göstermiştir. Primer kombinasyonuna bağlı olmak üzere, en yüksek ortalama ve medyan PIC değerleri E-ACT/M-CAT ve E-AGG/M-CAA primer kombinasyonlarından elde edilmiştir (Table 7). Sadece *Solanum melongena* tohum örnekleri düşünüldüğünde, bütün markörler için ortalama ve medyan PIC değerleri sırasıyla 0.24 ve 0.22 arasında yer almıştır. Polimorfik lokuslardan, 144 (%29) adeti *S. melongena* tohum örneklerine özgün bulunmuştur. Buna karşılık, 73, 49 ve 16 nolu parçalar sırasıyla *S. macrocarpon*, *S. aethiopicum* ve *S. linnaeanum* türlerine özgün oldukları gözlenmiştir. Sonuç olarak, 350 (%72) AFLP lokusu *S. melongena* tohum örneklerinin ayrıştırılması için faydalı bulunmuştur.

AFLP verilerinin UPGMA gruplama analizi ile Mantel testi ile belirlenmiş olan benzerlik matris verileri ile çok yüksek düzeyde korelasyon gösteren bir dendogram oluşturulmuştur (Şekil 6). Dendogramdaki genetik benzerlik 0.30 ile 0.95 arasında değişiklik göstermiştir. Beklendiği gibi, tür dışı gruplar *S. melongena* grubunun dışında yer almıştır. Türdışı gruplar arasında, *S. linnaeanum* türü *S. melongena* ya 0.48 genetik benzerlik katsayısı ile en yakın

Şekil 6. 10 AFLP primer kombinasyonundan elde edilen 484 AFLP lokusuna göre 67 Türk patlıcan genotipi için oluşturulan UPGMA dendogramı.





Şekil 8. Türk patlıcanları AFLP sonuçlarının üç boyutlu diyagramı.

4.1.2. Yabani Patlıcan Türlerinde SSR Analizleri

Patlıcanda genetik çeşitliliğinin belirlenmesine yönelik özel işaretleyicilerin sayıca az oluşu ve diğer bitki türleri için geliştirilmiş işaretleyicilerin patlıcanda, o bitki türü kadar iyi sonuçlar vermeyişi de göz önüne alınarak bu proje kapsamında patlıcan için mevcut EST dizilerinden spesifik SSR primerleri geliştirilmiştir. Bu amaç için, Solanaceae Genomics Network' dan *Solanum melongena* ya ait sekansların olduğu database'lere ulaşılmış ve bu sekanslar Brassica Public Databases'de mevcut SSR Discovery Input programı ile primer dizaynı için kullanılmıştır. Yapılan incelemeler sonucunda, bulunan 110 SSR Primer çifti arasından toplam 50 tane SSR primerleri dizayn edilmiştir. smSSR primerlerinin listesi Tablo 4 de sunulmaktadır.

SGN veribankasında mevcut bulunan *Solanum melongena* EST kütüphanesinin analizi sonucunda içerisinde en az bir SSR dizisine sahip olan 158 farklı dizi belirlenmiştir. SSR'lar tek tek sayıldığında, toplam SSR sayısı 168 adet olmuştur. Bu markörlerden 9 tanesi two SSR ve bir tanesi ise üç SSR içermektedir. Bununla birlikte, 158 SSR içeren dizi SGN de yapılan analizlere göre 110 unigeni temsil etmektedir. Toplam olarak, yedi bileşik tekrar belirlenmiştir. Bileşik tekrarlar tek bir SSR'da meydana gelen iki veya daha çok sayıda nukleotid motiflere sahip bulunmaktadır. Genelde, AT tekrarı belirlenen SSR'lar içerisinde %8.3 lük bir oranla en genel olarak rastlanan tekrardır. Ayrıca, AT tekrarına patlıcan'da geliştirilen diğer genik (STAGEL ve ark. 2008) ve genomik (NUNOME ve ark. 2003) SSR larda da sıkça rastlanmaktadır. En uzun basit SSR bir TAA SSR olup 22 tekrar ünitesinden oluşmaktadır. Toplam uzunluğa göre, en uzun SSR dizisi bileşik bir tekrar olan (TAA)₂₀(CGA)₈ olup 84 nukleotid uzunluğundadır. Tekrar motifleri tekrardaki baz sayısı açısından sınıflandırıldığında, en yaygın olarak üç nukleotid tekrarlar gözlenmiş olup toplamın %56.7 sini temsil etmektedir. Benzer sonuçlar diğer türlerde de genik SSR çalışmalarında gözlenmiştir (CHO ve ark. 2000, THIEL ve ark. 2003). Bu sonuç, üçnukleotid tekrarlarındaki varyasyon frameshift mutasyonuna sebep olmadığı için beklenmektedir ve bu nedenle, büyük bir olasılıkla negatif seleksiyona karşı hayatta kalabilmiştir (METZGAR ve ark. 2000). TCA ve TTC/AAG en sıkça belirlenen üçnukleotid tekrardır ve her birinden sekiz SSR belirlenmiştir. STAGEL ve ark. (2008) patlıcan da mikrosatellit geliştirmek için SGN veribankasındaki EST kütüphanesini (<http://www.sgn.cornell.edu/>) incelemiş ve 70 civarında SSR markörü geliştirmiştir. Mevcut yürütülen projede ise yine aynı EST kütüphanesinin incelenmesi sonucunda 170 civarında SSR markörü geliştirilmiştir. STAGEL ve ark. (2008) tarafından yürütülen çalışmada da belirlenen genik SSR'ların büyük bir kısmında (%51.4) TCA ve AAG gibi üçnukleotid tekrarı en sıkça gözlenen tekrarlar olmuştur. Buna karşın, ATC ve AAC tekrarları patlıcan genomik DNA den elde edilen ve en sıkça karşılaşılan üçnukleotid tekrarları olmuştur (NUNOME ve ark. 2003).

47 *Solanum* türünde genetik varyasyon düzeyinin belirlenmesinin amaç edinildiği bu çalışmada proje kapsamında geliştirilen SSR markörlerinden sadece 29 tanesi kullanılmıştır. Bu smSSR markörleri toplam 307 allel amplifiye etmişlerdir (Tablo 8). Amplifiye edilen allel sayısı 3 (smSSR42) ile 27 (smSSR3) arasında değişiklik göstermiş olup ortalama markör başına allel sayısı 10.6 olarak belirlenmiştir. Bu ortalama değer patlıcan için yapılan diğer genik (6.7 allel) ve genomik (3.1 allel) SSR çalışmalarından elde edilen allel sayısından daha fazla bulunmuştur (NUNOME ve ark. 2003, STAGEL ve ark. 2008). Ancak, bu iki çalışmada da daha az sayıda ve daha az düzeyde çeşitlilik gösteren patlıcan türleri kullanılmıştır ve ayrıca sadece *Solanum melongena* içerisindeki polimorfizm

düzeyine yoğunlaşmıştır. Bunun yanısıra, sadece *Solanum melongena* tohum örnekleri düşünüldüğünde proje kapsamında geliştirilen smSSR markörlerinin %79 u polimorfik bulunmuştur ve allel sayısı 2 (smSSR21) ile 12 (smSSR3) arasında değişiklik göstermiştir. Toplam 116 allel sekiz adet *Solanum melongena* tohum örneğinde belirlenmiştir (Tablo 8). Bu tohum örnekleri yabani tipler (grup F), yabani ot gibi olan tipler (grup E), ilkel formlar (grup G) ve ileri kültür formlarını (grup H) içermektedir. Sonuç olarak, markör başına ortalama 5 allel bu türlerde belirlenmiştir ve bu değer önceki brinjal patlıcanlarında yapılan SSR çalışmalarında elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir (NUNOME ve ark. 2003, STAGEL ve ark. 2008). Bu markörlerle polimorfizm *S. aethiopicum* ve *S. macrocarpon* ve ayrıca *S. melongena*'nın en yakın akrabası olan *S. incanum* (LESTER ve ark. 1991) gibi diğer kültür patlıcan türlerinde de elde edilmiştir (Tablo 8). Sadece üç adet *S. aethiopicum* ve dört adet *S. macrocarpon* tohum örneği analiz edilmesine rağmen smSSR markörleri önemli düzeyde polimorfizm göstermiştir.

Toplam 80 allel *S. aethiopicum*'da PCR amplifikasyon ürünü oluşturan 25 smSSR marköründen belirlenmiştir. Aynı şekilde, 93 allel *S. macrocarpon*'da PCR amplifikasyon ürünü oluşturan 28 smSSR marköründen belirlenmiştir. Sonuç olarak, markör başına yaklaşık 3.2 allel bu iki kültür patlıcan türünde elde edilmiştir. *S. incanum* yabani türünde markör başına ortalama 6.2 allel gibi iki kat daha fazla allel belirlenmiştir. Allel sayısının daha fazla olması bu yabani türde ve test edilen diğer yabani türlere ait tohum örneklerinin daha yüksek düzeyde genetik çeşitliliğe sahip olduğunu göstermektedir (PROHENS ve ark. 2005). Genel olarak bu sonuçlar smSSR markörlerinin patlıcan'ın yabani akrabalarında ve kültür türlerinde türiçi genetik varyasyon düzeyinin saptanmasında kullanılabileceğini göstermiştir.

Bütün tohum örnekleri incelendiğinde, daha kısa SSR motifleri (dinukleotidler) ve daha uzun SSR markörleri daha fazla sayıda allel belirlenmesi ile ilişkili bulunmuştur. Diğer bir ifadeyle, allel sayısı motif uzunluğu ile negatif olarak ($r = -0.35$, $P = 0.07$) ve toplam SSR primer uzunluğu ile ise pozitif olarak ($r = 0.34$, $P = 0.07$) korelasyon göstermiştir. Bu sonuçla $P=0.05$ seviyesinde istatistikî olarak önemli olmamasına rağmen, patlıcan ve ilgili Solanaceous türlerinde yapılan önceki çalışmalarda gözlenmiş genel bir fenomen göstermesi açısından önemli bulunmuştur. Aslında, STAGEL ve ark. (2008) daha uzun SSR markörlerinin daha fazla bilgi ürettiklerini ve dinukleotid motiflerden elde edilen SSR primerlerinin üçnukleotid motiflerden elde edilen SSR markörlerine oranla daha değişken sonuçlar verdiğini bulmuşlardır. Genomik üçnukleotid SSR markörleri için, NUNOME ve ark. (2003) daha çok tekrar üniteleri olan markörlerin *Solanum melongena* tohum örneklerinde daha yüksek düzeyde polimorfizm gösterdiklerini bulmuşlardır ve yürütülen bu projede ise sadece *Solanum melongena* allelleri düşünüldüğünde, allel sayısı ve hem motif uzunluğu ($r = -0.49$, $P=0.007$) ve hemde toplam uzunluk ($r=0.68$, $P<0.0001$) arasında çok yüksek düzeyde korelasyon belirlenmiştir. SSR polimorfizm açısından benzer sonuçlar domates'te de tutarlı bir şekilde elde edilmiştir (ARESHCHENKOVA ve ark. 1999, SMULDERS ve ark. 1997, HE ve ark. 2003, FRARY ve ark. 2005).

SSR verilerinin patlıcan ve yabani türleri için yapılacak çeşitlilik analizleri için, sekans cihazından elde edilen sinyaller 1-0 datasına dönüştürülmüş ve NTSYS programı (NTSYS-pc versiyon 2.2j) kullanılarak çeşitlilik analizleri yapılmış ve dendogramlar çizilmiştir. NTSYS programı için uygun hale getirilen veriler, programda 1-0 datasına uygun olarak kalitatif veri analizi üzerinden gidilerek, bir sonraki aşamada verilerin çizilen dendrogramla uyumu kıyaslanarak ilk neticeler elde edilmiştir.

Tablo 8. Bütün tohum örneklerinde ve farklı patlıcan türlerinde polimorfik SSR markörleri. Nd = veri yok. Markör amplifiye etmedi.

	# Alleles	# Alleles	# Alleles	# Alleles	# Alleles
SSR	Bütün Tohum Örnekleri	<i>S. melongena</i>	<i>S. aethiopicum</i>	<i>S. macrocarpon</i>	<i>S. incanum</i>
smSSR1	12	11	4	1	9
smSSR3	27	12	11	15	15
smSSR4	23	5	2	9	15
smSSR9	13	3	2	3	8
smSSR11	6	5	5	3	5
smSSR12	5	1	nd	0	2
smSSR14	20	6	0	3	11
smSSR15	4	1	nd	1	2
smSSR16	10	3	3	3	7
smSSR17	7	1	1	2	1
smSSR18	8	1	0	1	4
smSSR19	8	3	3	2	2
smSSR21	4	2	1	2	2
smSSR22	10	3	2	2	6
smSSR24	25	4	3	2	12
smSSR27	6	5	3	3	5
smSSR28	16	4	3	3	13
smSSR29	7	5	5	4	6
smSSR31	10	3	1	1	7
smSSR35	11	1	2	1	6
smSSR36	12	4	3	1	5
smSSR37	5	5	3	3	4
smSSR40	5	3	3	1	4
smSSR41	5	4	3	5	5
smSSR42	3	1	1	1	2
smSSR44	11	4	4	4	4
smSSR45	11	4	3	5	6
smSSR46	11	5	4	6	4
smSSR47	12	7	5	6	9
Toplam	307	116	80	93	181

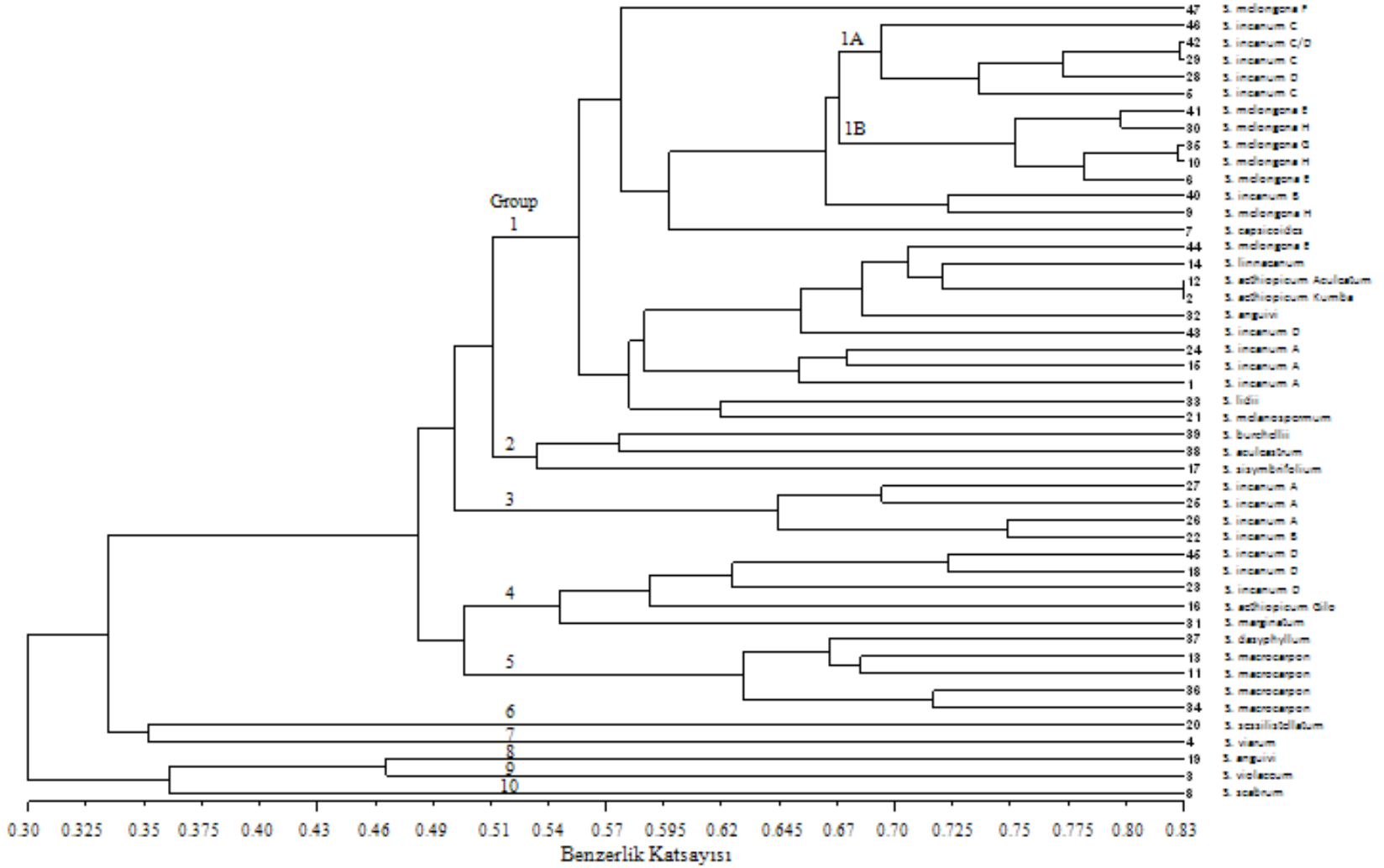
Elde edilen korelasyon değerinin niteliğine göre de filogenetik ağacın güvenilirliği hakkında bilgi sahibi olunmuştur. Genetik analizlere göre, örnek genotipik verilerle elde edilen dendogram arasında oldukça yüksek ($r = 0.88$) bir korelasyon belirlenmiştir ve bu sonuçlar veriler arasında iyi bir uyum olduğunu göstermiştir (MOHAMMADI ve PRASANNA 2003). Şekil 9' de SSR çalışması sonucunda elde edilen dendrogram verilmektedir. Elde edilen dendogramın skalası 0.30 ile 0.83 arasında değişiklik göstermiş olup ortalama benzerlik katsayısı 0.57 olarak belirlenmiştir (Şekil 9). *S.*

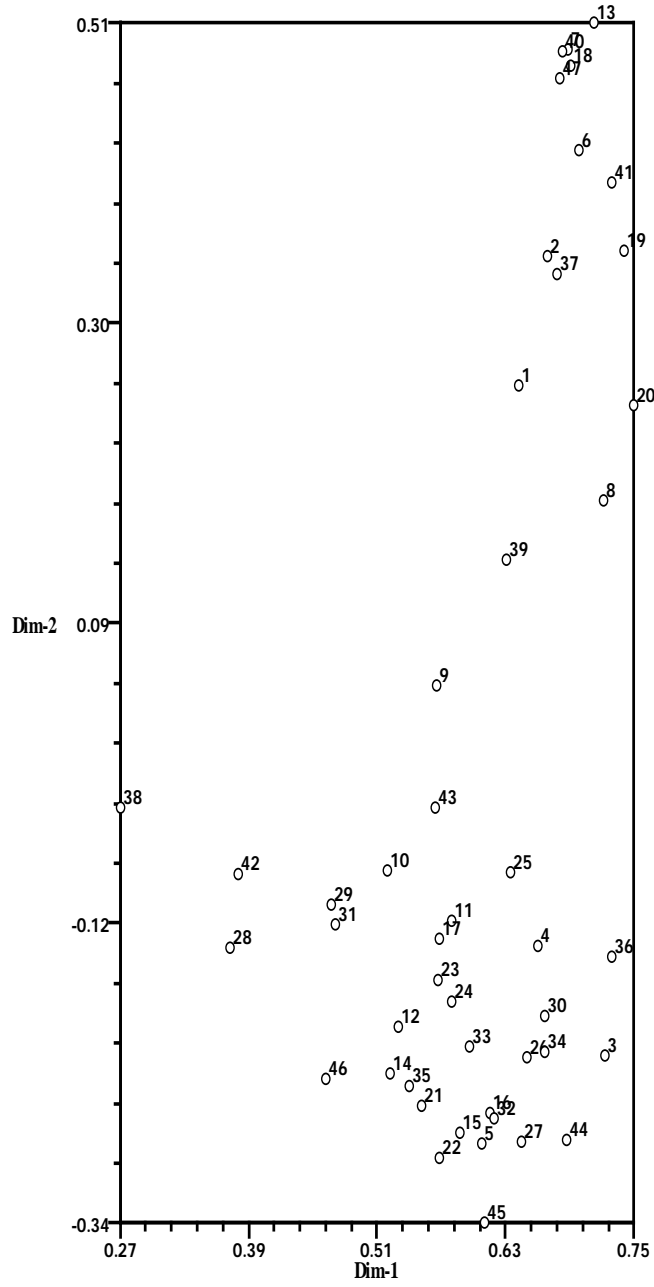
aethiopicum türüne ait iki tohum örneği MM0134 (12. genotip), MM0574 (2. genotip), sırasıyla, *Aculeatum* ve Kumba gruplarına (yuvarlak, düz ve düzensiz çok geniş meyveli iki alt gruptan oluşmaktadır) ait olup en yüksek düzeyde benzerlik göstermiştir (0.83). 0.53 benzerlik katsayısı ile, *Solanum* tohum örnekleri 10 grup içerisine dağılmıştır (Şekil 9). En geniş grup birinci grup olup 25 tohum örneği içermiştir (test edilenlerin yarısı minimum 0.56 benzerlik katsayısına sahip olmuşlardır). Grupların beş tanesinde sadece bir tohum örneği yer almıştır. Bu gruplardan dört tanesinde ise sadece bir tohum örneği analiz edilmiştir: *S. viarum*, *S. violaceum*, *S. scabrum* ve *S. sessilistellatum*. Bu sonuçlar, bu türlerin tek tohum örnekli gruplar ve diğer materyaller arasında sadece ~0,33 maksimum benzerliği olan tohum örneklerinin geri kalan kısmı ile çok uzak akraba ilişkileri olduğunu göstermektedir. İkinci grup tek tohum örnekle temsil edilen üç tür içermektedir: *S. burchellii*, *S. aculeastrum* ve *S. sisymbriifolium* ve ortalama benzerlik katsayısı ~0.54 olarak belirlenmiştir.

Veriler üzerinden ve aynı program kullanılarak yapılan ikinci bir analiz ile temel bileşenler analizi (PCA = Principal Component Analysis) ile dendrogramın iki ve üç boyutlu görüntüleri elde edilmiştir (Şekil 10, 11). Bu analiz ile örneklerin temel bileşenler düzleminde % kaç oranında açıklandığı ise Eigen değeriyle belirlenmiştir. Elde edilen Eigen değerleri, temel bileşenlerin açıklanması açısından iyi sonuçlar vermiştir. SSR verilerinin temel bileşenler analizlerine göre (PCA) birinci, ikinci ve üçüncü komponentler tohum örnekleri arasındaki toplam varyasyonun, sırasıyla, %46.1, %4.63, ve %4.53'ünü açıklamıştır. Şekil 10 ve Şekil 11 da ise temel bileşenler analizi ile elde edilen ve bireylerin iki ve üç boyutlu düzlemlerde durumunu gösteren diyagramlar verilmektedir.

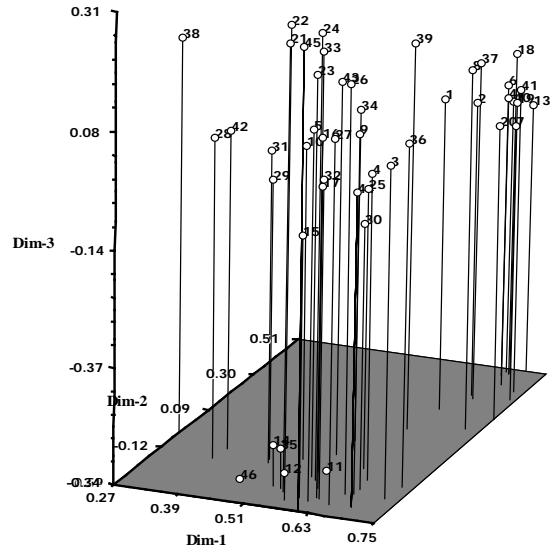
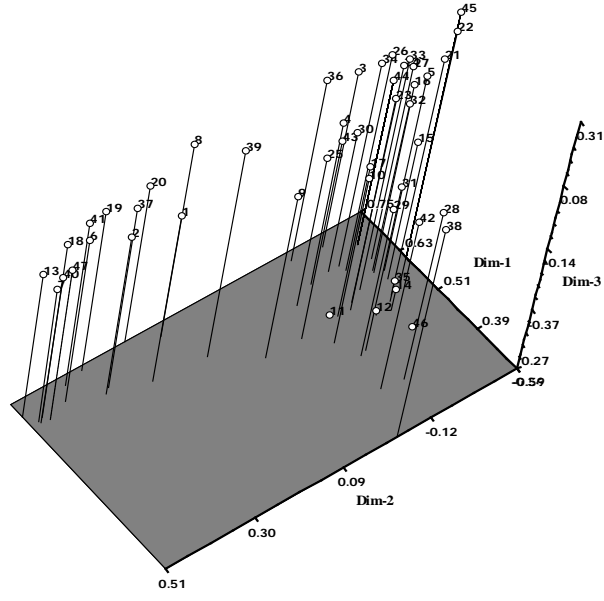
Buna ilaveten, dendrogram içerisindeki gruplar incelendiğinde aynı gruplara düşen bireylerin yüksek oranda aynı türden oldukları da gözlenmiştir. Şekil 9 da bu gruplar gösterilmektedir. Bu durum da hem dataların güvenilirliği hem de daha önceki verilerle uyumu açısından önemlidir. *S. incanum*, *S. melongena* ve *S. macrocarpon* türlerine ait bireyler beklenildiği gibi değişik gruplar oluşturmuştur. *S. incanum* ve *S. melongena* $r = 0.67$ korelasyon değeri ile bir grup oluşturmuştur (Şekil 9; Group 1, 2). Bu sonuç bu iki türün çok yakın türler olması ile açıklanmıştır. Aynı zamanda, benzeri sonuçlar önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir (SAKATA ve LESTER, MACE ve ark. 1999, SINGH ve ark. 2006). Önemli diğer bir nokta ise *S. incanum* türünün bireylerinin farklı gruplar içerisinde yer almasıdır (Şekil 9; Group 1, 4, 6). Bu durum farklı gruplar arasında farklılıklar olduğu gibi gruplar içerisinde de genetik farklılıkların olacağını göstermektedir. Diğer önemli bir grup ise *S. dasyphyllum*'umada içeren *S. macrocarpon* grubudur (Şekil 9; Group 5). LEVIN ve ark. (2006) tarafından *Leptostemonum* clade ile yapılan son filogenetik çalışmalarda bu iki tür yüksek benzerlik değerlerinde aynı clade içerisinde yer almışlardır. Bu gruplarda, aynı türün alt gruplarının da ayrılmış olduğu gözlenmiştir.

Şekil 9. NTSYS software programı kullanılarak smSSR verilerinden elde edilen UPGMA dendrogramı. Örnekler genotip numaralarına (Tablo x) ve tür isimlerine göre işaretlenmiştir. A ve B grupları metinde tanımlanmıştır.





Şekil 10. Yabani türler ve *Solanum melongena*' nin 2 boyutlu temel bileşenler analizi neticesi.



Şekil 11. Yabani türler ve *Solanum melongena*' nin 3 boyutlu temel bileşenler analizi sonuçları.

Aksine, bir, üç, dört ve beşinci gruplar esas olarak *S. incanum* ve kültür patlıcan türleri *S. melongena*, *S. aethiopicum* ve *S. macrocarpon*'a ait çok sayıda tohum örneği içermektedir (Şekil 9). Bu gruplar içerisinde, *S. melongena*, *S. aethiopicum*, *S. macrocarpon* ve *S. incanum* türlerine ait tohum örnekleri daha küçük tür spesifik alt gruplar içerisinde yer almaya meyil göstermiştir. Örneğin, Grup 1A minimum 0.69 benzerlik katsayısına sahip olan ve bu çalışmada kullanılan 17 *S. incanum* türüne ait tohum örneklerinden beş tanesini içerirken, Grup 1B minimum 0.75 benzerlik katsayısına sahip olan ve yine bu çalışmada kullanılan sekiz *S. melongena* tohum örneğinden beş tanesini içermektedir (Şekil 9). Bu gruplamalara rağmen, bu türlerin hiç birisi çoklu tohum örnekleri ile temsil edilmemiştir ve smSSR verileri gruplama analizleri için kullanıldığında kesinlikle monofiletik bir grup oluşturmamıştır.

Üç kültür patlıcan türü ve en yakın yabancı akrabaları düşünüldüğünde, oluşturulan dendogram bazı ilginç ilişkiler göstermiştir. Brinjal patlıcan'ın, *S. melongena*, muhtemel atası *S. incanum* (LESTER ve ark. 1991) olup dendogramda, kullanılan tohum örneklerinin yarısından fazlası *S. melongena*'nında yer aldığı Grup 1 içerisinde kümelenmiştir (Şekil 9). Patlıcan'da kloroplast DNA, izozymes, RAPDs ve AFLP gibi farklı markör sistemleri kullanılarak yapılan çok sayıda moleküler genetik çalışma bu iki tür arasında çok yakın genetik ilişki olduğunu doğrulamıştır (SAKATA ve ark. 1994, ISSHIKI ve ark. 1994, KARIHALOO ve ark. 1995, MACE ve ark. 1999, FURINI ve WUNDER 2004, SINGH ve ark. 2006). *S. melongena* ve *S. incanum* tohum örnekleri minimum benzerlik katsayısı 0.49 (Şekil 9, Grup 3) ve maksimum benzerlik katsayısı 0.67 (Şekil 9, Grup 1A ve Grup 1B) değerine sahip olmuştur. Kıyaslama yapıldığında, *S. melongena* tohum örnekleri arasındaki minimum genetik benzerlik değerinin 0.56 olması dikkat çekici bulunmuştur. Bu nedenle, brinjal patlıcanının bazı tohum örnekleri en yakın yabancı akrabalarına diğer kültür çeşitlerinden çok daha ilişkili bulunmuştur. Örneğin, bir *S. melongena* tohum örneği olan BIRM/S.2458 (9. Genotip) nolu genotipin bir *S. incanum* tohum örneği olan MM1244 (40. Genotip) nolu genotiple diğer *S. melongena* tohum örneklerinden daha yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir. İlaveten, otsu gibi olan tiplerin yanısıra ilkel ve ileri patlıcan formlarını da içeren Grup 1B'deki *S. melongena* tohum örnekleri Grup 1A'da yer alan *S. incanum* tohum örnekleriyle çok daha yakın ilişkili bulunmuştur. Beklenildiği gibi, *S. incanum* türü kültür türü olan *S. melongena*'dan daha fazla genetik çeşitliliğe sahip olmuştur ve *S. incanum* tohum örnekleri arasındaki minimum benzerlik değeri sadece 0.47 dir. Bu sonuç ve bir çok *S. incanum* tohum örneklerinin Grup 1 dışında yer alması (3 ve 4. Gruplarda yer alması) *S. incanum*'un bir yabancı tür kümesi olduğunu ve *S. melongena*'nın tersine evcilleştirme ve ıslah çalışmalarının seleksiyon baskısına maruz kalmadığı gerçeğini ortaya koymaktadır. Bu nedenle, *S. incanum* kültüre alınmış akrabalarına kıyasla daha fazla genetik çeşitliliği muhafaza etmiştir.

S. aethiopicum, kırmızı patlıcan, esas olarak meyve ve yaprakları için Afrika'da kültürü alınmıştır ve *S. anguivi*'den kültüre alınmıştır (LESTER 1997). Proje kapsamında oluşturulan dendogramda, *S. anguivi* tohum örneklerinden birisi (MM0982, 32. Genotip) *S. aethiopicum* tohum örnekleri ile grup oluşturduğu bulunmuştur. Ancak, *S. aethiopicum* Gilo (MM0232, 16. Genotip) ve *S. anguivi* MM1259 (19. Genotip) bu grubun dışında kalmıştır ve birbirinden oldukça uzak olduğu belirlenmiştir. Bu durumda, bu her iki türün test edilen markörler için önemli düzeyde genetik varyasyon sağladıklarını işaret etmektedir. Kırmızı patlıcan ve *S. anguivi* türleri arasında yakın ilişki bir kloroplast (LEVIN ve ark. 2006) ve iki nuklear bölgedeki (KARIHALOO ve ark. 1995) DNA dizi analizleri desteklenmiştir. Proje kapsamında oluşturulan dendogram, *S. aethiopicum* Aculeatum (MM0134, 12. Genotip) ve Kumba (MM0574, 2. Genotip) arasında gözlenen yüksek düzey genetik benzerliğin muhtemelen, LESTER ve NIAKAN (1986)'na göre,

Aculeatum'un orijininin *S. aethiopicum* Kumba ve *S. anguivi* arasında oluşan hibritlerin seleksiyonu ile üretilmesinden dolayı olduğunu ortaya koymaktadır.

Kırmızı, scarlet patlıcanları gibi *S. macrocarpon* veya Gboma patlıcanları yine yaprak ve meyveleri için Afrika'da kültüre alınmıştır ve *S. dasyphyllum*'dan türetilmiştir (LESTER ve NIAKAN 1986). Beşinci Grubun dendogramı bu türler arasında yakın genetik ilişkiler (minimum benzerlik değeri 0.63) olduğunu göstermiştir. Bu grup proje kapsamında kullanılan dört adet *S. macrocarpon* ve *S. dasyphyllum* tohum örnekleri içermektedir. Proje kapsamında bulunan sonuçlar *S. macrocarpon* ve *S. dasyphyllum* türlerinin yüksek benzerlik değeri ile aynı grup (clade) içerisinde yer aldığını ayrıca belirleyen MACE ve ark. (1999) ve LEVIN ve ark. (2006) tarafından doğrulanmıştır.

Proje kapsamında patlıcan genik SSR markörlerinin kullanımı ile oluşturulan dendogram daha önceki yapılan çalışmalarla diğer benzerliklere sahip bulunmaktadır. Genelde, kültür patlıcanları ve en yakın yabancı akrabaları birbirleri ile diğer yabancı türlere göre çok daha yakın ilişkilidirler. Bu nedenle, *S. melongena* ve *S. aethiopicum* ~0.70 değerinde bir maksimum benzerliğe sahipken *S. macrocarpon* diğer iki tür ile ~0.49 değerinde bir maksimum benzerliğe sahip bulunmaktadır (Şekil 9). Bu üç kültüre alınmış patlıcan türü arasındaki yakın genetik ilişkiler *Solanum* genusu içerisinde yapılan filogenetik çalışmalarda da ayrıca görülmüştür (FURINI ve WUNDER 2004, WEESE ve BOHS 2007, SAKATA ve LESTER 1997). smSSR verilerine göre, *S. linnaeanum* türü *S. aethiopicum* ile yakın genetik ilişki göstermiştir (Şekil 9). Bu sonuç *Solanum* filogenetiği üzerinde AFLP markörleriyle çalışan FURINI ve WUNDER (2004) tarafından da gösterilmiştir. Ancak, benzer sonuçlar nükleer ve kloroplast dizilerini çalışan LEVIN ve ark. (2006) tarafından gösterilememiştir.

Bitki ıslahçıları için, çapraz uyumluluk türler arasında yakın bir genetik ilişkinin olduğunun kesin kanıtıdır ve moleküler veriler her zaman uyumluluk verileriyle birebir tutmaz. Örneğin, proje kapsamında, *S. sessilistellatum* ve *S. melongena* kolayca çapraz uyumlu türler (DAUNAY ve ark. 1999) olmasına rağmen 0.33 gibi düşük benzerlik değeri göstermiştir (Şekil 9). Aksine, brinjal patlıcanı *S. melongena* *S. aculeastrum* ve *S. sisymbriifolium* yabancı türleriyle seksüel olarak kesinlikle uyumlu olmamasına rağmen (DAUNAY 2008) bu türlerle 0.50 gibi yüksek sayılabilecek bir değerde benzerlik göstermiştir. Sonuç olarak, moleküler verilere dayalı gruplama analizleri önemli ölçüde seçilen markör tipine ve sayısına ve test edilecek bitki tohum örneğine bağlı bulunmaktadır. Türler/tohum örnekleri arasındaki genetik ilişkilerin yorumu analizleri yapan araştırmacıların (ıslahçı, taksonomist ve moleküler genetikçi) bakış açısına bağlı olarak değişiklik arz etmektedir. Bu nedenle bu tip analizlerin dikkatli yapılması gerekmektedir.

4.2. Patlıcan'da yüksek çözünürlükte kıyaslamalı genom haritasının AFLP, SSR, COSII moleküler işaretleyicileri ile geliştirilmesi.

4.2.1. AFLP Analizleri

Patlıcan (*Solanum melongena*) önemli bir Akdeniz Bölgesi bitkisi olup domates, biber ve patates gibi ekonomik ve bilimsel öneme sahip diğer ürünlerle yakın ilişkilerinden dolayı bitki genetikçilerinin dikkatini çekmiştir. Bir biriyle akraba türler arasındaki sekanz, gen ve genom seviyesindeki korunmanın derecesi anlaşıldığında, bu türlerden bazıları için oluşturulan genetik araçlar ve bilgilerden (özellikle domates için) hızlı bir gelişim gösteren patlıcan genetiği için daha iyi faydalanılabilecektir. Ayrıca, bu bilgiler genom organizasyonu ve evrim hakkında bazı ipuçlarında verecektir. Günümüzde, yüksek çözünürlükte moleküler genetik bağlantı haritaları domates (FULTON ve ark. 2002) ve biber (LIVINGSTONE ve ark. 1999) için mevcuttur. Fakat, benzeri bir kaynak patlıcan için henüz yeterli düzeyde hazır değildir.

Projenin bu alt konusunun mevcut RFLP (restriction fragment length polymorphism) işaretleyicilerine dayalı düşük çözünürlükteki haritaya PCR'ya dayalı yeni moleküler işaretleyicilerin eklenmesiyle patlıcan için yüksek çözünürlükte moleküler genetik bağlantı haritasının oluşturulması esas olarak amaçlanmıştır. Bu amacı gerçekleştirmek için orijinal haritanın oluşturulduğu patlıcan F₂ haritalama popülasyonunda (*S. linnaeanum* x *S. melongena*) üç değişik tip PCR işaretleyicileri kullanılmıştır. Bunlar arasında AFLP (amplified fragment length polymorphisms), SSRs (simple sequence repeats) ve COSII (conserved orthologous set) işaretleyicileri yer almıştır. Bu üç tip PCR'a dayalı işaretleyici sistemleri kullanımlarındaki kolaylık, yeniden üretilebilirlikleri ve sınırlı kaynaklara sahip olan ıslah programlarına uygunluğu nedeniyle seçilmişlerdir. Bununla beraber, bu işaretleyicilerin tamamı ayrıca domates genomunda da haritalanmıştır. PCR işaretleyicilerin ayrıca biber ve patates'te de çalıştıkları rapor edilmektedir. Böylece seçilmiş bazı işaretleyiciler Solanaceae'de genom evrimi ile ilgili türler arası kıyaslamalara imkan vereceği düşünülmüştür.

Projenin bu kısmını gerçekleştirmek için öncelikle orijinal genom haritalama popülasyonunun DNA kalitesi ve miktarı tespit edilmiştir. F₂ haritalama (*S. linnaeanum* x *S. melongena*) popülasyonu ve anaçlara ait DNA'lar 2001 yılında yapılan çalışmalar sırasında çıkarılmıştır. Uzunca bir zamandır -20 C'de depolanan DNA'ların kalite ve miktarlarının kontrolü için enzimle kesilen ve kesilmeyen örnekler hazırlanmıştır. Her örnek için 3 µl DNA kullanılmıştır. DNA'ya ilaveten, enzimle kesilen digest ürünü 5U HindIII, 1x buffer, 4 mM spermidine ve 1 mM DTT içermiştir. Digest edilen ürün 37°C'de bütün gece tutulmuştur. Yükleme boyası eklendikten sonra, örnekler 0.9% agarose NEB (neutral electrophoresis buffer) jelde ve 70V'ta lambda DNA miktar belirleme standardı ile yürütülmüştür. Bu çalışma sonunda F₂ ve anaçlara ait DNA'ların uzun depolama sürecinden etkilenmedikleri ve çok iyi kalite oldukları belirlenmiştir. DNA miktarı yaklaşık 250 µg/olarak belirlenmiştir. PCR reaksiyonunda kullanılmak üzere 1/10 dilüsyonu hazırlanmıştır.

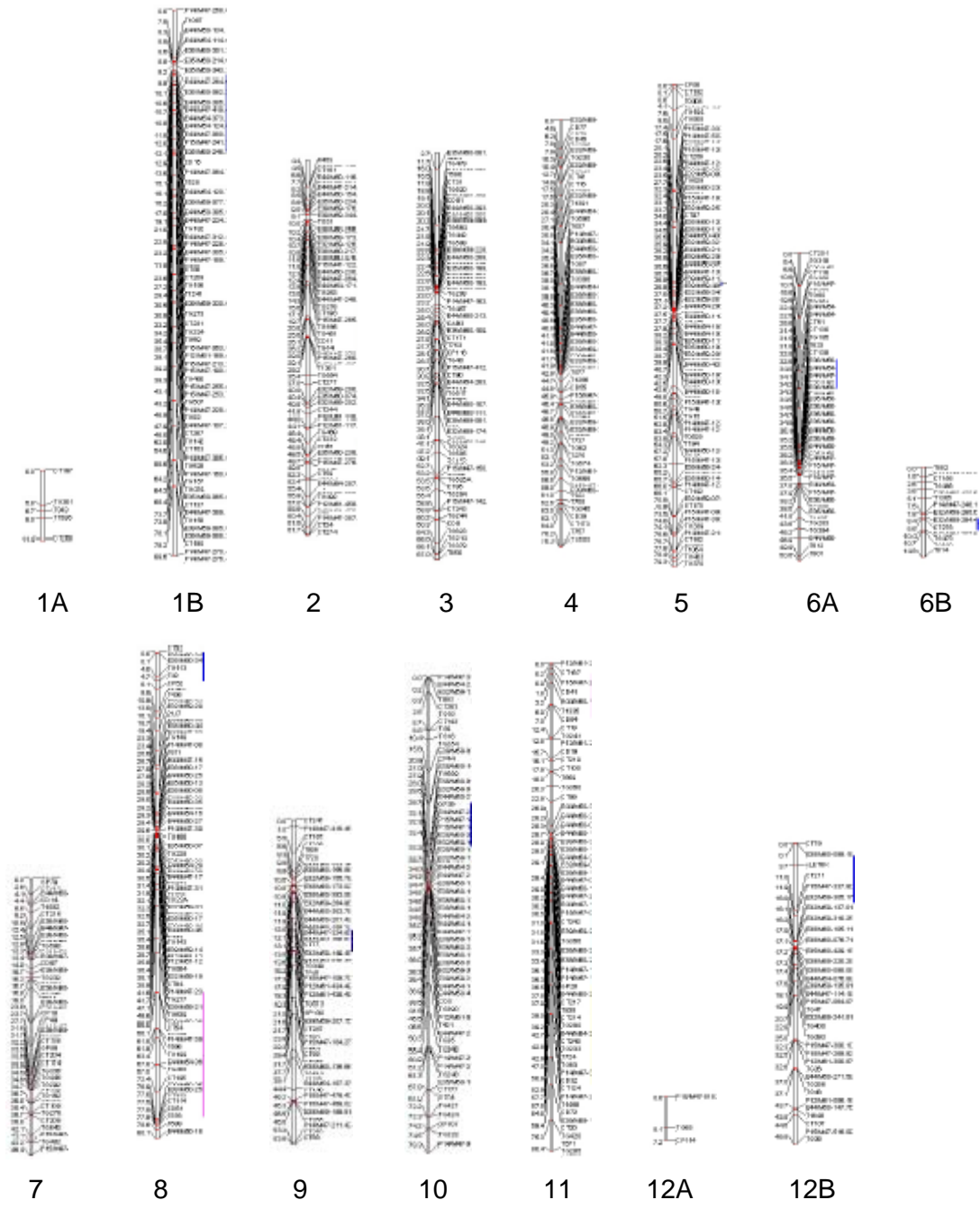
İkinci olarak projede öngörülen AFLP analizleri için F₂ popülasyonu ve anaç DNA'ları Keygene-Hollanda firmasına gönderilmiştir. Yapılan anlaşma gereği Keygene firması AFLP analizlerini gerçekleştirmiş ve elde edilen genotipik verileri tarafımıza göndermiştir. Elde edilen genotipik data'lar daha önceden yayınlanmış olan RFLP haritası (DOGANLAR ve ark. 2002) ile entegre edilmiştir. Yabani bir patlıcan türü olan *Solanum linnaeanum* ile kültür edilmiş patlıcan türü *S. melongena* nın çaprazlanması ile elde edilmiş toplam 58 F₂

bitkisinden oluşan genom haritalama populasyonu AFLP analizleri için kullanılmıştır. AFLP analizleri için VOS ve ark. (1995) tarafından tanımlanan protokol kullanılmıştır. Genetik haritanın oluşturulmasında CarteBlanche bilgisayar programı (KEYGENE - Hollanda) kullanılmıştır. Toplam 404 AFLP lokusu 15 linkage (bağlantı) grubunda haritalanmıştır. Elde edilen AFLP verileri RFLP işaretleyicileri ile birleştirildiğinde son harita toplam 729 işaretleyici lokus içermektedir. Bağlantı gruplarından 12'si her bir patlıcan kromozomunu temsil eden temel linkage grubu olarak tanımlanmıştır ve her bir linkage grubu en az 34 işaretleyici lokus içermektedir. Aynı zamanda, 3-15 işaretleyici lokus içeren üç adet küçük linkage gruplarında tanımlanmıştır (Tablo 9). Elde edilen

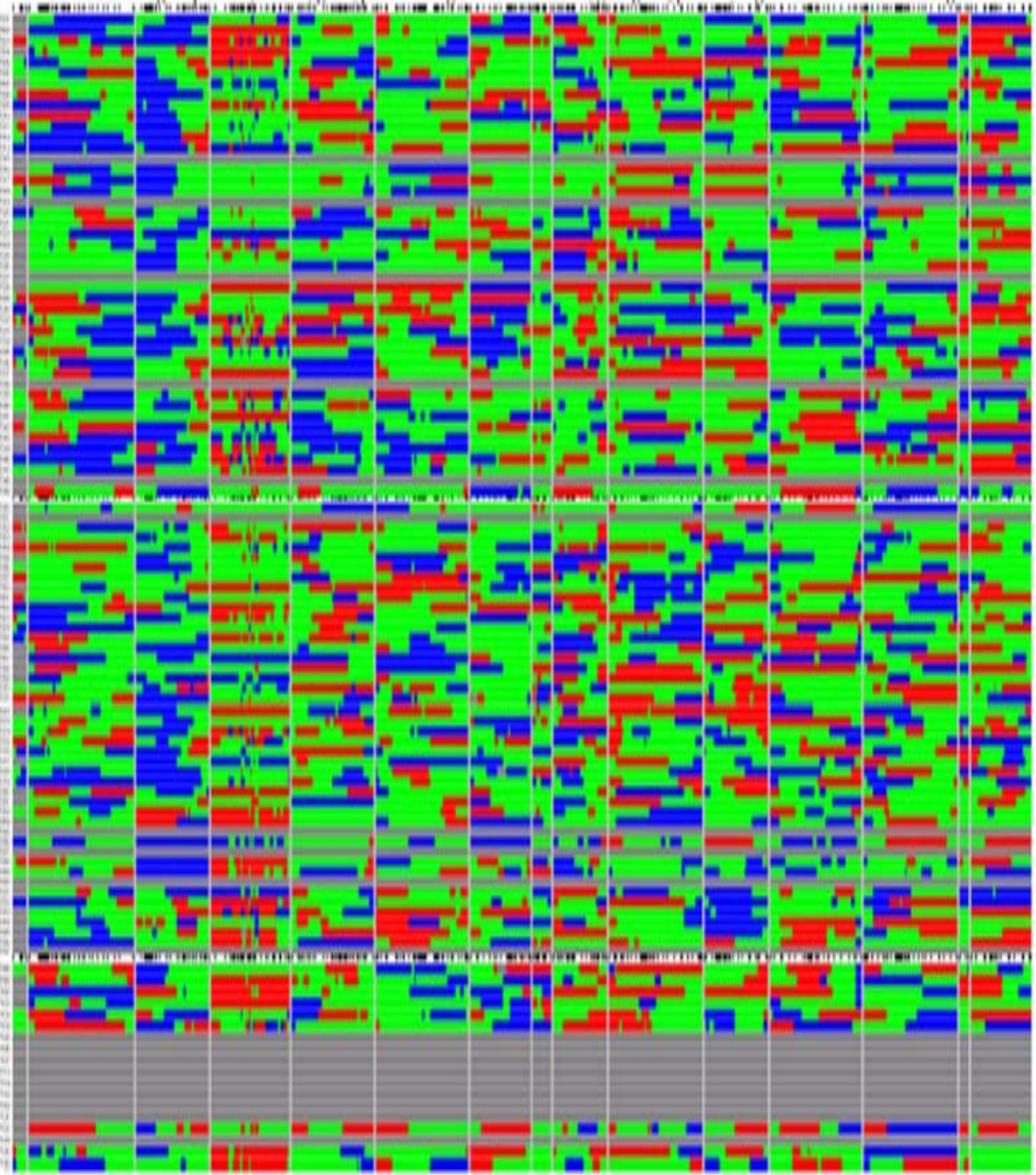
Tablo 9. Patlıcan Linkage grupları, moleküler işaretleyicilerin sayısı ve her bir linkage grubunun uzunluğu.

Linkage grubu	Moleküler işaretleyicilerin sayısı	Linkage Gruplarının Uzunlukları (cM)
1A	5	11.4
1B	65	89.6
2	63	61.7
3	65	67.0
4	64	70.3
5	84	79.3
6A	46	50.6
6B	15	14.8
7	45	45.4
8	74	80.1
9	47	53.6
10	60	78.3
11	59	80.4
12A	3	7.2
12B	34	49.5
Total	729	839.2

Linkage gruplarının sayısı patlıcan kromozom sayısı (N=12) ile uyum göstermemektedir. Buna karşın, küçük linkage grupları en sonunda yapılacak ve eklenecek diğer ekstra işaretleyici lokuslar neticesinde 12 temel gruba bağlanacakları beklenmektedir. Şekil 12 toplam 839 cM' yi kapsayan patlıcan linkage haritasının son halini göstermektedir. Aynı zamanda, herbir F2 bireyinin herbir işaretleyiciye dayalı genotipleri belirlenmiş ve grafiksel olarak Şekil 13 de sunulmuştur. Mavi renkli bölgeler homozigot *S. linnaeanum* genotipini, kırmızı bölgeler homozigot *S. melongena* genotipini ve yeşil bölgeler de heterozigot genotipleri belirtmektedir. Bu sonuçların analizleri bazı işaretleyicilerin bazı bölgelerde meyilli dağılım gösterdiklerine işaret etmektedir. Örneğin, ikinci linkage grubu fazlaca *S. melongena* genotipi gösterirken, üçüncü linlage grubu *S. linnaeanum* genotipinde bir fazlalığa sahipti bulunmaktadır. Bu tarz meyilli dağılımlara genellikle türler arası populasyonlarda rastlanmaktadır ve bazı kromozomal bölgelerinde belirli genotiplerin seçiliminin bir neticesi olabilmektedir.



Şekil 12. 15 linkage (bağlantı) grubunda AFLP ve RFLP işaretleyicilerinin yerlerini gösteren patlıcan genetik bağlantı haritası. Herbir linkage grubunun sol tarafında gösterilen mesafeler centiMorgans birimindedir.



1A 1B 2 3 4 5 6A 6B 7 8 9 10 11 12A 12B

Şekil 13. Patlıcan genetik linkage haritasının oluşturulmasında kullanılan 108 F2 bitkisinin genotiplerinin grafiksel gösterimi. Mavi bölgeler = homozigot *S. linnaeanum* genotipi; kırmızı = homozigot *S. melongena* genotipi; yeşil= heterozigot genotip; gri = veri yok.

Patlıcan genomu için yüksek çözünürlükte bir AFLP-RFLP haritası oluşturulmuştur. Bu harita daha önceki RFLP haritasına oranla üç kat daha fazla işaretleyici lokus içermektedir ve 12 kromozomun hepsini de kapsayacak şekildedir. Oluşturulan AFLP-RFLP patlıcan haritası, patlıcanla veya diğer Solanaceae bitkileriyle ilgilenen araştırmacılar için çok değerli bir moleküler kaynak ve araç olacaktır. Patlıcan ıslahçıları bu haritayı tarımsal açıdan önemli karakterleri kontrol eden genlerin daha doğru bir şekilde genom haritasına yerleştirilmesinde ve bu karakterlerin işaretleyici yardımıyla seleksiyonunda ve ıslahında kullanabileceklerdir. Solanaceae ile ilgili evrimsel çalışmalar da familyadaki sebzelerin artık tümünün AFLP haritaları varolduğundan kolaylaşacaktır. Harita, ayrıca, patlıcan ve diğer türler arasında daha kapsamlı karşılaştırmalı genetik analizlerin yapılmasına olanak sağlayacaktır. Böylece, proje ile oluşturulan harita, bundan sonrasında pekçok kullanıma yönelik olacaktır.

4.2.2. SSR Analizleri

Patlıcan moleküler genetik bağlantı haritasının çözünürlüğünü arttırmak için SSR işaretleyicileride kullanılmıştır. Bu amaç için mevcut SSR markörleri polimorfizmi belirlenmesi için aynı anaç DNA'lar ile test edilmiştir. Projenin başlatıldığı tarih olan 2004 yılında gerek patlıcan ve gerekse Solanaceae ailesinin diğer üyeleri içinde geliştirilmiş SSR markölerinin sayısı oldukça sınırlı düzeydedir. Ancak, o tarihler içerisinde domates için geliştirilmiş 36 adet SSR işaretleyicisi (FRARY ve ark. 2005) *S. melongena* MM738 ve *S. linnaeanum* MM195 arasında polimorfizm için test edilmiştir. Test edilen 36 SSR marköründen sadece dördü 3%'lük kısmı agarose jelde net polimorfizm göstermiştir (Table 10). Sekiz SSR işaretleyicisi çok küçük PCR ürünleri verdiği için agaroz jelde ayrıştırılamamış ve dolayısıyla genom haritalama çalışmalarında kullanılamamıştır.

Tablo 10. Patlıcan anaçlarında test edilen SSR işaretleyicileri. Klasik agarose jelde net polimorfizm gösteren SSR'lar aasterisk (*), sadece dizi analiz sistemi ile ayrıştırılabilecek SSR'lar ise caret (^) işareti ile işaretlenmiştir.

SSR Markörleri	Tekrar Motifleri	Anneal. Temp.	Ürün Büyüklüğü (bp)	
			<i>S.melongena</i>	<i>S.linnaeanum</i>
SSR11	(CAG) ₆	50°C	250	250
SSR111^	(TC) ₆ (TCTG) ₆	55°C	200	195
SSR117^	(TC) ₁₁	50°C	295	290
SSR128	(CAG) ₆ (CAA) ₃ (CAG) ₇	50°C	100	100
SSR135	(ATT) ₆	55°C	130	130
SSR136	(CAG) ₇	55°C	140	140
SSR14	(ATA) ₉	50°C	150	150
SSR150	(CTT) ₇	50°C	220	220
SSR156	(TCT) ₇	50°C	170	170
SSR192	(ATC) ₆	50°C	1400+700	700
SSR20^	(GAA) ₈	50°C	900+110	900+700+210+115
SSR223	(TCT) ₇	50°C	220	220
SSR248	(TA) ₂₁	50°C	220	220
SSR26	(CGG) ₆	50°C	520+180	600+520+180
SSR270	(GAA) ₅ (GGAGAA) ₇	50°C	300	300
SSR300^	(TTC) ₁₀	50°C	700	705
SSR301*	(TTGGT) ₂ (TA) ₁₅	50°C	500+490	500+290
SSR32	(TTC) ₇	50°C	190	190
SSR34	(GA) ₇ (TCGA) ₂	55°C	190	190

SSR350	(AT) ₁₃	50°C	200	200
SSR356*	(AT) ₂₀	50°C	800	600+150
SSR38^	(TCT) ₈	50°C	990+700	980
SSR40	(AC) ₇ (GC) ₇	55°C	160	160
SSR43	(TAC) ₇	55°C	250+200	250+200
SSR46*	(AT) ₁₄	55°C	400+370	380
SSR47^	(AT) ₁₄	50°C	400+220+faint	350+210
SSR51*	(ACAA) ₆	50°C	700+650+350	1600+650+350
SSR578	(AAC) ₆ (ATC) ₅	50°C	300	300
SSR586	(AAC) ₆	50°C	280	280
SSR593	(TAC) ₇	50°C	210	210
SSR594^	(TCT) ₈	50°C	300	295
SSR66	(ATA) ₈	50°C	180	180
SSR70	(AT) ₂₀	50°C	800+530+400+ 320+200	530+390
SSR80^	(TTTCAA) ₂ (GTACAA) ₂ (CA A) ₇	50°C	180	185
SSR85	(TAA) ₇	50°C	200	200
SSR96	(AT) ₁₂	55°C	290	290

Domates sekanzlarından türetilen SSR işaretleyicilerine ilaveten, patlıcana özgün DNA dizilerinden NUNOME ve ark. (2003) tarafından geliştirilen bir grup SSR işaretleyicileri (EM-SSR markörleri) patlıcan anaç DNA'larında polimorfizm için ayrıca testlenmiştir. Toplam 23 tane olan EM-SSR'ları bir patlıcan genomik DNA kütüphanesinden belirlenmiştir. Toplam sekiz adet EM-SSR markörü orijinal patlıcan F2 haritalama populasyonunda haritalanmıştır. PCR reaksiyon komponentleri ve amplifikasyon şartları domates SSR'larındaki gibidir ancak tek farklılık annealing sıcaklığı 60°C'ye çıkarılmıştır. Bütün EM SSR'ları *S. melongena* MM738 ve *S. linnaeanum* MM195 anaçlarında test edildiklerinde her iki anaçta da tek parça PCR ürünü vermişlerdir. 3%'lük agarose TAE jelinde elektroforez edildiklerinde işaretleyicilerden 10 tanesi her iki anaç arasında net ve farkedilebilir bir polimorfizm vermişlerdir (Tablo 11). İki adet EM-SSR işaretleyicisi klasik agaroz jelde polimorfik gibi görünmektedir ancak bu işaretleyiciler birbirine çok yakın büyüklükte PCR ürünleri oluşturdukları için agaroz jelle ayrıştırılamamıştır.

Tablo 11. Patlıcan anaçlarında test edilen EM-SSR işaretleyicileri. Klasik agarose jelde net polimorfizm gösteren SSR'lar aasterisk (*), sadece dizi analiz sistemi ile ayrıştırılabilecek SSR'lar ise caret (^) işareti ile işaretlenmiştir.

Marker	Repeat Motif	Product Size (bp)	
		<i>S. melongena</i>	<i>S. linnaeanum</i>
EM104	(TC) ₉ (AC) ₃₈ (AT) ₁₉	240	240
EM107	(AC) ₁₃ (AT) ₇	200	200
EM114	(AC) ₁₃	220	220
EM116	(AC) ₁₂ (AT) ₈	240	240
EM117*	(AC) ₁₉ (AT) ₁₁	140	120
EM119*	(GGAGG) ₅ ...(AT) ₈ (GT) ₃ AT(GT) ₁₄	200	180
EM120*	(AC) ₁₆	200	240
EM126	(AT) ₇ (GT) ₁₈	210	210
EM127	(AC) ₁₃ (AT) ₁₃	215	215
EM128	(CA) ₂₆ (TA) ₁₉	220	220
EM131^	(AT) ₅ (AC) ₃ A(AC) ₁₄ ...(TG) ₅ (TA) ₃	220	220
EM133*	(AC) ₁₃ (AT) ₄	180	200
EM134^	(GT) ₂ GC(GT) ₆	170	170
EM135*	(CA) ₁₁ (GA) ₂₀	280	260

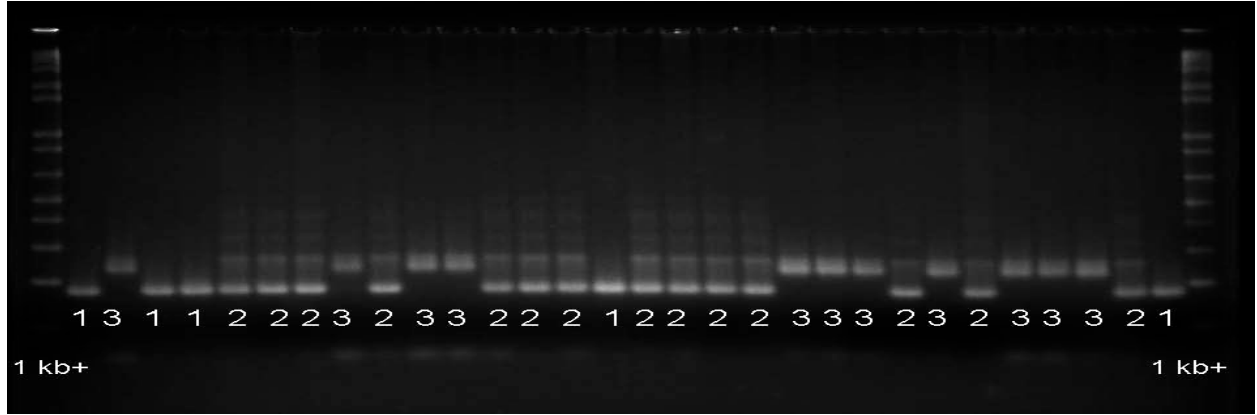
EM139	(AC) ₆ AT(AC) ₁₁ (AT) ₁₀	270	270
EM140*	(AC) ₄ GC(AC) ₅ T...(AC) ₆ (AT) ₅ G(TA) ₁₃	270	210
EM141*	(AT) ₁₆ (GT) ₁₉	200	180
EM145*	(TACA) ₄ TA(TACA) ₄ ...(TA) ₃ (TTAA) ₃	370	350
EM146*	(AC) ₁₉ (AT) ₁₁ AC(AT) ₂	280	220
EM151*	(TG) ₃ TA(TG) ₈ (TA) ₆	160	160
EM155^	(CT) ₃₈	240	240
EM157	(AC) ₁₁ (AT) ₈	240	240
EM162	(CA) ₅	160	160

Şekil 14 bazı EM-SSR markörleri ile ve 15 ise EM-SSR133 yapılan polimorfizm testleme sonuçlarının agaroz görüntülerini vermektedir. *S. melongena* ve *S. linnaeanum* anaç DNA'ları SM ve SL olarak kısaltılmıştır. EM-SSR 133, 135, 145, 146 ve 151 net ve açık polimorfizm göstermektedir. EM-SSR 155 ise klasik agarose jelde polimorfik gibi görünmekte ancak çok net polimorfizm vermemektedir. Moleküler standart olarak 1 kb+ ladder kullanılmıştır.



Şekil 14. Bazı EM-SSR işaretleyicileri kullanılarak yapılan anaç polimorfizm çalışması (3% agarose, TAE) örneği.

Şu ana kadar yapılan SSR çalışmalarını özetlemek gerekirse, test edilen 59 SSR işaretleyicisinden 14 (%24) adeti 3%'lük TAE agarose jelde elektroforez edildiklerinde net ve açık anaç polimorfizmi göstermişlerdir. Polimorfik bulunan EM-SSR markörlerinden sekiz tanesi (EM117, EM120, EM133, EM135, EM140, EM141, EM145, EM146, EM151); domates SSR markörlerinden ise beş tanesi (SSR47, SSR117, SSR192, SSR301, SSR356) F2 haritalama popülasyonunda test edilmiş ve haritalanmıştır (Tablo 12). Şekil 15 haritalanan EM-SSR işaretleyicilerinden biri olan EM133'ün bir grup F2 popülasyonu üzerindeki açılımını göstermektedir. Bu SSR markörünün DOĞANLAR ve ark. (2002) tarafından oluşturulan RFLP'ye dayalı patlıcan moleküler genetik haritasına yerleştirmek için Mapmaker bilgisayar programı kullanılmıştır (LANDER ve ark. 1987).



Şekil 15. 30 bitkiden oluşan F₂ haritalama popülasyonunda EM-SSR133 işaretleyicisinin açılımı. Üç genotipik sınıf kolaylıkla ayrılabilir. Homozigot *S. melongena* alleli 1 ile, homozigot *S. linnaeanum* alleli 3 ile ve heterozigotlar ise 2 ile işaretlenmiştir.

Tablo 12. Patlıcan anaçlarında test edilen domates orijinli SSR işaretleyicileri, tekrar motifleri ve ürün uzunlukları. Klasik agarose jelde net polimorfizm gösteren SSR'lar aasterisk (*) ile işaretlenmiştir.

SSR markörleri	Polimorfizm durumu	Bağlantı Grubu (LG)	SSR markörleri	Polimorfizm durumu	Bağlantı Grubu (LG)
SSR004	Polimorfik Değil		EM117	Polimorfik	LG4
SSR019	Polimorfik Değil		EM135	Polimorfik	LG11
SSR022	Polimorfik Değil		EM131	Polimorfik Değil	Polimorfik Değil
SSR027	Polimorfik Değil		EM141	Polimorfik	LG4
SSR044	Polimorfik Değil		EM145	Polimorfik	LG4
SSR045	Polimorfik Değil		EM146	Polimorfik	LG5
SSR052	Polimorfik Değil		EM151	Polimorfik Değil	Polimorfik Değil
SSR067	Polimorfik Değil		EM120	Polimorfik	LG2
SSR069	Amplifikasyon Yok		EM130	Polimorfik	LG2
SSR076	Polimorfik Değil		EM140	Polimorfik	LG9
SSR115	Zayıf Amplifikasyon		SSR20	Polimorfik Değil	Polimorfik Değil
SSR124	Polimorfik Değil		SSR46	Polimorfik Değil	Polimorfik Değil
SSR146	Polimorfik Değil		SSR47	Polimorfik	LG10
SSR155	Polimorfik Değil		SSR51	Polimorfik Değil	Polimorfik değil
SSR188	Zayıf Amplifikasyon		SSR117	Polimorfik	LG1

SSR192*	Polimorfik	LG7	SSR192	Polimorfik	LG7
SSR218*	Polimorfik	Polimorfik	SSR218	Polimorfik Değil	Polimorfik Değil
SSR222	Polimorfik Değil		SSR356	Polimorfik	LG12
SSR231*	Polimorfik	Polimorfik	SSR450	Polimorfik Değil	Polimorfik Değil
SSR237	Zayıf Amplifikasyon		SSR301	Polimorfik	LG7
SSR241	Polimorfik Değil		SSR557	Polimorfik Değil	Polimorfik Değil
SSR244*	Polimorfik	Polimorfik	SSR306	Polimorfik Değil	Polimorfik Değil
SSR285	Polimorfik Değil		SSR603	Polimorfik Değil	Polimorfik Değil
SSR306*	Polimorfik	Polimorfik	SSR383	Polimorfik Değil	
SSR308	Zayıf Amplifikasyon		SSR450*	Polimorfik	Polimorfik
SSR310	Polimorfik Değil		SSR478	Polimorfik Değil	
SSR316	Polimorfik Değil		SSR557*	Polimorfik	Polimorfik
SSR320	Polimorfik Değil		SSR590	Polimorfik Değil	
SSR327	Zayıf Amplifikasyon		SSR603*	Polimorfik	Polimorfik
SSR344*	Polimorfik	Polimorfik	SSR605	Polimorfik Değil	
SSR349	Polimorfik Değil		SSR638*	Polimorfik	Polimorfik

4.2.3. CosII Analizleri

COSII işaretleyicileri PCR amplifikasyonu sonucu PCR ürünlerinin üretilmesi ve genelde bu ürünlerin bir restriksiyon enzimi ile kesilmesi ile polimorfizm sağlayan CAPs şeklindeki işaretleyicilerdir. Digest edilen PCR ürünleri TAE tamponu ile hazırlanmış 2-3%’lük agarose jelde ayrıştırılmıştır. Haritalama popülasyonunun anaçları ile yapılan polimorfizm testlemelerinde toplam 400 civarında COSII markörü testlenmiştir. Polimorfik bulunan 160 COSII marköründen 17 tanesi (%11) direkt PCR ürünlerinin farklı büyüklükte olmasından dolayı polimorfik bulunmuşlardır. Diğer PCR ürünleri için aralarında *DraI*, *HinfI*, *RsaI*, *AluI*, *TaqI* ve *EcoRI* gibi bir grup restriksiyon enzimi kullanılarak anaçlar arasında polimorfizm belirlenmiştir. Tablo 13 çalışmada testlenen ve polimorfik bulunan COSII markörlerini, PCR büyüklüklerini ve polimorfizm sağlayan restriksiyon enzimlerin listesini ve haritalanan markörlerin bağlantı gruplarını vermektedir. Tablo 14 ise mevcut patlıcan moleküler genetik bağlantı haritasında haritalanan moleküler işaretleyicilerin son durumunu göstermektedir. Şekil 16 patlıcan genetik bağlantı haritasında RFLP ve COSII işaretleyicilerinin her bir kromozomdaki yerlerini göstermektedir.

Tablo 13. Çalışmada kullanılan ve polimorfik bulunan COSII markörleri ile ilgili bilgiler

COSII Markörleri	PCR Ürün Büyüklüğü (<i>Solanum linnaeanum</i>)	PCR Ürün Büyüklüğü (<i>Solanum melongena</i>)	Polimorfik Enzim	Bağlantı Grubu
C2At1g19630	900+800+500+300	900+800+500+300	Hind III	?
C2At4g34700	-	-	HincII	?
C2At4g35250	400	400	BsuRI	?
C2At1g23890	400	400	HpaI	?
C2At4g00560	900+850+700+500	900+700+500	MspI	?
C2At5g13700	700	700	HinfI	?
C2At4g26680	400	400	VspI	?
C2At1g30580	900	1300	HhaI	?
C2At1g14810	400	400	BseGI	?
C2At1g07360	850	1500	PCR	?
C2At5g40530	200	200	RsaI	?
C2At2g32950	400	400	Bme1390I	?
C2At1g05350	300	300	MspI	?
C2At5g13660	850	850	BseDI	?
C2At3g12300	1500+700	1500	PCR	?
C2At4g35250	400	400	BsuRI	?
C2At5g25760	1000+900	1000+900	HinfI	?
C2At5g11480	300	200	PCR	?
C2At4g39660	600	500	PCR	?
C2At4g27700	300	400	PCR	?
C2At4g49970	400+200	400+200	TaqI	?
C2At2g32950	600	600	Bme1390I	?
C2At5g62390	500	500	HinfI	?
C2At3g17040	500	500	AluI	?
C2At2g03510	500	500	TaqI	?
C2At2g47580	500	700+500	PCR	?

C2At2g01720	450	500	PCR	?
C2At3g04870	500+200	700+500+150	PCR	?
C2At2g43360	900	900	BseGI	?
C2At3g17000	850+550	800+550+350	PCR	?
C2At1g19140	900	900	AluI	?
C2At3g12290	300	300	Mph1103I	?
C2At2g15890	900+400+300	900+400+300	BseGI	?
C2At5g35360	500	500	TaqI	?
C2At1g60640	450	450	RsaI	?
C2At5g13700	800	800	HinFI	?
C2At4g33360	500	500	Csp6I	?
C2At5g51970	700	700	BglIII	1
C2At1g14810	470	470	TaqI	1
C2At3g06580	1400	1400	HinFI	1
C2At3g23590	500	500	DpnII	1
C2At3g12630	350	350	CfoI	1
C2At5g13700	650	650	RsaI	1
C2At4g00740	300	300	TaqI	1
C2At5g09580	700	700	CfoI	1
C2At3g18860	1100	1100	SspI	1
C2At3g51510	320	320	Tsp509I	2
C2At3g56210	300	300	NlaIII	2
C2At5g45760	1500	1500	CfoI	2
C2At2g34560	700	700	DpnII	2
C2At4g04955	400	450	PCR	2
C2At1g11380	260	260	TaqI	2
C2At1g11430	900	900	BglIII	2
C2At2g18030	1400	1400	AccI	2
C2At5g67370	400	400	ApoI	2
T1480	1300	1300	BclI	2
C2At3g01480	700	700	ApoI	2
C2At3g26900	850	850	DdeI	2
C2At3g27310	450	450	MseI	2
C2At4g18230	820	750	PCR	3
C2At1g28530	400	400	SspI	3
C2At1g60440	850	850	HindIII	3
C2At1g67700	380	380	MspI	3
C2At1g23890	500	500	Tsp509I	3
C2At5g62390	1200	1200	HindIII	3
C2At1g72030	850	850	AluI	3
C2At5g23880	360	360	RsaI	3
C2At1g51160	460	460	ScrFI	3
C2At5g17170	550	550	TaqI	3
C2At5g41040	280	280	AluI	3
C2At3g03100	830	830	BglIII	3
C2At5g60160	370	370	PvuII	3
C2At3g48330	500	500	DpnII	3
C2At5g49970	650	650	TaqI	3
C2At5g08050	800	800	NsiI	3

C2At1g18660	220	220	TaqI	3
C2At1g16080	450	450	NlaIII	3
C2At1g79910	1100	1100	XbaI	3
C2At3g13700	920	920	ApoI	3
C2At3g20240	500	500	HinfI	3
C2At3g14075	230	230	AluI	3
C2At3g13235	580	580	TaqI	4
C2At2g46340	420	420	HincII	4
U217183	440	470	PCR	4
C2At1g09920	570	570	AseI	4
C2At1g19340	300	300	PvuII	4
C2At1g47830	520	520	RsaI	4
T1933	950	950	AflIII	4
C2At2g46580	1000	1000	HindIII	5
C2At1g79790	650	650	HaeIII	5
C2At1g48300	650	650	MspI	5
C2At5g21170	450	450	BsaHI	5
C2At2g39690	750	750	RsaI	6
C2At3g46780	1600	1600	AluI	6
C2At3g11210	700	700	SspI	6
C2At1g21640	500	500	AvaII	6
C2At4g10030	500	500	RsaI	6
C2At1g20050	1200	1200	MspI	6
C2At2g18710	800	800	HindIII	7
C2At4g30580	420	420	BsaBI	7
C2At5g56940	250	250	SspI	7
C2At2g42750	580	580	ApoI	7
C2At5g48300	500	500	RsaI	7
C2At1g53670	950	900	PCR	7
C2At1g55870	1100	1100	BsaBI	7
C2At1g55670	350	350	RsaI	7
C2At5g56130	200	200	ApoI	7
C2At1g56050	1350	1350	ApoI	7
T0463	1350	1350	TaqI	7
C2At1g29320	450	450	BanII	8
C2At5g45680	170	170	AluI	8
C2At1g18480	500	500	HinfI	8
C2At1g30360	500	500	PvuII	8
C2At5g11490	400	400	DdeI	8
C2At5g47010	650	650	TaqI	8
C2At1g10580	360	360	HinfI	8
C2At5g41270	800	700	PCR	8
C2At5g41350	220	220	TaqI	8
C2At4g23840	430	430	HaeIII	8
C2At3g09920	1450	1450	BclI	9
C2At2g37240	330	330	MseI	9
C2At2g37500	850	850	RsaI	9
C2At5g58410	650	650	HpaII	9
C2At3g63190	480	480	AluI	9

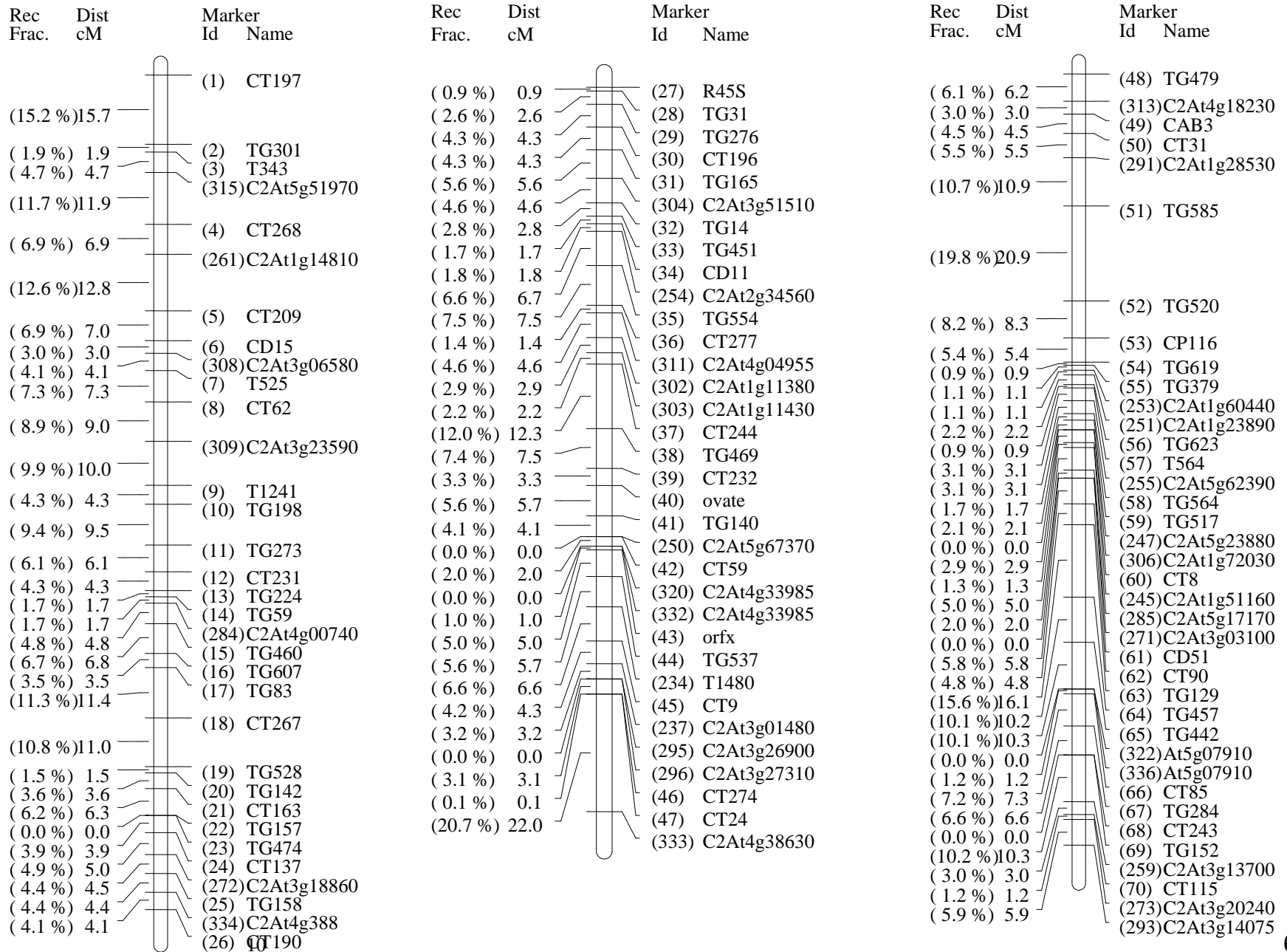
C2At1g07310	700	700	TaqI	9
C2At1g04530	850	850	CfoI	9
T1065	500	500	DraI	9
C2At1g30110	600	600	BglII	10
C2At1g25375	260	260	DdeI	10
C2At3g25690	500	500	CfoI	10
C2At4g28830	1500	1500	DdeI	10
C2At4g03280	760	760	RsaI	10
C2At4g11120	580	580	HincII	10
C2At4g18593	550	550	HinfI	10
C2At1g64770	650	650	TspRI	10
C2At1g24340	300	300	Tsp509I	10
C2At1g26945	1600	1600	RsaI	10
C2At1g69420	1350	1350	NsiI	10
C2At4g24830	350	350	BsrGI	10
C2At1g26520	400	400	TaqI	10
C2At3g08760	750	750	DpnII	10
C2At3g57270	800	800	HaeIII	10
C2At4g22260	450	420	PCR	11
C2At3g52640	650	650	SspI	11
C2At5g16630	830	830	BslI	11
C2At3g54840	320	320	HaeIII	11
C2At4g15010	200	200	SacI	11
C2At5g64730	1300	1300	TaqI	11
C2At3g62940	500	500	EcoRI	11
C2At1g05055	510	510	SpeI	11
C2At4g39870	650	650	ScrFI	11
C2At2g01770	730	730	HindIII	11
C2At3g51010	1800	1800	HindIII	11
C2At2g45620	450	650	PCR	11
C2At2g39580	850	850	DdeI	11
C2At5g57970	870	870	TaqI	12
C2At1g33970	460	460	EcoRI	12
C2At5g59960	850	850	BanI	12
C2At2g28490	900	900	DpnII	12
C2At5g60600	700	700	RsaI	12

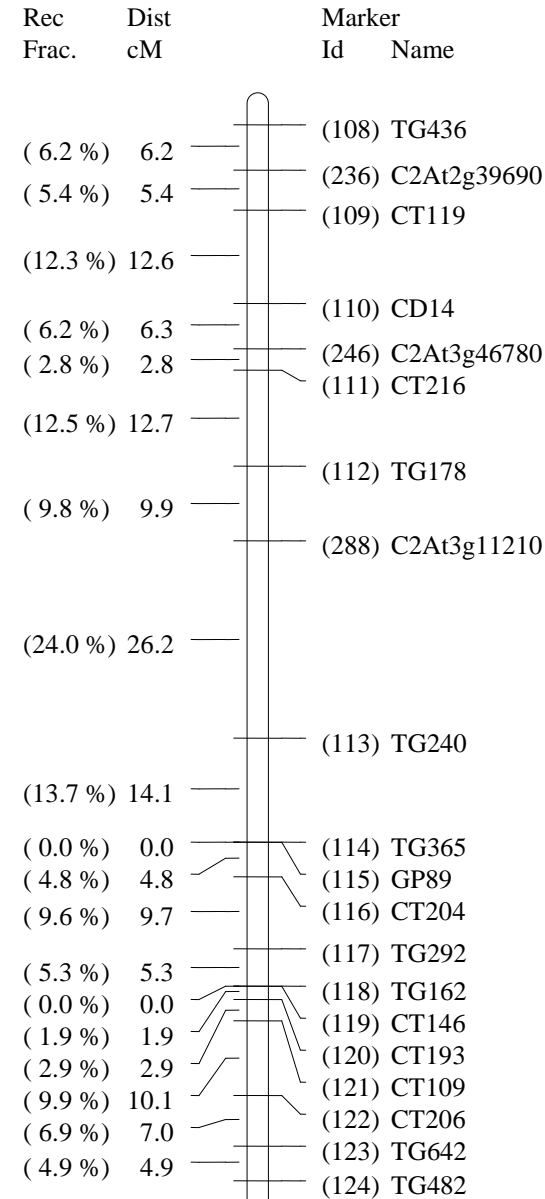
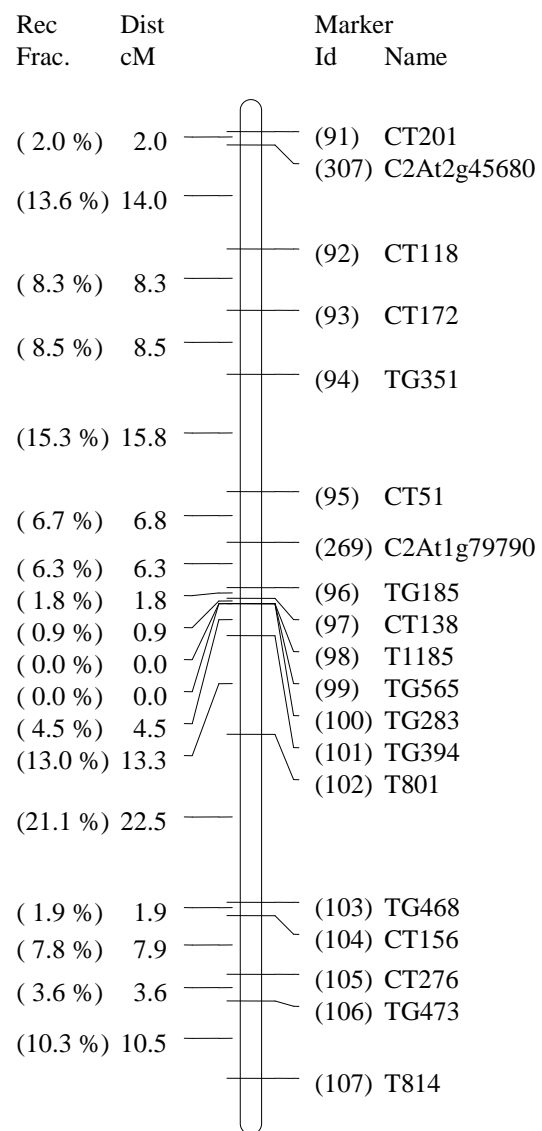
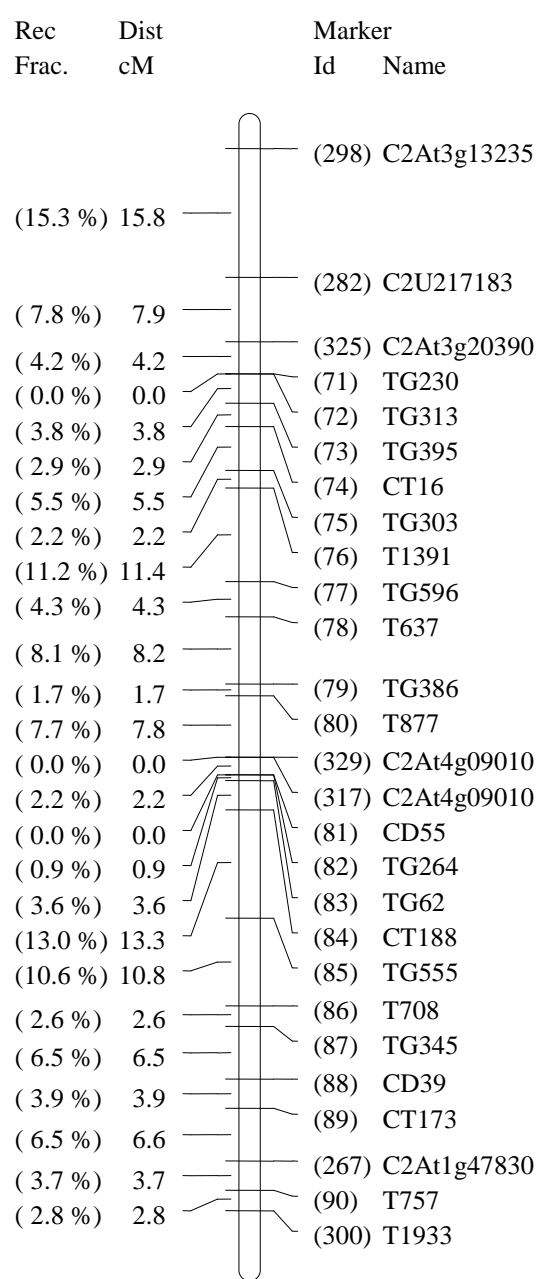
Tablo 14. RFLP ve COSII işaretleyicileri ve kromozom bölgeleri

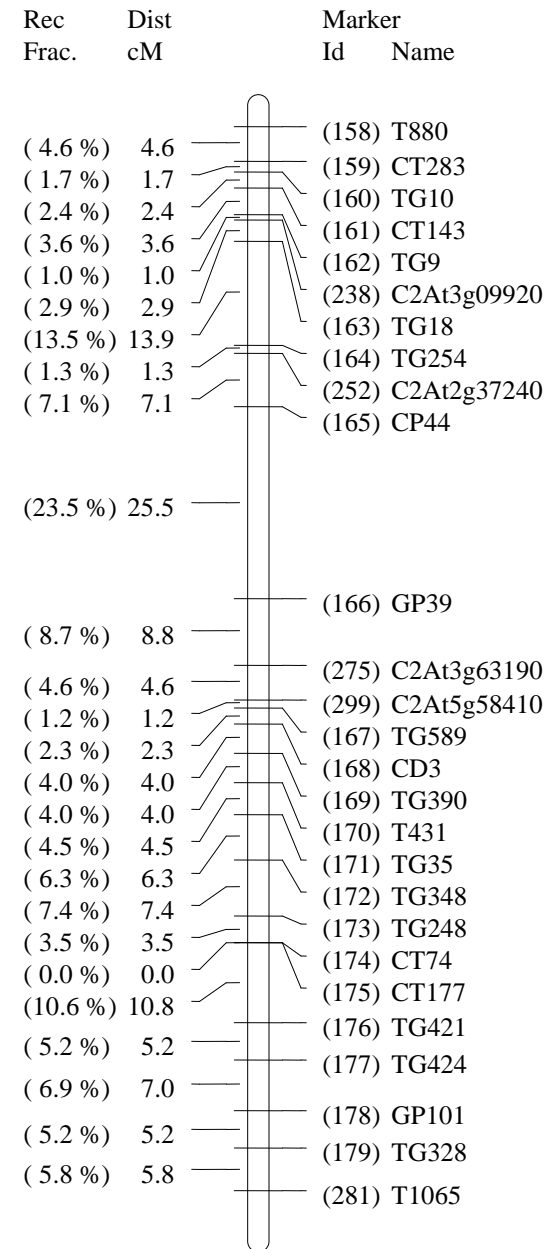
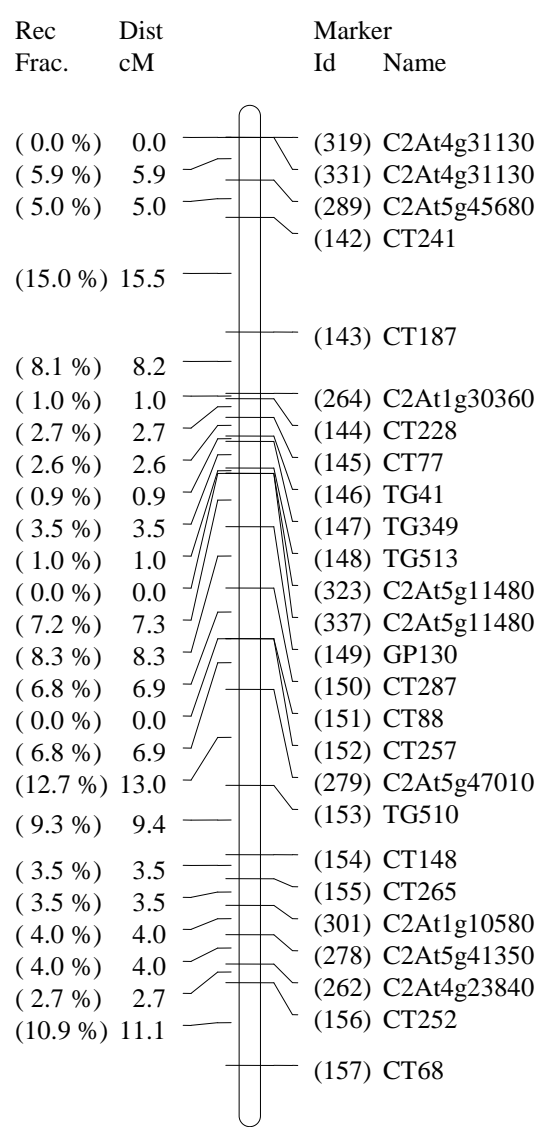
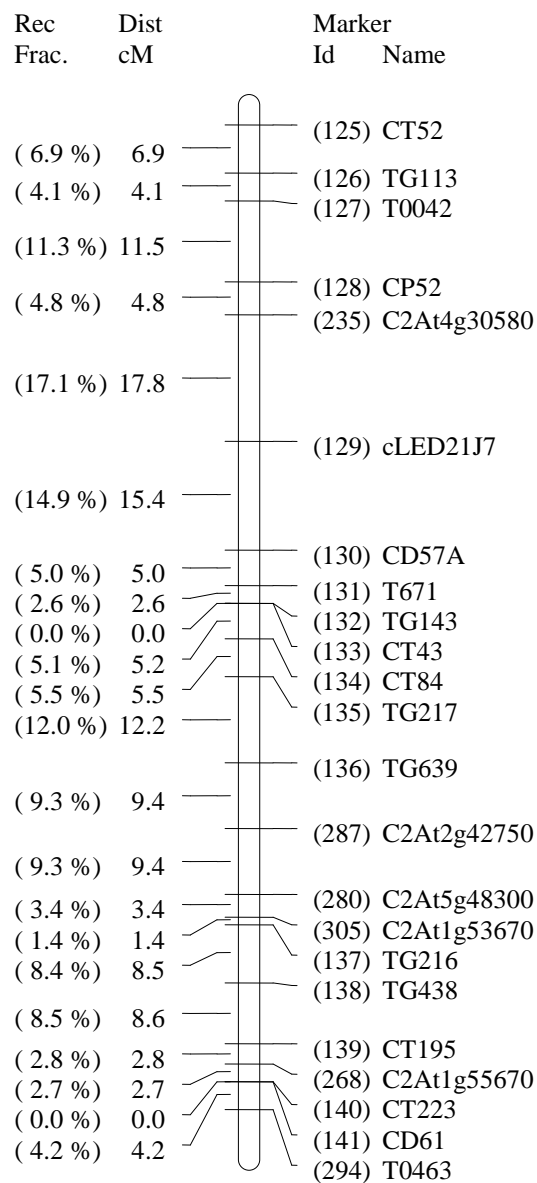
Patlıcan Kromozomlar	RFLP markörleri	COSII markörleri
1	26	7
2	22	12
3	22	14
4	21	6
5	17	2
6	17	3
7	18	7
8	16	10
8	23	4
10	21	15
11	21	17
12	12	5

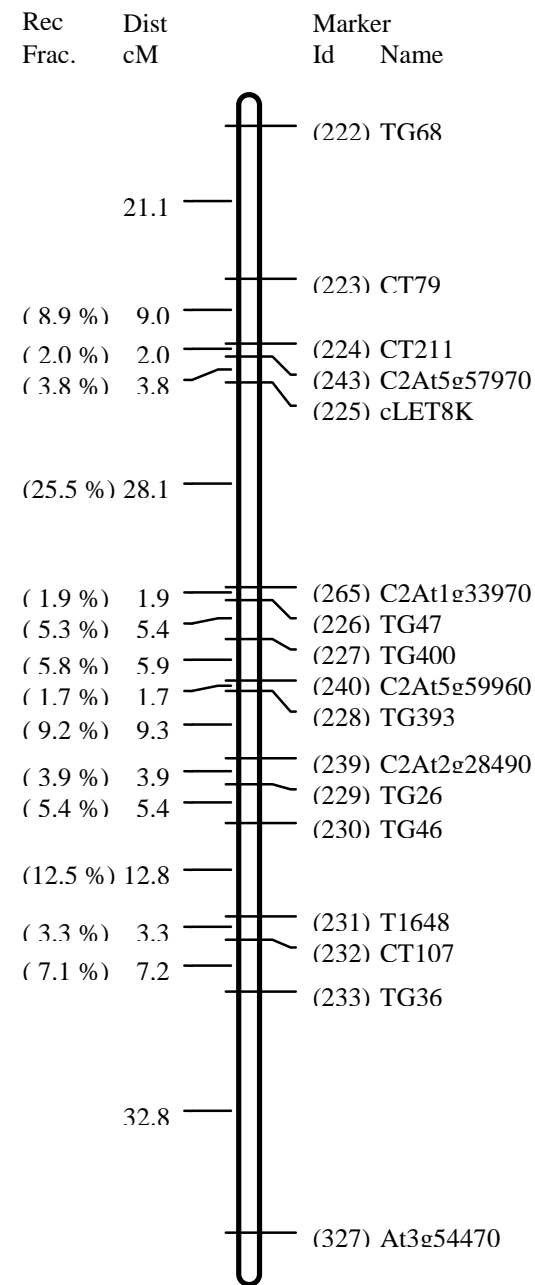
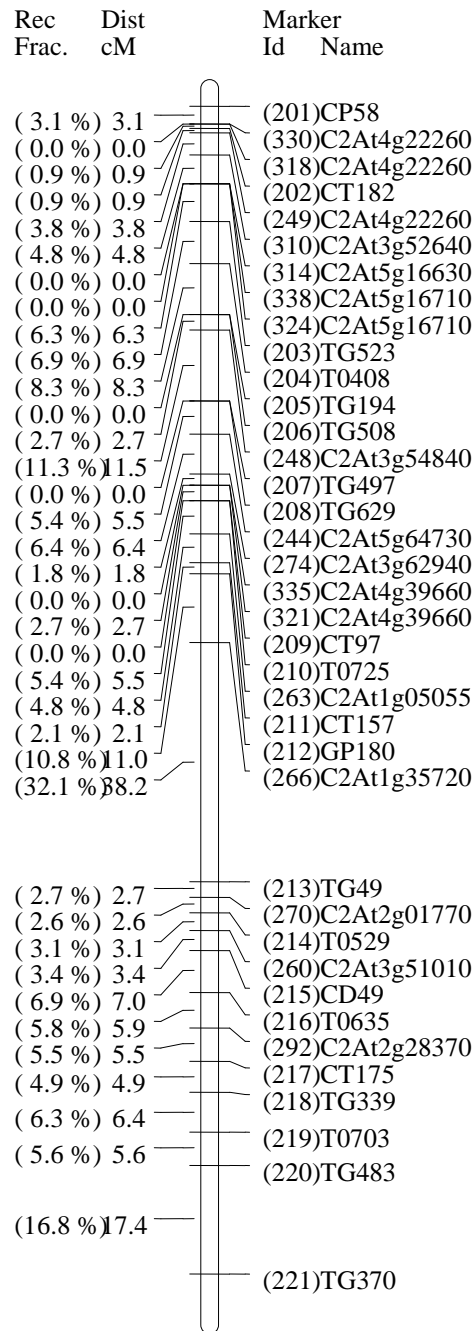
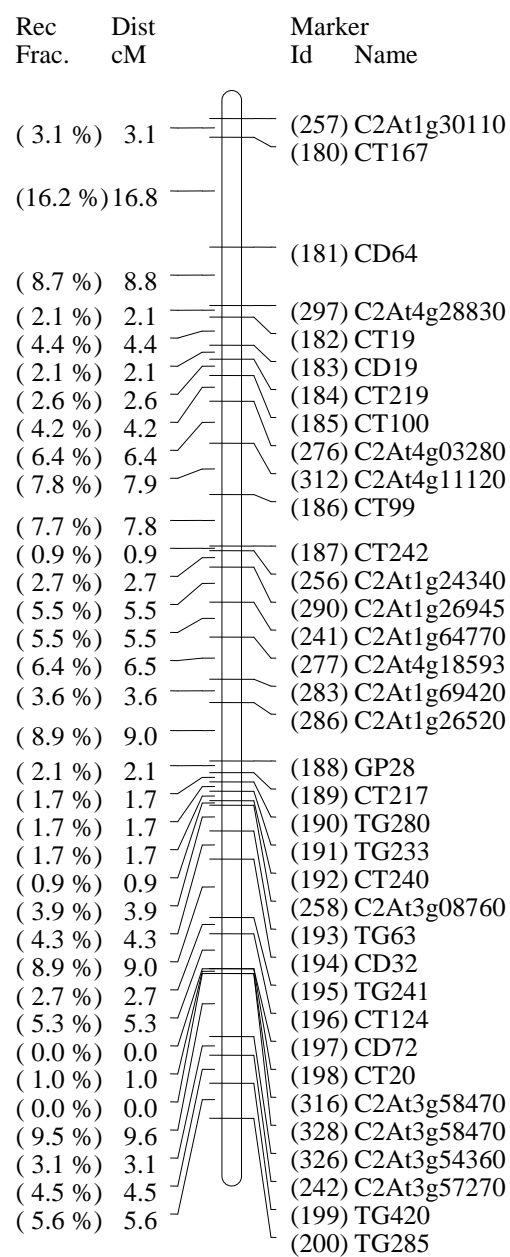
Patlıcan genom haritasındaki TG, CT, CD, CP, GP ve T ile başlayan işaretleyiciler RFLP işaretleyicileridir. C2Atg ile başlayan işaretleyiciler ise PCR'a dayalı COSII işaretleyicileridir. Genom haritası 236 RFLP ve 102 COSII işaretleyicisi içermektedir.

Şekil 16. RFLP ve COSII markörlerine dayalı patlıcan moleküler genetik bağlantı haritası.









4.3. AB-QTL (ileri geri melez kantitatif lokus) populasyonların patlıcan için oluşturulması

AB-QTL (ilerletilmiş gerimelez kantitatif karakter lokus populasyonları) yaklaşımı ile yabancı türlerden faydalı allellerin belirlenmesi ve eş zamanlı olarak kültür çeşitlerine aktarılması amaçlanmıştır (NELSON ve TANKSLEY 1996) ve AB-QTL populasyonlarının değişik bitki türlerinde de oluşturulması son zamanlarda popüler hale gelmiştir. Bu yaklaşımı patlıcan bitkisinde de uygulamak amacıyla *Solanum melongena* ile melezlenebilen dört yabancı tür ile melezlemeler yapılmış ve populasyonlar oluşturulmaya çalışılmıştır. Bu yaklaşımda donör anaç olarak yabancı bir türün kullanılması öngörülmektedir. Burada amaç yabancı türün faydalı allellerini kültür formuna aktararak genetik varyasyon düzeyini yükseltmektir. Strateji öncelikle domates için geliştirilmiştir (TANKSLEY ve ark. 1996). Şu ana kadar tarımsal öneme sahip çok sayıda üründe AB-QTL populasyonları geliştirilmiştir. Bu amaç için geliştirilen ilk populasyon *S. melongena* x *S. aethiopicum* arasında yapılan melezleme çalışmasından geliştirilmiştir. Bu kombinasyonda, ileri geri melez kantitatif lokus populasyonları oluşturmak amacıyla MM738 çeşiti (200 adet) ve 125 adet bitkiden oluşan BC1F1 populasyonuna ait (*S. melongena* x *S. aethiopicum*) tohumlar viyollere ekilmiş ve iki yapraklı devreye gelen fideler seraya taşınmıştır. Bu populasyondan BC2F1 generasyonu oluşturulmaya çalışılmıştır. Bu amaç için her bir BC1F1 bitkisi iki yönlü olarak MM738 anaç çeşitine geriye melezlenmiştir (Şekil 17).



Şekil 17. BC1F1(*S.melongena* X *S.aethiopicum*)) ile MM738'in melezlenmesi sonucu oluşan meyve gösterilmektedir.

Yapılan gerimelezleme çalışmaları ile 20 BC1F1 bitkisinin her birinden BC2F1 kombinasyonları oluşturulmuştur. Geliştirilen bu BC2F1 AB-QTL populasyonu ile projede öngörüldüğü gibi genom haritalama ve QTL analizleri için çalışmalar yapılması planlanmıştır. Bu populasyona ait tohumlar sera koşulları daha iyi olan Yüksel Tohumculuk firmasına gönderilmiştir. Firma bu ve diğer populasyonların bütün bakım ve populasyon oluşturma işlemlerini gönüllü olarak üstlenmiştir. BC2F1 populasyonlarına ait tohumlar 2008 bahar döneminde Yüksel Tohumculuk Firması tesislerinde viyollere ekilmiştir. Burada amaç 20 kombinasyon BC2F1 populasyonunu oluşturan her bir bitkiden 10 örnek toplam olarakta 20 x 10 = 300 adet BC2F1 bitkisi üretilmesi ve çalışmalarda kullanılması planlanmıştır. Ancak, ekilen tohumlarda çimlenme problemleri yaşanmış ve istenilen sayıda populasyon geliştirilememiştir. Bu nedenle bu populasyon çalışmadan çıkarılmak zorunda kalmıştır.

Yine aynı dönemde paralel bir çalışma olarak, ikinci patlıcan AB-QTL popülasyonu oluşturulmasına Fransa'da başlanmıştır. Bu amaç için yine MM738 çeşiti anaç olarak kullanılmıştır. Yaklaşık 150 adet bitkiden oluşan (*S. melongena* x *S. linnaenum*) BC1F1 popülasyonu MM738 çeşitine geriye melezlenmiştir. Bu kombinasyonda yeterli sayıda BC2F1 bitkisi oluşturulmuştur. Bu çalışmaya ilaveten yine bu türde rekombinant safdöl hatlarının (RIL) geliştirilmesinde çalışılmıştır. *S. melongena* x *S. linnaenum* kombinasyonundan F4-RIL hatları Dr. Marie-Christine Daunay tarafından geliştirilmiş ve tarafımıza gönderilmiştir. Bu hatların genom analizi çalışmalarında kullanılabilmesi için daha da geliştirilerek F6-RIL seviyesine ilerletilmesi gerekmiştir. Gerek ülkemizde ve gerekse INRA-Fransa'da yapılan yoğun çalışmalara rağmen yeterli sayıda F6-RIL oluşturulamamıştır. Bu popülasyonun adaptasyonu ile ilgili ciddi problemler yaşandığı için hatlar daha ileri seviyelere götürülemedi. İYTE ve Yüksel Tohumculuk Firması bünyesinde 2-2.5 yıl sürdürülen yoğun çalışmalara son verilmiştir.

Proje kapsamında AB-QTL çalışmaları için oluşturulmaya çalışılan diğer bir kombinasyonda ise *Solanum macrocarpon* donör anaç olarak kullanılmıştır. *Solanum macrocarpon* ile yapılan melezlemelerde türlerarası F1 melez bitkisi elde edilebilirdi (Şekil 18). Ancak elde edilen F1 bitkisi steril olduğu için F2 yada BC1F1 popülasyonları oluşturulamamıştır.



Şekil 18. *Solanum melongena* cv. Dusky x *Solanum macrocarpon* S002-3 F1 bitkisinin oluşan meyvesinin resmi verilmektedir.

Patlıcan'da AB-QTL popülasyonu oluşturmak için yapılan dördüncü kombinasyonda *Solanum incanum* donör ebeveyn olarak kullanılmıştır. *S. melongena* cv. Dusky x *S. incanum* melezleme çalışmasında türlerarası F1 ler 2007 yılında oluşturulmuştur (Şekil 19). Oluşturulan türlerarası F1'ler 2008 yılında ekilmiş ve yine Dusky çeşitine geriye melezlenerek BC1F1 popülasyonu oluşturulmuştur. Aynı zamanda kendilenerak F2 generasyonu da elde edilmiştir. Bu F1 bitkileri aynı zamanda diğer yerel Türk çeşitlerinede (Aydın Siyahı, Topan, Kemer) geriye melezlenmiştir. Bu kombinasyonda AB-QTL popülasyonu oluşturmak için 120 bitkiden oluşan BC1F1 popülasyonuna ait bitkiler Dusky çeşitiyle geri melezlenerek BC2F1 popülasyonun oluşturulmasında kullanılmıştır. 2009 yılında yapılan bu geri melezleme çalışmaları sonucunda 44 adet BC2F1 popülasyonu elde edilmiştir.



Şekil 19. *Solanum melongena* cv. Dusky x *Solanum incanum* melezlenmesinin sonuçunda oluşan meyve gösterilmektedir.

Yine 2009 yılında çalışmalarda her bir BC2F1 kombinasyonuna ait bitkiler sera koşullarında yetiştirilmiş ve tek tek kendilenerek BC2F2 generasyonu oluşturulmuştur. Aynı zamanda, her bir BC2F1 bitkilerinden yaprak örneklere alınarak genom haritalama çalışmalarında kullanılmak üzere DNA'lar izole edilmiştir. DNA'ların kalitesi Nanodrop ile llmüştur. Nanodrop sonuçları Tablo 15 de verilmiştir. 2010 yetiştirme sezonunda yaklaşık 300 civarında bitkiden oluşan BC2F2 populasyonları değişik karakterlerin QTL analizleri ile haritalanması için Yüksel Tohumculuk Firması seralarında yetiştirilmeye alınmıştır. Bu populasyonda genom haritalaması çalışmaları için COSII ve SSR işaretleyicileri kullanılacaktır. Öncelikle, COSII markörleri ile incanum ve melongena anaçları polimorfizm testlemesine tabi tutulmuştur. Bu alışma için yaklaşık 400 civarında COSII markörü kullanılmıştır. Bu markörlerden 36 (9) tanesi uygulanan PCR Őartlarında alışmamıştır. Bu nedenle, bu tip markörler çalışmadan çıkarılmıştır. PCR ları çalışan markörlerle elde edilen PCR rnleri bri grup restriksiyon enzimi ile kesilmek sretiliyle anaçlar arasında polimorfizm bulunmaya çalışılmıştır. Bu Şekilde yapılan testleme sonucunda 300 civarında markrde polimorfik görünmektedir. Ancak, bu markörlerin haritalama populasyonuna uygulamadan önce bir kez daha polimorfizm testlemelerine alınmaları gereklidir. Bu iki testleme sonucunda da polimorfik bulunan markörler haritalama populasyonuna uygulanacaktır. Her iki anaç kullanılarak yapılan ön polimorfizm belirleme çalışmalarının sonuçları Tablo 15'te verilmiştir.

Tablo 15. BC2F1 populasyonuna ait DNA'ların miktar ve kalitesini gösteren nanodrop sonuçları.

Genotip	ng/ul	A260	A280	260 / 280	260 / 230	Genotip	ng/ul	A260	A280	260 / 280	260 / 230
Anaç-1	2068.56	41.371	21.413	1.93	0.53	09T3-7	409.21	8.184	4.464	1.83	2.37
Anaç-2	1420.50	28.410	14.635	1.94	1.07	09T3-8	1282.63	25.653	13.166	1.95	2.22
09T1-1	1121.08	22.422	11.883	1.89	2.05	09T3-9	719.33	14.387	7.905	1.82	2.05
09T1-2	500.54	10.011	5.460	1.83	2.01	09T4-1	501.18	10.024	5.465	1.83	2.25
09T1-3	215.73	4.315	2.490	1.73	1.66	09T4-2	113.49	2.270	1.253	1.81	2.15
09T1-4	1660.36	33.207	17.947	1.85	2.16	09T4-3	856.22	17.124	9.373	1.83	2.06
09T1-5	888.08	17.762	9.640	1.84	2.04	09T4-4	1492.45	29.849	16.276	1.83	1.66
09T1-6	878.98	17.580	9.635	1.82	2.04	09T4-5	4655.53	93.111	59.086	1.58	1.49
09T1-7	430.10	8.602	4.721	1.82	2.10	09T4-6	1546.48	30.930	16.425	1.88	1.89
09T1-8	587.11	11.742	6.611	1.78	2.04	09T4-7	1773.74	35.475	18.974	1.87	2.17
09T1-9	421.21	8.424	4.599	1.83	1.93	09T4-8	1301.17	26.023	13.880	1.87	2.12
09T1-10	918.66	18.373	10.134	1.81	1.92	09T4-9	316.49	6.330	3.480	1.82	1.90
09T2-1	383.78	7.676	4.147	1.85	2.19	09T4-10	1714.86	34.297	17.683	1.94	2.20
09T2-2	951.51	19.030	10.387	1.83	2.17	09T5-1	1675.73	33.515	17.771	1.89	2.13
09T2-3	543.43	10.869	5.949	1.83	2.27	09T5-2	608.65	12.173	6.714	1.81	2.00
09T2-4	408.25	8.165	4.488	1.82	2.06	09T5-3	1235.67	24.713	13.456	1.84	2.13
09T2-5	1057.81	21.156	11.137	1.90	2.28	09T5-4	2066.65	41.333	21.884	1.89	2.13
09T2-6	1010.60	20.212	10.846	1.86	2.15	09T5-5	584.14	11.683	6.436	1.82	2.21
09T2-7	544.98	10.900	5.985	1.82	2.16	09T5-6	711.93	14.239	7.807	1.82	1.98
09T2-8	490.13	9.803	5.352	1.83	2.33	09T5-7	1147.28	22.946	12.079	1.90	2.16
09T2-9	1372.92	27.458	14.620	1.88	2.10	09T5-8	2502.71	50.054	26.675	1.88	2.03
09T3-1	1828.81	36.576	19.539	1.87	2.11	09T5-9	346.59	6.932	3.600	1.93	2.22
09T3-2	881.86	17.637	10.130	1.74	1.57	09T5-10	1626.82	32.536	17.281	1.88	2.22
09T3-3	670.99	13.420	7.194	1.87	2.12	09T6-1	2500.43	50.009	27.002	1.85	2.17
09T3-4	713.73	14.275	7.634	1.87	2.13	09T6-2	1547.80	30.956	16.592	1.87	2.02
09T3-5	2316.22	46.324	24.313	1.91	1.92	09T6-3	883.54	17.671	9.348	1.89	2.03
09T3-6	632.14	12.643	6.861	1.84	2.02	09T6-4	1330.64	26.613	13.747	1.94	1.26

09T6-5	727.22	14.544	7.903	1.84	2.24	09T9-5	949.85	18.997	10.324	1.84	2.19
09T6-6	401.82	8.036	4.344	1.85	2.11	09T9-6	1773.55	35.471	19.153	1.85	2.03
09T6-7	2125.11	42.502	22.307	1.91	1.79	09T9-7	1338.68	26.774	14.580	1.84	2.06
09T6-8	425.13	8.503	4.553	1.87	2.18	09T9-8	1599.06	31.981	17.525	1.82	1.82
09T6-9	1144.08	22.882	12.029	1.90	1.85	09T9-9	1466.58	29.332	15.859	1.85	2.20
09T6-10	1116.80	22.336	11.646	1.92	1.96	09T11-1	1510.74	30.215	16.433	1.84	2.05
09T7-1	1972.50	39.450	21.892	1.80	1.74	09T11-2	759.31	15.186	8.602	1.77	1.89
09T7-2	518.47	10.369	5.631	1.84	1.90	09T11-3	2914.04	58.281	31.927	1.83	1.85
09T7-3	866.53	17.331	9.437	1.84	2.06	09T11-4	2056.54	41.131	21.993	1.87	2.15
09T7-4	1026.43	20.529	10.931	1.88	2.01	09T11-5	1543.64	30.873	16.689	1.85	2.24
09T7-5	920.46	18.409	9.903	1.86	2.18	09T11-6	3021.79	60.436	33.088	1.83	2.01
09T7-6	439.70	8.794	4.679	1.88	1.94	09T11-7	284.90	5.698	3.031	1.88	1.98
09T7-7	1325.53	26.511	14.184	1.87	1.87	09T11-8	1252.85	25.057	13.878	1.81	1.93
09T7-8	1494.35	29.887	16.100	1.86	1.82	09T11-9	1050.82	21.016	11.626	1.81	2.07
09T7-9	1148.10	22.962	12.428	1.85	1.82	09T11-10	2201.93	44.039	24.499	1.80	1.95
09T7-10	269.80	5.396	2.794	1.93	2.22	09T12-1	1254.77	25.095	13.617	1.84	2.02
09T8-1	1607.62	32.152	16.630	1.93	1.90	09T12-2	1045.33	20.907	11.659	1.79	2.19
09T8-2	967.11	19.342	10.466	1.85	2.05	09T12-3	1061.87	21.237	11.828	1.80	2.31
09T8-3	515.39	10.308	5.576	1.85	2.22	09T12-4	1193.71	23.874	13.138	1.82	2.13
09T8-4	1859.20	37.184	20.060	1.85	1.85	09T12-5	1206.30	24.126	13.208	1.83	2.24
09T8-5	1455.27	29.105	14.750	1.97	2.10	09T12-6	1221.75	24.435	13.561	1.80	2.03
09T8-6	1481.32	29.626	16.117	1.84	1.99	09T12-7	579.64	11.593	6.447	1.80	2.08
09T8-7	853.86	17.077	9.231	1.85	2.27	09T12-8	2519.68	50.394	27.219	1.85	2.14
09T8-8	1828.39	36.568	21.034	1.74	1.49	09T12-9	1169.45	23.389	12.657	1.85	2.04
09T8-9	927.71	18.554	9.924	1.87	2.30	09T12-10	801.04	16.021	8.757	1.83	2.18
09T8-10	1178.68	23.574	12.757	1.85	2.19	09T13-1	683.91	13.678	7.487	1.83	2.14
09T9-1	988.84	19.777	10.881	1.82	2.22	09T13-2	987.51	19.750	10.677	1.85	2.27
09T9-2	1010.95	20.219	11.001	1.84	1.96	09T13-3	1754.38	35.088	19.100	1.84	1.84
09T9-3	610.79	12.216	6.662	1.83	2.09	09T13-4	478.55	9.571	5.142	1.86	2.37
09T9-4	827.67	16.553	9.062	1.83	2.26	09T13-5	1321.50	26.430	14.311	1.85	2.15

09T13-6	1956.13	39.123	21.144	1.85	2.12	09T16-7	2251.76	45.035	24.209	1.86	1.80
09T13-7	1935.08	38.702	21.970	1.76	1.42	09T16-8	127.91	2.558	1.351	1.89	2.26
09T13-8	1692.70	33.854	18.222	1.86	2.16	09T16-9	3211.76	64.235	35.991	1.78	1.70
09T13-9	1961.67	39.233	21.287	1.84	2.21	09T16-10	2113.15	42.263	22.228	1.90	2.09
09T13-10	1716.86	34.337	18.603	1.85	2.26	09T17-1	830.72	16.614	9.060	1.83	2.10
09T14-1	1278.63	25.573	13.741	1.86	1.99	09T17-2	179.28	3.586	1.922	1.87	2.26
09T14-2	3029.82	60.596	32.724	1.85	1.97	09T17-3	1102.13	22.043	12.263	1.80	1.83
09T14-3	1087.62	21.752	11.832	1.84	1.96	09T17-4	988.76	19.775	10.650	1.86	2.10
09T14-4	1081.22	21.624	11.768	1.84	2.11	09T17-5	1448.92	28.978	15.828	1.83	1.75
09T14-5	1684.78	33.696	18.545	1.82	1.97	09T17-6	722.37	14.447	7.943	1.82	2.16
09T14-6	1616.05	32.321	17.704	1.83	1.93	09T17-8	3520.43	70.409	38.082	1.85	1.97
09T14-7	517.15	10.343	5.729	1.81	2.14	09T17-9	2393.18	47.864	25.608	1.87	2.07
09T14-8	1301.53	26.031	14.389	1.81	2.02	09T18-1	3287.85	65.757	35.473	1.85	2.08
09T14-9	886.23	17.725	9.785	1.81	2.03	09T18-2	3397.65	67.953	36.984	1.84	1.80
09T15-1	1258.94	25.179	13.651	1.84	2.17	09T18-3	1337.92	26.758	14.304	1.87	2.12
09T15-2	1076.83	21.537	11.694	1.84	2.21	09T18-4	1612.71	32.254	17.354	1.86	2.00
09T15-3	1349.82	26.996	14.583	1.85	2.01	09T18-5	472.39	9.448	5.083	1.86	1.33
09T15-4	1000.36	20.007	10.829	1.85	2.14	09T18-6	2679.71	53.594	28.736	1.87	1.82
09T15-5	416.14	8.323	4.417	1.88	2.36	09T18-7	1155.94	23.119	12.016	1.92	2.04
09T15-6	701.23	14.025	7.694	1.82	2.24	09T18-8	842.56	16.851	9.328	1.81	2.17
09T15-7	444.04	8.881	4.874	1.82	2.10	09T18-9	578.07	11.561	6.095	1.90	1.85
09T15-8	1336.84	26.737	14.080	1.90	2.20	09T19-1	1063.81	21.276	11.069	1.92	2.14
09T15-9	2264.78	45.296	22.934	1.98	2.00	09T19-2	1489.21	29.784	15.996	1.86	2.07
09T15-10	1619.04	32.381	17.208	1.88	2.16	09T19-3	1517.12	30.342	16.358	1.85	2.06
09T16-1	1028.91	20.578	11.054	1.86	2.09	09T19-4	3016.92	60.338	31.732	1.90	1.99
09T16-2	1167.20	23.344	12.407	1.88	1.96	09T19-5	1690.07	33.801	18.321	1.84	2.10
09T16-3	322.99	6.460	3.379	1.91	2.07	09T19-6	935.20	18.704	10.307	1.81	2.05
09T16-4	1783.98	35.680	19.195	1.86	2.06	09T19-7	1714.61	34.292	17.945	1.91	2.02
09T16-5	1890.39	37.808	19.973	1.89	1.98	09T19-8	1810.98	36.220	19.284	1.88	2.20
09T16-6	1207.55	24.151	12.913	1.87	2.16	09T19-9	2195.63	43.913	23.323	1.88	1.95

09T19-10	2195.27	43.905	22.959	1.91	2.20	09T23-3	2634.25	52.685	28.206	1.87	1.83
09T20-1	658.56	13.171	7.289	1.81	1.96	09T23-4	2705.21	54.104	29.305	1.85	1.94
09T20-2	999.41	19.988	11.083	1.80	1.93	09T23-5	1458.07	29.161	15.360	1.90	2.11
09T20-3	2431.98	48.640	26.174	1.86	1.81	09T23-6	809.37	16.187	8.965	1.81	1.94
09T20-4	2094.79	41.896	22.499	1.86	1.96	09T23-7	1367.46	27.349	15.095	1.81	1.72
09T20-5	2153.90	43.078	22.972	1.88	1.96	09T23-8	1175.05	23.501	12.839	1.83	2.13
09T20-6	1157.74	23.155	12.722	1.82	1.81	09T23-9	446.52	8.930	4.822	1.85	2.41
09T20-7	991.60	19.832	10.864	1.83	2.01	09T23-10	1403.38	28.068	15.056	1.86	2.08
09T20-8	2212.93	44.259	24.145	1.83	2.00	09T24-1	1071.55	21.431	11.785	1.82	1.93
09T20-9	2133.00	42.660	23.316	1.83	2.05	09T24-2	760.52	15.210	8.517	1.79	1.82
09T20-10	2544.47	50.889	27.926	1.82	2.12	09T24-3	832.90	16.658	9.218	1.81	1.88
09T21-1	2144.62	42.892	22.625	1.90	2.09	09T24-4	3211.69	64.234	34.162	1.88	1.92
09T21-2	2770.26	55.405	29.897	1.85	2.05	09T24-5	2149.76	42.995	22.476	1.91	2.23
09T21-3	176.75	3.535	1.723	2.05	1.88	09T24-6	2040.18	40.804	22.448	1.82	1.74
09T21-4	174.96	3.499	1.703	2.05	1.90	09T24-7	566.17	11.323	6.151	1.84	2.25
09T21-5	2509.33	50.187	27.415	1.83	1.89	09T24-8	3445.45	68.909	37.519	1.84	1.76
09T21-6	1883.00	37.660	20.499	1.84	2.02	09T24-9	3108.08	62.162	32.969	1.89	1.92
09T21-7	1977.59	39.552	21.504	1.84	2.10	09T24-10	974.36	19.487	10.544	1.85	2.24
09T21-9	1383.97	27.679	15.046	1.84	2.01	09T25-1	758.83	15.177	8.273	1.83	2.05
09T21-10	2140.86	42.817	23.067	1.86	1.93	09T25-2	1814.40	36.288	19.622	1.85	1.79
09T22-1	970.48	19.410	10.176	1.91	2.18	09T25-3	1463.27	29.265	15.711	1.86	2.17
09T22-2	1232.83	24.657	13.639	1.81	1.91	09T25-4	2388.64	47.773	25.911	1.84	1.85
09T22-3	1115.52	22.310	12.022	1.86	2.09	09T25-5	1621.05	32.421	17.028	1.90	2.12
09T22-4	1600.94	32.019	17.285	1.85	2.01	09T25-6	1722.94	34.459	18.753	1.84	1.59
09T22-5	2301.88	46.038	23.786	1.94	2.15	09T25-7	320.73	6.415	3.337	1.92	2.25
09T22-6	2902.04	58.041	30.880	1.88	1.89	09T25-8	1472.48	29.450	15.412	1.91	2.12
09T22-7	196.80	3.936	2.351	1.67	0.53	09T25-9	1602.23	32.045	16.974	1.89	2.03
09T22-8	832.68	16.654	8.705	1.91	1.79	09T25-10	532.85	10.657	5.682	1.88	2.12
09T22-9	1017.44	20.349	10.960	1.86	2.03	09T26-1	3452.17	69.043	36.979	1.87	1.79
09T23-2	686.58	13.732	7.334	1.87	2.24	09T26-3	2057.98	41.160	21.989	1.87	1.82

09T26-4	940.56	18.811	10.300	1.83	1.64	09T29-6	576.79	11.536	6.171	1.87	2.07
09T26-5	1791.50	35.830	18.910	1.89	1.86	09T29-7	1515.42	30.308	16.438	1.84	1.93
09T26-6	499.30	9.986	5.387	1.85	1.97	09T29-10	1504.51	30.090	16.396	1.84	1.95
09T26-7	1619.56	32.391	17.389	1.86	1.93	09T29-11	632.80	12.656	7.196	1.76	1.68
09T26-9	1979.42	39.588	21.186	1.87	1.55	09T29-12	500.20	10.004	5.415	1.85	2.12
09T26-10	1365.98	27.320	14.768	1.85	1.88	09T30-1	888.85	17.777	9.701	1.83	2.19
09T27-1	518.56	10.371	5.586	1.86	2.22	09T30-3	889.70	17.794	9.539	1.87	2.03
09T27-2	640.47	12.809	7.002	1.83	2.25	09T30-5	1246.28	24.926	13.688	1.82	1.76
09T27-3	536.20	10.724	5.824	1.84	2.07	09T30-6	2496.71	49.934	27.103	1.84	1.85
09T27-4	943.89	18.878	9.750	1.94	2.23	09T30-7	198.48	3.970	1.622	2.45	0.60
09T27-5	2270.79	45.416	23.531	1.93	2.00	09T30-8	880.57	17.611	9.635	1.83	2.01
09T27-6	1586.01	31.720	16.615	1.91	2.21	09T30-9	1327.43	26.549	14.618	1.82	1.99
09T27-7	2082.70	41.654	22.059	1.89	2.15	09T30-10	798.32	15.966	8.622	1.85	1.85
09T27-8	3571.95	71.439	38.576	1.85	1.79	09T31-1	927.54	18.551	10.182	1.82	2.04
09T27-9	313.04	6.261	3.112	2.01	2.18	09T31-2	448.28	8.966	4.951	1.81	2.34
09T28-1	2047.34	40.947	21.552	1.90	1.96	09T31-3	1394.73	27.895	15.288	1.82	2.15
09T28-2	2425.28	48.506	26.165	1.85	1.89	09T31-4	472.03	9.441	5.110	1.85	2.05
09T28-3	2204.63	44.093	22.792	1.93	2.05	09T31-5	902.66	18.053	9.985	1.81	1.96
09T28-4	511.22	10.224	5.416	1.89	2.25	09T31-6	487.69	9.754	5.306	1.84	2.31
09T28-5	1291.24	25.825	13.719	1.88	2.13	09T31-7	810.38	16.208	8.911	1.82	2.07
09T28-6	433.73	8.675	4.820	1.80	1.77	09T31-8	1883.59	37.672	20.634	1.83	2.07
09T28-7	828.47	16.569	8.966	1.85	2.16	09T31-9	1393.36	27.867	16.009	1.74	1.07
09T28-8	1330.32	26.606	14.301	1.86	1.84	09T32-2	825.33	16.507	9.156	1.80	2.05
09T28-9	847.61	16.952	9.006	1.88	1.91	09T32-5	564.07	11.281	6.000	1.88	2.21
09T28-10	825.44	16.509	8.972	1.84	1.99	09T32-7	583.01	11.660	6.319	1.85	1.87
09T29-1	766.44	15.329	8.515	1.80	1.69	09T32-8	447.86	8.957	4.853	1.85	2.15
09T29-2	272.21	5.444	2.910	1.87	1.98	09T32-9	1588.22	31.764	17.252	1.84	1.94
09T29-3	821.69	16.434	9.017	1.82	1.95	09T33-2	533.01	10.660	5.805	1.84	1.82
09T29-4	856.17	17.123	9.501	1.80	1.80	09T33-3	1014.15	20.283	11.259	1.80	1.80
09T29-5	88.95	1.779	1.014	1.75	1.21	09T33-4	1722.21	34.444	18.398	1.87	2.03

09T33-5	1464.27	29.285	15.667	1.87	1.99	09T36-9	227.58	4.552	2.493	1.83	1.54
09T33-6	418.09	8.362	4.528	1.85	2.12	09T36-10	661.04	13.221	7.229	1.83	2.06
09T33-7	1345.02	26.900	15.032	1.79	1.80	09T36-11	396.20	7.924	4.276	1.85	1.92
09T33-8	22.48	0.450	0.321	1.40	0.49	09T37-1	864.48	17.290	10.242	1.69	1.29
09T33-9	1079.65	21.593	11.645	1.85	1.98	09T37-2	485.96	9.719	5.349	1.82	2.09
09T33-10	1935.93	38.719	21.382	1.81	1.91	09T37-3	803.27	16.065	8.873	1.81	1.93
09T34-1	779.51	15.590	8.554	1.82	1.98	09T37-4	1343.28	26.866	14.405	1.86	1.92
09T34-3	1476.32	29.526	16.028	1.84	2.03	09T37-5	442.45	8.849	4.830	1.83	1.88
09T34-4	897.73	17.955	9.918	1.81	1.74	09T37-6	839.13	16.783	9.056	1.85	2.03
09T34-5	1395.99	27.920	15.299	1.82	2.16	09T37-7	675.97	13.519	7.299	1.85	2.05
09T34-6	563.86	11.277	6.144	1.84	2.20	09T37-8	1226.16	24.523	13.262	1.85	1.88
09T34-7	1025.24	20.505	11.143	1.84	2.06	09T37-9	1993.71	39.874	21.091	1.89	1.89
09T34-9	236.92	4.738	2.567	1.85	2.24	09T37-10	819.56	16.391	8.962	1.83	1.87
09T34-10	905.36	18.107	9.701	1.87	2.20	09T38-1	674.45	13.489	7.568	1.78	1.67
09T35-1	1225.03	24.501	13.344	1.84	1.92	09T38-2	1525.17	30.503	17.476	1.75	1.12
09T35-2	1402.21	28.044	15.157	1.85	2.01	09T38-3	917.12	18.342	9.526	1.93	1.94
09T35-3	944.70	18.894	10.239	1.85	1.95	09T38-4	2054.10	41.082	21.708	1.89	1.88
09T35-4	3.81	0.076	0.053	1.44	0.45	09T38-5	766.52	15.330	8.542	1.79	1.84
09T35-5	2770.83	55.417	30.467	1.82	1.87	09T38-6	2658.91	53.178	28.612	1.86	1.99
09T35-6	1765.62	35.312	19.159	1.84	2.16	09T38-7	943.01	18.860	10.475	1.80	1.70
09T35-7	2350.87	47.017	25.484	1.84	1.93	09T38-8	767.98	15.360	8.391	1.83	2.06
09T35-8	1271.69	25.434	14.166	1.80	1.67	09T38-9	1170.90	23.418	12.795	1.83	1.85
09T36-1	931.67	18.633	10.089	1.85	2.06	09T39-2	2440.30	48.806	26.276	1.86	1.80
09T36-2	774.15	15.483	8.556	1.81	1.95	09T39-3	1309.32	26.186	13.614	1.92	1.92
09T36-3	64.41	1.288	0.857	1.50	0.51	09T39-4	2511.52	50.230	26.170	1.92	2.18
09T36-4	2397.24	47.945	26.556	1.81	1.84	09T39-5	2961.26	59.225	33.967	1.74	1.48
09T36-5	703.83	14.077	7.824	1.80	1.87	09T39-6	1781.18	35.624	18.763	1.90	1.83
09T36-6	574.45	11.489	6.392	1.80	1.90	09T39-8	3239.20	64.784	35.006	1.85	1.84
09T36-7	846.79	16.936	9.046	1.87	1.69	09T40-1	769.97	15.399	8.199	1.88	1.95
09T36-8	895.99	17.920	9.703	1.85	1.95	09T40-2	1069.60	21.392	11.523	1.86	1.96

09T40-3	537.98	10.760	5.797	1.86	2.26	09T41-7	560.45	11.209	6.215	1.80	1.91
09T40-4	1407.77	28.155	17.058	1.65	1.17	09T41-9	1801.56	36.031	19.976	1.80	1.72
09T40-5	1582.70	31.654	17.038	1.86	1.86	09T41-10	2433.81	48.676	26.333	1.85	1.98
09T40-6	1659.73	33.195	17.948	1.85	1.86	09T42-1	1589.43	31.789	17.372	1.83	1.99
09T40-7	314.27	6.285	3.211	1.96	2.36	09T42-2	3457.52	69.150	37.796	1.83	1.74
09T40-8	1486.48	29.730	15.461	1.92	2.04	09T42-3	1262.16	25.243	13.838	1.82	1.87
09T40-9	971.40	19.428	10.706	1.81	1.81	09T42-4	1287.83	25.757	14.393	1.79	1.71
09T41-1	1421.66	28.433	15.077	1.89	1.86	09T42-5	2700.90	54.018	29.335	1.84	1.85
09T41-2	1299.68	25.994	14.015	1.85	2.15	09T42-6	1237.44	24.749	13.683	1.81	1.81
09T41-3	876.96	17.539	9.892	1.77	1.55	09T42-7	1401.03	28.021	15.817	1.77	1.75
09T41-4	1959.80	39.196	20.397	1.92	1.88	09T42-8	2022.19	40.444	21.258	1.90	1.95
09T41-5	1542.64	30.853	16.742	1.84	1.98	09T42-9	1206.47	24.129	13.401	1.80	1.95
09T41-6	489.77	9.795	5.207	1.88	2.22	09T42-10	2495.66	49.913	26.793	1.86	2.01
09T41-8	1125.41	22.508	12.011	1.87	2.01						

Tablo 16. Solanum melongena x Solanum incanum BC2F1 populasyonu için anaçlarda yapılan markör polimorfizm testleme sonuçları.

COSII Markörleri	Polimorfizm İçin Testlenen Restriksiyon Enzimleri	COSII Markörleri	Polimorfizm İçin Testlenen Restriksiyon Enzimleri
At1g01730	<i>çalışmadı</i>	At1g05350	<i>Bme 1390 I, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, Xmil</i>
At1g02140	<i>Kpn, Apa I, Csp, BamH,Box, Nmuc</i>	At1g05385	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, Xmil</i>
At1g02150	<i>Kpn, Apa I, Csp, BamH,Box, Nmuc, Ssp</i>	At1g05970	<i>çalışmadı</i>
At1g02560	<i>Kpn, Apa I, Csp, BamH,Box, Nmuc</i>	At1g07080	<i>TruI I, Apa I</i>
At1g02910	<i>çalışmadı</i>	At1g07960	<i>çalışmadı</i>
At1g03250	<i>çalışmadı</i>	At1g08940	<i>KpnI, Apa I, Csp6,I BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, Xmil</i>
At1g03310	<i>Kpn, Apa I, Pst, Tas I, Bspt I, Xmil</i>	At1g09150	<i>çalışmadı</i>
At1g04530	<i>Kpn, Apa I</i>	At1g09620	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>
At1g05055	<i>çalışmadı</i>	At1g10020	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI,Box, NmuCI</i>
At1g11860	<i>KpnI, Apa I, Csp6,I BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, Xmil</i>	At1g10240	<i>çalışmadı</i>
At1g13380	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At1g10500	<i>Hinfl,KpnI, Apa I, Csp6,I BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, Xmil</i>
At1g14000	<i>çalışmadı</i>	At1g22850	<i>BsuRI, Apa I, Csp6I, BamHI,Box, NmuCI, SspI, PstI, Tas I, BspT I, Xmil</i>
At1g14300	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At1g23890	<i>XapI, Apa I, SspI</i>
At1g14310	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At1g24360	<i>çalışmadı</i>
At1g14790	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At1g26520	<i>KpnI, Apa I, SspI</i>
At1g14810	<i>BseG I, Apa I</i>	At1g27385	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI,Box, NmuCI, SspI, PstI, Tas I, BspT I, Xmil</i>
At1g16180	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At1g29320	<i>KpnI ,Apa I, Csp6I, BamHI,Box, NmuCI, SspI, PstI, Tas I, BspT I, Xmil</i>

At1g16870	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At1g29900	<i>Ban I FD, Xbal, Csp6I</i>
At1g17410	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At1g30110	<i>Bgl II, PvuI, Mval</i>
At1g18270	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At1g30360	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, SspI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At1g18660	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At1g21690	<i>çalışmadı</i>
At1g19140	<i>çalışmadı</i>	At1g30580	<i>HhaI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At1g19530	<i>çalışmadı</i>	At1g30825	<i>çalışmadı</i>
At1g20050	<i>KpnI, Apa I</i>	At1g31410	<i>çalışmadı</i>
At1g20575	<i>SspI</i>	At1g31970	<i>çalışmadı</i>
At1g32070	<i>çalışmadı</i>	At1g53670	<i>SspI</i>
At1g32900	<i>Ban I FD, Xbal, Csp6I</i>	At1g55170	<i>Ban I FD, Xbal, Csp6I</i>
At1g33970	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, SspI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At1g55870	<i>MspI, PvuII, Mval, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At1g34370	<i>MspI, Apa I</i>	At1g55880	<i>Ban I FD, Xbal, Csp6I</i>
At1g35720	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At1g56345	<i>PvuII, Mval, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At1g42990	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At1g60200	<i>Ban I FD, Xbal, Csp6I</i>
At1g43700	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, SspI</i>	At1g60440	<i>Hind III, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>
At1g44446	<i>KpnI, Apa I</i>	At1g60640	<i>EcoR I, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>
At1g44575	<i>TaqI, Apa I</i>	At1g61620	<i>Ban I FD, Xbal, Csp6I</i>
At1g44760	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, SspI</i>	At1g63610	<i>Ban I FD, Xbal, Csp6I</i>
At1g44790	<i>çalışmadı</i>	At1g63770	<i>BsuR, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>
At1g46480	<i>Ban I FD, Xbal, Csp6I</i>	At1g63980	<i>Csp6I, PvuII, Mval</i>
At1g47830		At1g65720	<i>Ban I FD, Xbal, Csp6I</i>
At1g48300	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, SspI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At1g67325	<i>Ban I FD, Xbal, Csp6I</i>

At1g50020	<i>Hin6I, PvuII, MvaI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At1g67730	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>
At1g51160	<i>Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At1g67740	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>
At1g52200	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, SspI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At1g69420	<i>BseDI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>
At1g52980	<i>EcoR I, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, SspI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At1g71810	
At1g53000	<i>çalışmadı</i>	At1g71950	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>
At1g76150	<i>Alu I, PvuII, MvaI</i>	At1g74520	<i>Hind III, PvuII, MvaI</i>
At1g77470	<i>RsaI, Apa I, Csp6I BamHI, Box, NmuCI</i>	At1g74970	<i>çalışmadı</i>
At1g78230	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At1g75350	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>
At1g78620	<i>KpnI, Apa I</i>	At1g75670	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>
At1g78690	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At1g76080	<i>çalışmadı</i>
At1g79790	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g04690	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>
At1g80170	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g04700	<i>TaqI, Apa I</i>
At1g80360	<i>Taq I, PvuII, MvaI</i>	At2g06005	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>
At1g80360	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g06010	<i>çalışmadı</i>
At1g80460	<i>Alu I, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At2g13540	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>
At2g01110	<i>EcoR V, PvuII, MvaI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At2g14260	<i>çalışmadı</i>
At2g01490	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g15890	<i>BseG I, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>
At2g01720	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g16060	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>
At2g03120		At2g16920	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>
At2g03510	<i>TaqI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT</i>	At2g18710	<i>Hind III, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>
At2g18710	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g28880	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>
At2g20360	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g29210	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>
At2g20820	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g30100	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>

At2g20860	<i>EcoR V, Apa I</i>	At2g30200	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>
At2g21620	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g30970	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>
At2g22570	<i>çalışmadı</i>	At2g32090	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At2g23820	<i>Bme1390 I</i>	At2g32415	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At2g24090	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g32950	<i>Bme1390 I, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuC</i>
At2g24270		At2g32970	<i>MspI, PvuI I, MvaI</i>
At2g24390	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g33990	<i>çalışmadı</i>
At2g25110	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g34560	<i>Taq I, PvuI I, MvaI</i>
At2g25570	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g34560	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At2g25950	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g34620	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At2g26270	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g34860	<i>Xap I, PvuI I, MvaI</i>
At2g26590	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g35610	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At2g26830	<i>HinfI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At2g35920	<i>EcoR I, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At2g27290	<i>çalışmadı</i>	At2g35920	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At2g27450	<i>çalışmadı</i>	At2g36230	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At2g27730	<i>XapI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At2g37240	<i>TaqI, PvuI I, MvaI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At2g28250	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g37330	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At2g28490	<i>Dpn I, PvuI I, MvaI</i>	At2g37500	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At2g28490	<i>Ban I FD, XbaI, Csp6I</i>	At2g37510	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At2g38730	<i>Bme1390 I, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At2g38020	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At2g39100	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>	At3g07100	<i>TaqI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At2g40490	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>	At3g07565	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At2g40760	<i>BseG I, PvuI I, MvaI</i>	At3g08030	<i>Pst I, PvuI I, MvaI, Tas I, BspT I, XmiI</i>

At2g42750	<i>EcoR I, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At3g08760	<i>Dpn II, Pst I, PvuI I, MvaI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At2g42810	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>	At3g09090	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At2g43360	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>	At3g09740	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At2g44310	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>	At3g09920	<i>Bcl I, PvuI I, MvaI</i>
At2g46340	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>	At3g09925	<i>Dra I, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At2g46820	<i>Rsa I, PvuI I, MvaI</i>	At2g38025	<i>Hind III, PvuI I, MvaI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At2g46820	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>	At3g10920	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At2g47580	<i>EcoR I, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At3g11210	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At3g01480	<i>Apa I, BamHI, Box, NmuCl, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At3g11830	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At3g02300	<i>BsuRI, PvuI I, MvaI</i>	At3g12290	<i>Mph1103I, PvuI I, MvaI, Pst I, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At3g03440	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>	At3g12300	<i>Dpn II, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At3g04780	<i>TaqI, PvuI I, MvaI</i>	At3g13180	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At3g04870	<i>Tru I, Apa I, Csp6 I, BamHI, Box, NmuCl</i>	At3g13235	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At3g06050	<i>Hind III, Apa I, Csp6 I, BamHI, Box, NmuCl</i>	At3g13700	<i>Csp6l, PvuI I, MvaI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At3g06730	<i>XapI, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At3g13940	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At5g54310	<i>Ban I FD, PstI, RsaI</i>	At3g14910	<i>EcoR I, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At5g57655	<i>Hinc II, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At3g15190	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At5g57970	<i>Ban II, PvuI I, MvaI</i>	At3g15290	<i>TaqI, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At5g57970	<i>Ban I FD, PstI, RsaI</i>	At3g15430	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At5g58200	<i>Ban I FD, PstI, RsaI</i>	At3g16150	<i>BamHI, PvuI I, MvaI, Pst I, Tas I, BspT I, XmiI</i>

At5g58410	<i>Ban I FD, PstI, RsaI</i>	At3g16150	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At5g59960	<i>BseDI, PvuII, MvaI, PstI, Tas I, BspTI, XmiI</i>	At3g17000	<i>EcoRI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspTI, XmiI</i>
At5g60160	<i>HinfI, PvuII, MvaI, PstI, Tas I, BspTI, XmiI</i>	At3g17040	<i>TaqI, Apa I, PstI, Tas I, Bsp I, XmiI</i>
At5g60540	<i>Ban I FD, PstI, RsaI</i>	At3g17590	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At5g60540	<i>çalışmadı</i>	At3g18860	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At5g60990	<i>Ban I FD, PstI, RsaI</i>	At3g19900	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At5g60990	<i>çalışmadı</i>	At3g20020	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At5g61410	<i>Ban I FD, PstI, RsaI</i>	At3g20390	<i>Taq, PvuII, MvaI, PstI, Tas I, BspTI, XmiI</i>
At5g61410	<i>Pst I</i>	At3g20390	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At5g62390	<i>HinfI, PvuII, MvaI</i>	At3g23400	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At5g63220	<i>Ban I FD, PstI, RsaI</i>	At3g23590	<i>Hinf I</i>
At5g64350	<i>Ban I FD, PstI, RsaI</i>	At3g24010	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At5g64730	<i>TaqI, PvuII, MvaI</i>	At3g24050	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At5g64970	<i>Ban I FD, PstI, RsaI</i>	At3g24490	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At5g66090	<i>Ban I FD, PstI, RsaI</i>	At3g25120	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At5g51110	<i>Ban I FD, PstI, RsaI</i>	At3g25920	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At4g15520	<i>Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At3g27200	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At4g15520	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g44880	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At4g15530	<i>BseGI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At3g44890	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At4g16580	<i>Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At3g47640	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At 4g16580	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g47930	<i>Ban I FD, Bme1390 I, HinfI</i>
At4g16710	<i>Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>	At3g47990	
At4g16710	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g51010	<i>MvaI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspTI, XmiI</i>
At4g17380	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g51840	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g18593	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g52220	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g18810	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g52730	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g20410	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g52860	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g21520	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g53180	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g21710	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g54360	<i>MspI, PvuII, MvaI, PstI, Tas I, BspTI, XmiI</i>
At4g22260	<i>TaqI, PvuII, MvaI</i>	At3g54470	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g23100	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g54770	<i>BamHI, PvuII, MvaI, PstI, Tas I, BspTI, XmiI</i>
At4g24690	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g55360	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g24830	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g55800	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g26180	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g56040	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>

At4g26680	<i>Mspl, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At3g56130	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g26750	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g57270	<i>BsuRI, Pvul I, Mval</i>
At4g27700	<i>TaqI, Pvul I, Mval, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At3g57280	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g28530	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g58470	<i>Dpn II, Pvul I, Mval</i>
At4g29490	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g58470	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g30220	<i>EcoR I, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At3g60830	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g30580	<i>Hinfl, Pvul I, Mval, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At3g61140	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g31130	<i>Rsal, Pvul I, Mval, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At3g62010	<i>Hhal, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At4g32770	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At3g62940	<i>Dpn II, Pvul I, Mval</i>
At4g33250	<i>çalışmadı</i>	At3g63190	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g33360	<i>çalışmadı</i>	At4g00090	<i>Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>
At4g33985	<i>Hhal, Pvul I, Mval</i>	At4g00560	<i>çalışmadı</i>
At4g34700	<i>Hinc II, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At4g01880	<i>EcoR I, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>
At4g35250	<i>BsuRI, Apa I, Csp, BamHI, Box, Nmuc</i>	At4g03280	<i>EcoR V, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At4g35560	<i>BmeI390I, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At4g04930	<i>KpnI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At4g37280	<i>çalışmadı</i>	At4g09010	<i>Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, Dpn II, Pvul I, Mval</i>
At4g38240	<i>TaqI, Pvul I, Mval</i>	At4g09010	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g38630	<i>TaqI, Pvul I, Mval</i>	At4g10030	<i>Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, TaqI, Pvul I, Mval, Pst I, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At4g38810	<i>Kpn I, Pvul I, Mval</i>	At4g10030	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>
At4g38810	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At4g10050	<i>çalışmadı</i>
At4g39660	<i>EcoR V, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At4g11120	<i>Alw21I, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At5g01350	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At4g12230	<i>Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At5g01990	<i>CfoI, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At4g12590	<i>BseD I, Apa I, Csp6I, BamHI, Box, NmuCI, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>
At5g04590	<i>Dpn I, Pvul I, Mval</i>	At4g13780	<i>Csp6I, BamHI, Box, NmuCI</i>
At5g04740	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At4g15420	<i>çalışmadı</i>
At5g04910	<i>EcoR V, Pvul I, Mval, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At5g20350	<i>Ban I FD, PstI, Rsal</i>
At5g06130	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At5g20890	<i>Ban I FD, PstI, Rsal</i>
At5g06370	<i>BsuRI, Pvul I, Mval, PstI, Tas I, BspT I, XmiI</i>	At5g23060	<i>Ban I FD, PstI, Rsal</i>
At5g06430	<i>çalışmadı</i>	At5g23120	<i>Ban I FD, PstI, Rsal</i>
At5g07910	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At5g23880	<i>Dpn II, Pvul I, Mval</i>

At5g07960	<i>Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, Pstl, Tas I, BspT I, Xmil</i>	At5g25630	<i>Hinfl, PvuI l, Mval, Pstl, Tas I, BspT I, Xmil</i>
At5g08420	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At5g25630	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g09880	<i>Rsal, PvuI l, Mval</i>	At5g25760	<i>TaqI, PvuI l, Mval</i>
At5g09880	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At5g26030	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g11480	<i>BamHI</i>	At5g26710	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g11490	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At5g27390	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g12200	<i>Dpnl, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, Pstl, Tas I, BspT I, Xmil</i>	At5g27620	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g12370	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At5g35360	<i>Sspl, PvuI l, Mval, Pstl, Tas I, BspT I, Xmil</i>
At5g13030	<i>Ban I FD, BsuRI, Dra I</i>	At5g37260	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g13240	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>	At5g37360	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g13450	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>	At5g39040	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g13640	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>	At5g40530	<i>Hinfl, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, Pstl, Tas I, BspT I, Xmil</i>
At5g13700	<i>Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl</i>	At5g41040	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g14520	<i>EcoR I, Apa I</i>	At5g41350	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g16620	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>	At5g41480	<i>Hinfl, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, Pstl, Tas I, BspT I, Xmil</i>
At5g16710	<i>Hinfl, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, Pstl, Tas I, BspT I, Xmil</i>	At5g42740	<i>TaqI, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, Pstl, Tas I, BspT I, Xmil</i>
At5g19690	<i>Cfol, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl</i>	At5g44250	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g49970	<i>BamHI, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl</i>	At5g45410	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g50720	<i>TaqI, PvuI l, Mval, Pstl, Tas I, BspT I, Xmil</i>	At5g47040	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g50720	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>	At5g48300	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g51160	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>	At5g48330	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
At5g51840	<i>Dra I, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, Pstl, Tas I, BspT I, Xmil</i>	At5g49830	<i>TaqI, Apa I, Csp6l, BamHI, Box, NmuCl, Pstl, Tas I, BspT I, Xmil</i>
At5g51970	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>	At5g52820	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>
		At5g54080	<i>Ban I FD, Pstl, Rsal</i>

4.4. Patlıcan'da Antioksidant ve Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Karakterizasyonu

Fonksiyonel gıdalara karşı dünya çapında artan bir ilgi bulunmaktadır. Özellikle sebze ve meyve gibi gıdalar sadece besleyici değil, aynı zamanda, insan sağlığını olumlu etkileyen antioksidanlar gibi, bileşikleri vardır. Bu nedenle, değişik tarımsal ürünlerde antioksidan kapasitesi bakımından surveyleme çalışmaları yapılmıştır BOR ve ark. (2006), CHU ve ark. (2002), HALVORSEN ve ark. (2002), HUANG ve ark. (2004), OU ve ark. (2002), PELLEGRINI ve ark. (2003). Domates ve biber gibi *Solanaceae* ailesinin diğer üyeleri ile kıyaslandığında, patlıcan'da antioksidan aktivitesi ile ilgili çalışmaların sayısı son derece sınırlıdır. Şu ana kadar 115 patlıcan genotipinde fenolik bileşiklerin kompozisyonunun çalışıldığı iki dikkat çekici çalışma hariç bu konuda fazla bir çalışma rapor edilmemiştir (STOMMEL ve WHITAKER 2003, HANSON ve ark. 2006). Bu çalışmada, 14 farklı bileşik belirlenmiştir ve bu bileşikler araştırmacılar tarafından yapılarına göre beş grup içerisinde sınıflandırmışlardır. HANSON ve ark. (2006) tarafından toplam fenolik madde ve C vitamini içeriği ve süperoksit tutma aktiviteleri bakımından 35 patlıcan genotipi değerlendirilmiştir. Her iki çalışmada da antioksidan karakterler bakımından patlıcan genotipleri arasında önemli seviyede varyasyon gözlenmiştir.

Bu proje kapsamında 25 Türk ve bir yabancı orijinli patlıcan çeşiti antioksidan aktivitesi ve fenolik madde içeriği bakımından karakterize edilmiştir (Tablo 3). Çalışmada kullanılan 26 genotipten 25 tanesi *S. melongena* çeşitidir ve bir tanesi ise (Rize) *S. aethiopicum* türüne ait bir çeşittir. *S. aethiopicum* esas olarak Afrika'da kültüre alınmış bir patlıcan türüdür. Bir çok farklı faktör bitkilerde antioksidan bileşiklerin seviyesini etkilemektedir. Bu faktörler arasında çevresel, genotip (çeşit) ve depolama şartları yer almaktadır. Bunun yanı sıra, toplam antioksidan aktivitesi ve fenolik madde içeriğinin izolasyonu ve belirlenmesi için bir çok geçerli yöntem mevcut bulunmaktadır. Bu nedenle, farklı çalışmalardan elde edilen sonuçların doğrudan kıyaslanması zordur ve hatta bazı durumlarda imkansızdır. Patlıcan genotiplerinin suda çözünebilir antioksidan aktivitesi 2664 µmolTrolox/kg ile 8247 µmolTrolox/kg arasında değişiklik göstermiştir (Tablo 17). En yüksek antioksidan aktivitesi Çamlıca çeşitinde görülmüştür ve bu çeşitte antioksidan aktivite bakımından en yakın çeşit olan Giresun çeşitinden 1.4 kat daha fazla aktivite ölçülmüştür. Antioksidan aktivitesi bakımından en düşük değer gösteren çeşit bir Avrupa ıslah hattı olan MM738 olmuştur. Bu çeşitle Çamlıca çeşiti arasında 3.1 kat fark oluşmuştur.

Çalışmada kullanılan 26 çeşitin ortalama antioksidan aktivitesi 4442 ± 243 (SE) µmol Trolox/kg olarak hesaplanmıştır. Patlıcanlar tiplerine göre gruplandığında, bütün tipler benzer seviyede toplam antioksidan aktivitelerine sahip oldukları görülmüştür. Bu çeşitler arasında toplam antioksidan aktivite bakımından istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 18). Ancak, bu gruplar arasında önemli düzeyde varyasyon vardır. Uzun ve Beyli tipleri antioksidan aktivite bakımından en önemli varyasyon düzeyine sahip olduklarını göstermiştir. En yüksek ve düşük değere sahip olan çeşitler arasında sırasıyla, 2.7 ve 2.1 kat farklılık belirlenmiştir (Şekil 20). Topan tiplerinde toplam antioksidan aktivite bakımından en yüksek ve en düşük değerler arasında 1.4 kat farklılık ortaya çıkmıştır.

Tablo 17. Patlıcan çeşitlerinin antioksidan aktivitesi ve ve toplam fenolik madde içeriği. Çeşitler toplam antioksidan aktivitelerine göre sıralandırılmışlardır

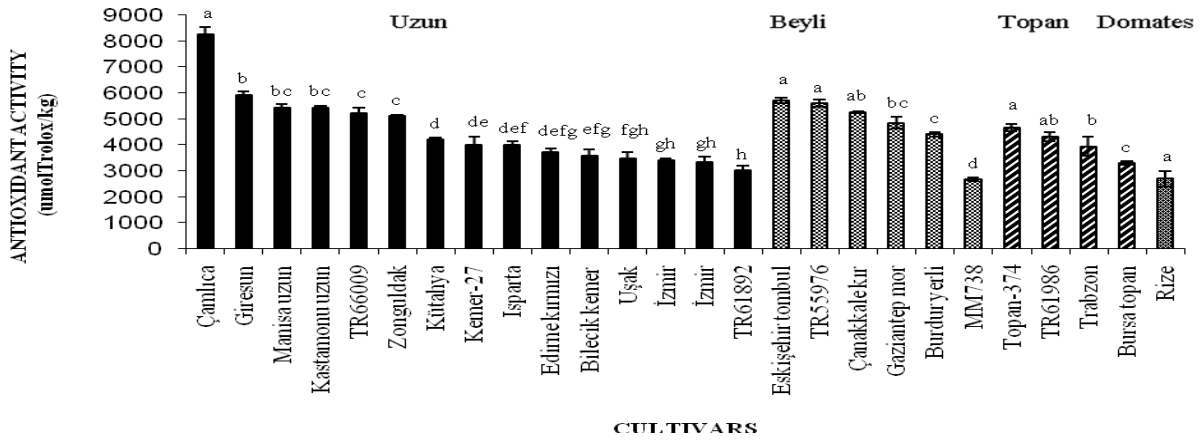
Çeşit / Genotip İsmi	Tohum Örneği No	Antioxidant Activity ($\mu\text{molTrolox/kg}$) $\pm\text{SE}$	Sıralama	Phenolics Content (mg/kg) $\pm\text{SE}$	Sıralama
Çamlıca	na*	8247.2 \pm 2796	1	1375.9 \pm 13	2
Giresun	TR55678	5918.7 \pm 145.1	2	1255.6 \pm 3.2	4
Eskişehir Tombul	TR66012	5709.4 \pm 108.5	3	1388.9 \pm 16.1	1
TR55976	TR55976	5596.5 \pm 132.9	4	877.8 \pm 5.6	14
Manisa Uzun	TR62668	5442.2 \pm 125.1	5	1064.8 \pm 6.7	9
Kastamonu Uzun	TR37266	5432.2 \pm 62.3	6	1022.2 \pm 22.5	11
Çanakkale Kır	TR43010	5255.3 \pm 40.9	7	1050 \pm 16.1	10
TR66009	TR66009	5216.8 \pm 220.3	8	911.1 \pm 6.4	13
Zonguldak	TR68530	5105.1 \pm 53.9	9	1013 \pm 7.4	12
Gaziantep Mor	TR40300	4850.9 \pm 229.4	10	1075.9 \pm 10.3	8
Topan-374	TR70635	4671.6 \pm 142.2	11	1338.9 \pm 9.6	3
Burdur Yerli	TR66688	4407.5 \pm 92.6	12	877.8 \pm 17	14
TR61986	TR61986	4313.2 \pm 175.5	13	803.7 \pm 6.7	17
Kütahya	TR66559	4192.9 \pm 89.3	14	1338.9 \pm 6.4	3
Kemer-27	TR70633	4014.1 \pm 303.3	15	635.2 \pm 13	21
Isparta	TR66667	4005.9 \pm 144.8	16	792.6 \pm 14.8	18
Trabzon	TR55995	3935.8 \pm 367.7	17	1227.8 \pm 8.5	5
Edirne Kırmızı	TR43306	3724 \pm 122.5	18	846.3 \pm 4.9	16
Bilecik Kemer	TR66017	3570.9 \pm 260.3	19	650 \pm 14.7	20
Uşak	TR66572	3489.2 \pm 221.9	20	675.9 \pm 1.9	19
İzmir	TR50591	3417.6 \pm 46	21	1127.8 \pm 14	7
İzmir	TR50592	3337.4 \pm 198.2	22	911.1 \pm 11.6	13
Bursa Topan	TR66013	3296.9 \pm 63.1	23	850 \pm 14.7	15
TR61892	TR61892	3003.5 \pm 197.2	24	1155.6 \pm 29.4	6
Rize	TR55811	2690.1 \pm 280.9	25	911.1 \pm 16.1	13
MM738	na*	2664 \pm 60.7	26	614.8 \pm 9.8	22

*na = tohum örneği numarası bulunmamaktadır

Tablo 18. Tiplerine göre patlıcan çeşitleri için antioksidan karakterlerin ortalama değerleri. Domates-tip sadece bir çeşitle temsil edildiği için eklenmemiştir. Her bir satır içerisinde, Fishers'in PLSD analizine göre farklı harfler P<0.05 seviyesinde önemli farklılık göstermektedir.

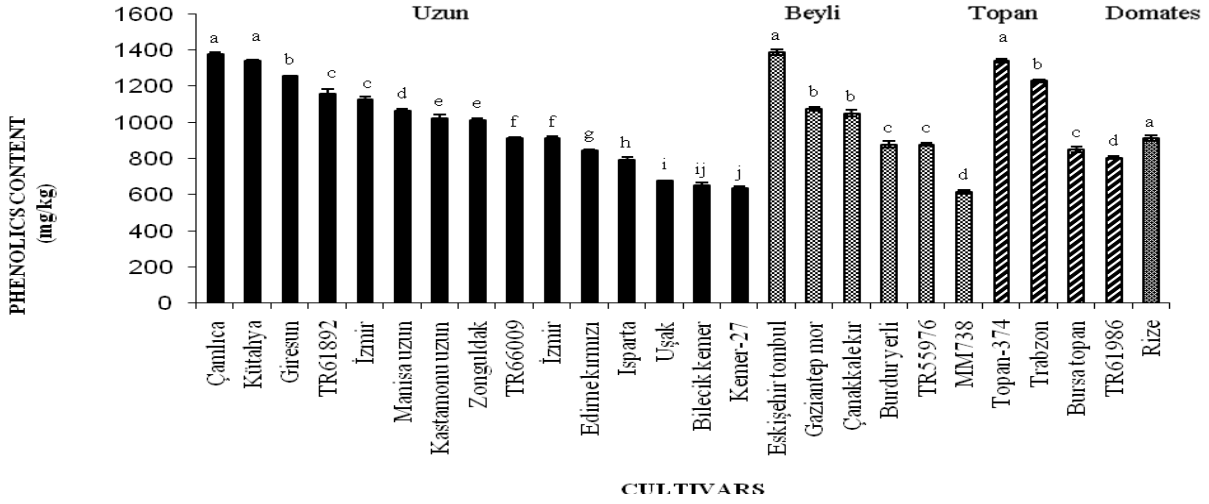
Patlıcan Tipi	Çeşit Sayısı	Ortalama Antioksidan Aktivite ($\mu\text{mol Trolox/kg}$) \pm SE	Ortalama Fenolik Content (mg/kg) \pm SE
Uzun	15	4541.2 \pm 204.1 a	985.1 \pm 35.1 a
Beyli	6	4747.3 \pm 253.6 a	980.9 \pm 57.5 a
Topan	4	4054.4 \pm 179.3 a	1055.1 \pm 70.1 a

Şekil 20. Tiplerine göre patlıcan çeşitlerinin antioksidan aktivitelerinin dağılım grafiği



Çalışmada kullanılan patlıcan çeşitlerinin toplam fenolik madde içeriği 615 mg/kg (MM738) ile 1389 mg/kg (Eskişehir Tombul) arasında değişiklik göstermiştir. Fenolik madde içeriği bakımından bu iki çeşit arasında 2.3 kat farklılık oluşmuştur. Fenolik madde içeriği bakımından benzer düzeyde farklılıklar değişik ülkelerden 35 patlıcan tohum örneğini inceleyen HANSON ve ark. (2006) tarafından da görülmüştür. En yüksek düzeyde fenolik madde içeriğine Eskişehir Tombul çeşitinde rastlanırken, MM738 çeşit bu içerik bakımından en düşük değerde kalmıştır. Şekil 21 tiplerine göre patlıcan çeşitlerinin fenolik madde içeriklerinin dağılım grafiğini göstermektedir. Bütün patlıcan çeşitlerinin ortalama fenolik madde içeriği 992 ± 46 (SE) mg/kg olarak hesaplanmıştır. Patlıcan çeşitleri tiplerine göre gruplandırıldığında, bütün tipler fenolik madde içeriği bakımından benzer ortalama değerlere sahip olup bu değerler arasında istatistikî önemlilikte bir farklılık oluşmamıştır (Tablo 18). Bütün tipler toplam fenolik içerik bakımından benzer düzeyde varyasyon göstermiş olup değerler arasında 1.7 ile 2.3 kat farklılık mevcut bulunmaktadır (Şekil 21).

Şekil 21. Tiplerine göre patlıcan çeşitlerinin fenolik madde içeriklerinin dağılım grafiği



4.5. Patlıcan glikoalkaloidlerinin Saflaştırılması ve karakterizasyonu

TLC ile belirlenen örneklerin doğruluğunu kontrol etmek için NMR (nükleer manyetik rezonans) spektrumu alınmıştır. NMR solventi olarak dötero-kloroform, dötero-metanol denenmiştir. Ancak, örnekler bu solventler içinde kristallendiği için spektrum alınamamıştır. Bu nedenle proton NMR spektrumu dötero-piridin kullanılarak alınmıştır. Literatür ile elde edilen veriler karşılaştırılarak maddelerin doğruluğu saptanmıştır (Tablo 19).

Tablo 19. Saflaştırılan solamargine ve solasonine lerin literatürdeki verilerle karşılaştırılması

Saflaştırılan Solamargine Rf (retention factor) değeri	Rf: 4,1 / 7,5 = 0,546 cm
Karşılaştırılan Solamargine Rf (retention factor) değeri	Rf: 4 / 7.4= 0,540 cm
Saflaştırılan Solasonine Rf (retention factor) değeri	Rf: 3,1 / 7,3 = 0,426 cm
Karşılaştırılan Solasonine Rf (retention factor) değeri	Rf: 3,2 / 7.4= 0,432 cm

Elde edilen RF değerlerine göre saflaştırılan örneklerin karşılaştırmalı analizleri sonucunda solamargine ve solasonin olduğuna karar verilmiştir. Bu sonuçları doğruluğunu kontrol etmek için ¹H NMR spektrumu alınmıştır. Tablo 20'de hidrojenlerin konumu, kaçınıcı karbona bağlı oldukları yada hangi fonksiyonel grupta buldukları göz önüne alınarak kimyasal kayma (ppm) değerleri verilmiştir. Şekil 22 de solamargine ve solasonine standartları ile saflaştırılan örneğin Rf değerlerinin karşılaştırılması verilmiştir. Şekil 23 ise solamargine ve solasonine fraksiyonlarını göstermektedir.

Aglikon yapısında (solasodine) bulunan karbonlar 1'den 27'ye kadar; aglikon yapıya bağlı ilk şekerde (solamargine'de glukoz; solasonine'de glukoz) 1', 2', 3', 4', 5', 6' olarak; ilk şekerle bağlanan 2. şekerlerde (solamargine'de ramnoz; solasonine'de glukoz) 1'', 2'', 3'', 4'', 5'', 6'' olarak; ve 3. şekerlerde ise (solamargine'de ramnoz; solasonine'de ramnoz) 1''', 2''', 3''', 4''', 5''', 6''' olarak numaralandırılmıştır. Solamargine ve solasonine'in aglikon yapıları birbirleriyle aynı olup sadece aglikon yapılarındaki 3. karbondan oluşan glikosidasyon

farklıdır; solasonine’de { α -L- ramnopiranozil- (1→2)-[β -D glikopiranozil-(1→3)]-D-galaktoz} olup solamargine’de { α -L- ramnopiranozil- (1→2)-[α -L ramnopiranozil-(1→4)]-D-glukoz} dir. ¹H- NMR spektrumunda solamargine ve solasonine’de 16. hidrojen oksijene komşu olduğu için ve 26. hidrojen azota komşu olduğu için düşük alanda çıkmıştır. 3. hidrojen ise glikosidasyondan kaynaklı (solamargine için 3.90 ppm,

Tablo 20. H-1 NMR spektrum değerleri.

H	<i>Solasonine</i>	<i>Solomargine</i>	H	<i>Solasonine</i>	<i>Solomargine</i>
1	1.69, 1.10 ddd	1.93, 1.17	24	2.07, 1.95	2.06, nd
2	2.07, 1.94	2.06, 1.93	25	2.15	2.08
3	3.90 dddd, 2.76	3.90, 2.44	26	1.43, 1.56	1.37, 1,39
4	2.77, nd	2.79	27	0.64	nd
5	-	-	1'	4.71	4.71
6	4.97 brd	4.98	2'	4.62	4.68
7	1.86, 1.42	1.83, 1.42	3'	4.60	4.67
8	1.42	1.43	4'	4.34	4.31
9	0.66	1.11	5'	3.90	3.90
10	-	-	6'	3.94	4.22
11	1.40, 1.42	1.40, 1.39	1''	6.68	6.56
12	1.75, 1.10	1.75, 1.12	2''	4.73	4.74
13	-	-	3''	4.81	4.76
14	1.79, 2.29	1.80, 2.27	4''	4.85	4.88
15	1.86- nd	1.83-nd	5''	4.97	4.91
16	4.51	4.50	6''	2.45	2.44
17	1.92	1.97	1'''	6.14	5.63
18	0.60	nd	2'''	4.84	4.76
19	0.56	1.17	3'''	4.82	4.74
20	2.07	2.26	4'''	4.74	4.71
21	nd	2.37	5'''	4.73	4.68
22	-	-	6'''	4.60	4.6
23	1.94, 2.12	1.98, 2.16			

*ddd: dublet dublet dublet pikler

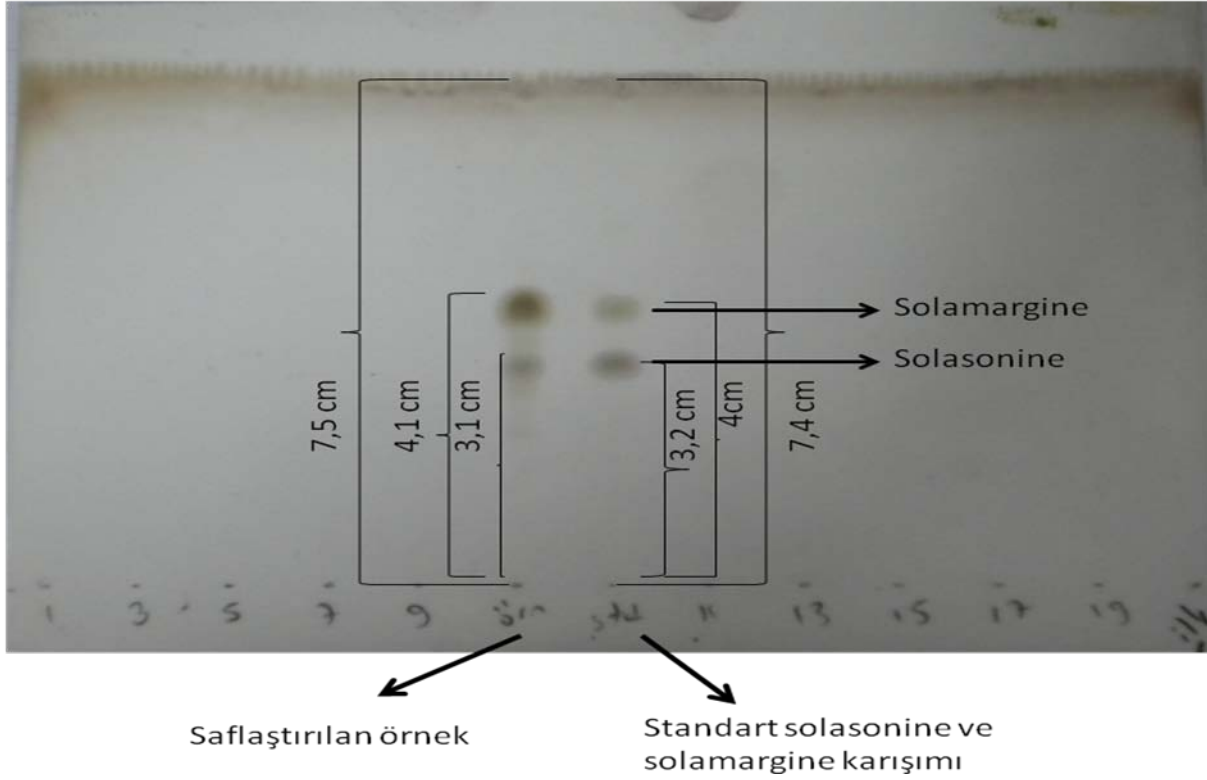
*dddd: dublet dublet dublet dublet pikler

*brd: geniş (broad) dubled pikler

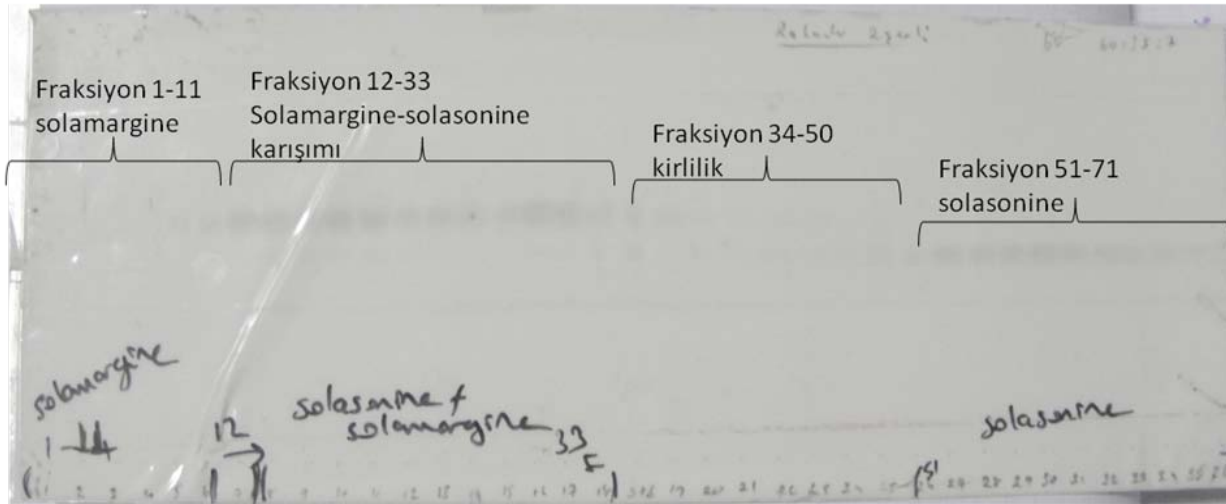
*nd: not defined- değeri okunamayan pikler

2.44 ppm ve solasonine için 3.90 ppm, 2,76 ppm değerine çıkmıştır. Her iki bileşikteki 6. hidrojen siklizasyon ve çift bağdan dolayı daha düşük alana kaymıştır. Ayrıca, her iki molekülünde aglikon yapısında dört tane metil grubu

Şekil 22. Solamargine ve solasonine standartları ile saflaştırılan örneğin Rf değerlerinin karşılaştırılması

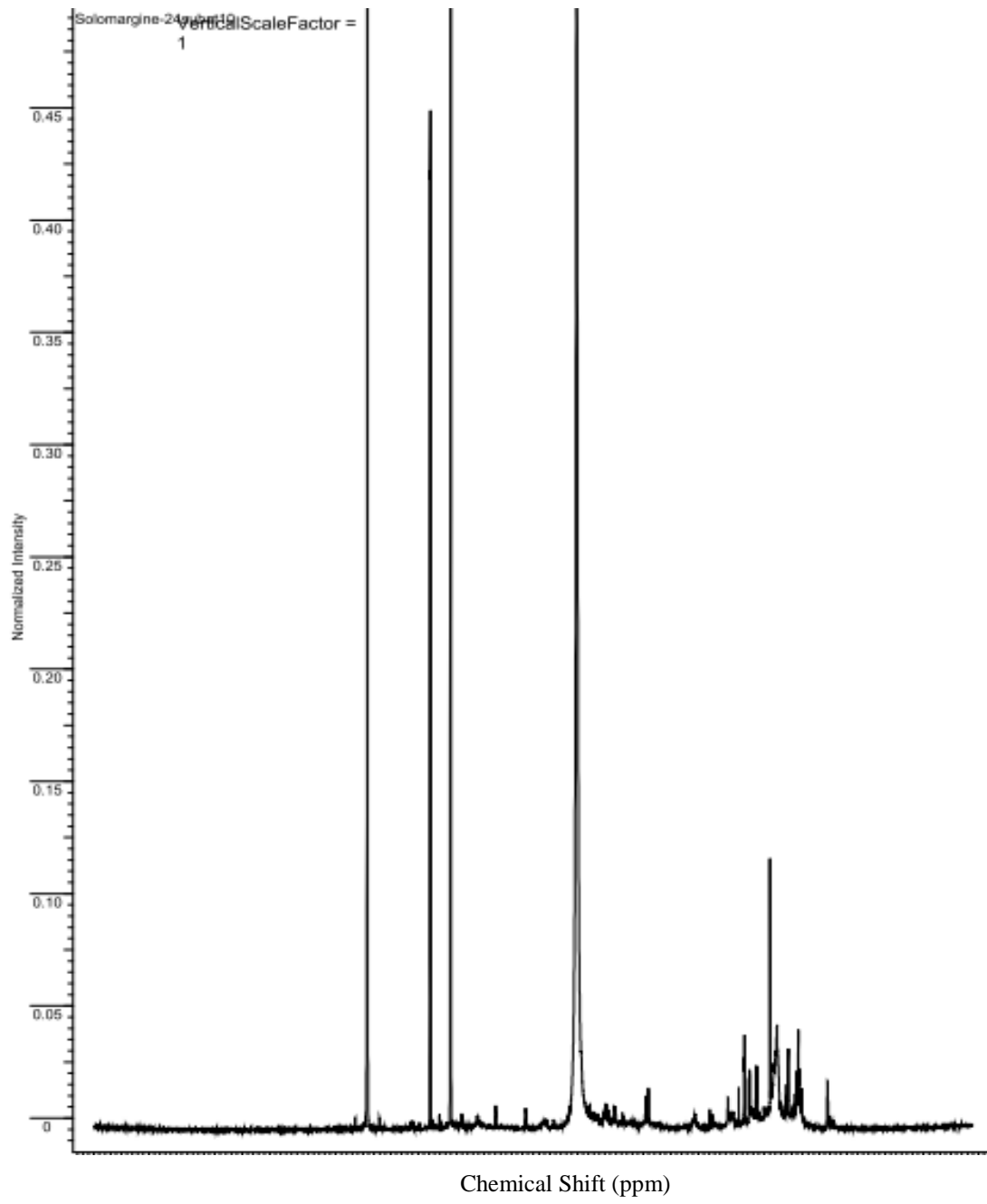


Şekil 23. Solamargine ve solasonine fraksiyonları

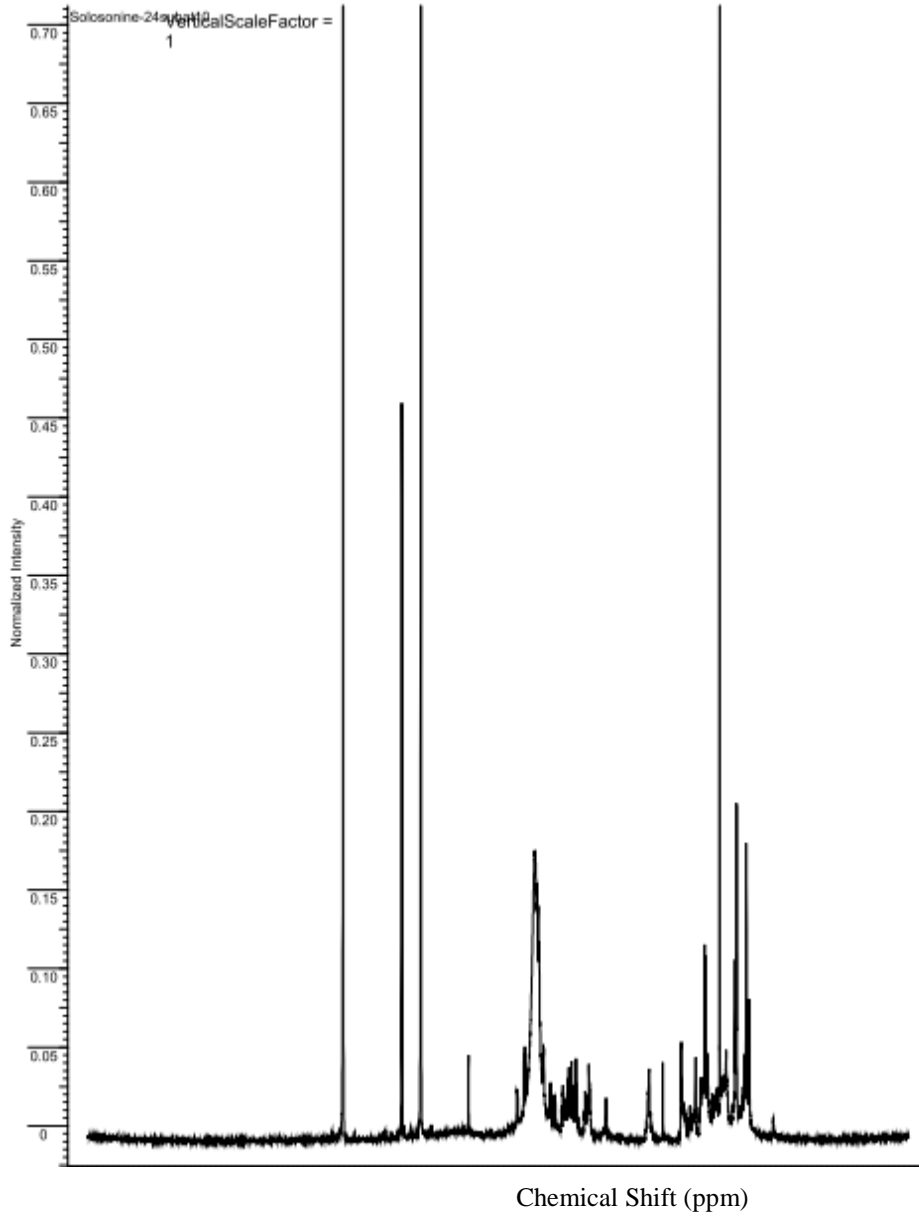


bulunmaktadır. Bu dört metil grubunda ^1H NMR spektrumunda yüksek alanda singlet (tek) pik vermiştir. Şekil 24 ve 25 Solamarginin ve Solasoninin ^1H NMR spektrumları ve NMR koşullarını vermektedir.

Şekil 24. Solamarginin ¹H NMR spektrumları ve NMR koşulları

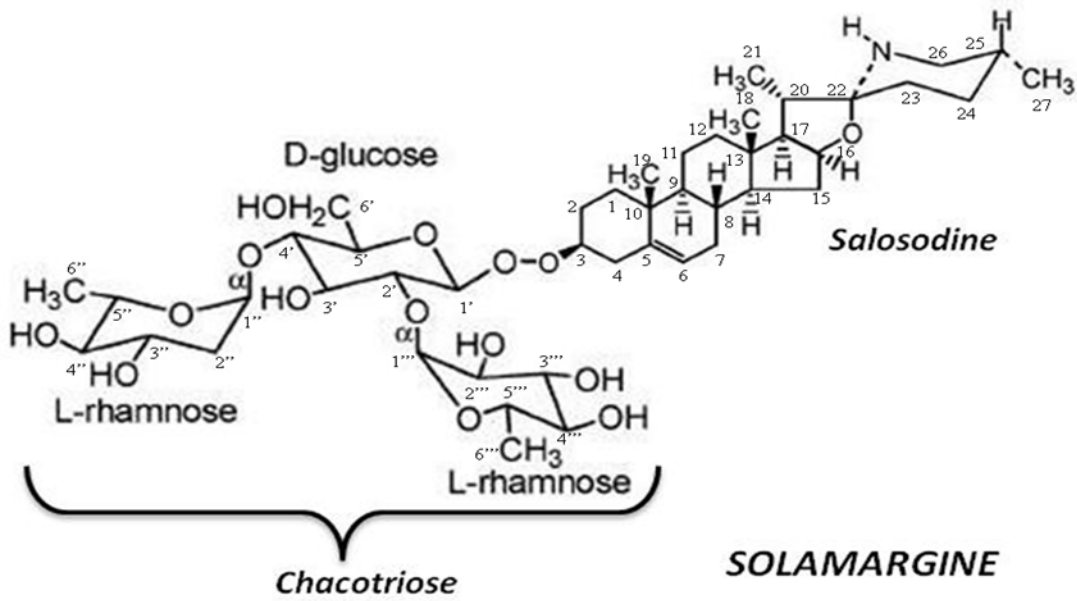
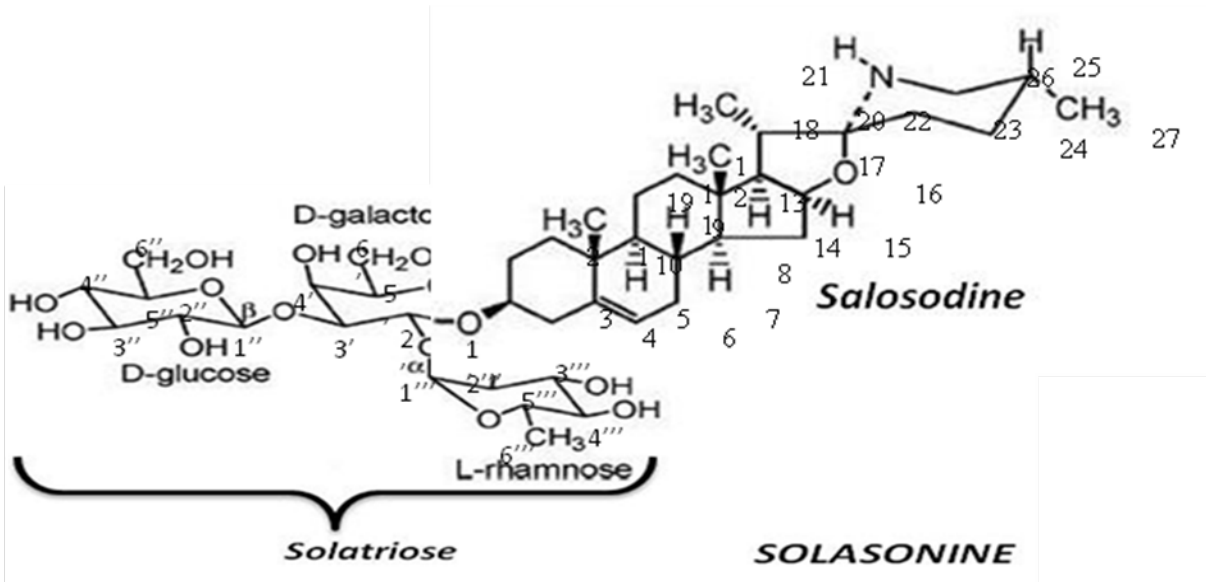


Şekil 25: Solasoninin 1H NMR spektrumları ve NMR koşulları



Moleküllerin yapısında bulunan şeker molekülleri genellikle düşük alanda sinyal verirler. Bu nedenle, solasonine ve solamargine'deki şeker farklılıkları 1H NMR spektrum datalarında farklı şekerlerin birbirine bağlanmasından dolayı farklı gözükmemektedir. Şekil 5 solamargine ve solasoninin kimyasal yapıları ve NMR spektrumunda değerlendirilen hidrojenlerin konumunun ve karbon numaralarını göstermektedir.

Şekil 26: Solamargine ve solasoninin kimyasal yapıları ve NMR spektrumunda değerlendirilen hidrojenlerin konumunun ve karbon numaralarının gösterimi



5. Sonuç

1. Patlıcan'da moleküler ve morfolojik seviyelerde genetik çeşitlilik çalışmaları son derece sınırlıdır (BEHERA ve ark. 2006, PROHENS ve ark. 2005, MUNOZ-FALCON ve ark. 2008, MUNOZ-FALCON ve ark. 2008). Bununla birlikte, bu tür çalışmalar toplanmış genetik materyalleri kullanarak germplazm yönetimi ve ıslah çalışmaları için gerekli olan bilgileri sağlama açısından zorunludur. Bu çalışmada, Türk patlıcan çeşitleri morfolojik ve moleküler çeşitlilik çalışmaları için incelenmiştir.

Türk patlıcan çeşitleri ile yapılan morfolojik çeşitlilik analizleri tohum örneklerinin ayrıştırılmasında meyve şekli ve uzunluğu gibi meyve karakterleri ile çok güçlü ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Bu nedenle, uzun ve yarı-uzun tipler PCA analizlerinde farklı gruplar içerisinde bulunma yönünde eğilim göstermiştir. Patlıcan tiplerine göre yapılan bu tip ayrıştırmalar İspanyol patlıcanlarında morfolojik varyasyon düzeyini çalışan PROHENS ve ark. (2005) tarafından da gözlenmiştir. Patlıcan tohum örnekleri genelde meyve tipine göre kümelenmeye yönelik bir eğilim içerisinde olmasına karşın, bazı yarı-uzun tipler morfolojik olarak uzun tiplere benzerlik göstermiştir. Bu sonuç bu tür yapılan sınıflandırmanın sadece meyve şekline dayanılı olması ve PCA eğrisinin 30 değişkeninin sonucu olmasından dolayı şaşırtıcı olmamıştır. Ayrıca, morfolojik karakterler için yapılan analizler uzun tiplerin yarı-uzun (ve hatta yuvarlak) tiplerden daha düşük seviyede morfolojik çeşitliliğe sahip olduklarını göstermiştir. Benzer sonuçlar yuvarlak ve yarı-uzun tiplerin uzun patlıcanlardan daha fazla morfolojik varyasyona sahip olduklarının rapor edildiği İspanyol patlıcanları içinde gösterilmiştir (PROHENS ve ark. 2005). Bu bilgiler Türkiye'deki patlıcan germplazm koleksiyonu için yapılacak ileri düzey çalışmaların morfolojik olarak daha fazla çeşitli tipteki materyalleri kapsadığı için yarı-uzun ve yuvarlak tipler üzerinde yoğunlaşması gerektiğini ortaya koymuştur.

AFLP markörleri kullanarak Türk patlıcan çeşitleri ile yapılan genetik çeşitlilik analizleri test edilen materyaller üzerinde yüksek düzeyde polimorfizm göstermeleri ve markörlerin büyük çoğunluğunun (%72) *Solanum melongena* tohum örnekleri arasında polimorfik olmasından dolayı bu tür işler için AFLP markörlerinin uygun olduğunu ortaya koymuştur. Buna karşılık, STAGEL ve ark. (2008) SSR markörleri kullanarak 38 *Solanum melongena* tohum örneği içerisindeki genetik çeşitliliği inceledikleri çalışmada kullanılan markörlerin sadece %28'inin polimorfik olduğunu saptamışlardır. Markörlerin polimorfizm düzeyindeki bu farklılık muhtemelen AFLP ve mikrosatellit markörlerin genomun farklı bölgelerini örneklemelerinden kaynaklanmaktadır. STAGEL ve ark. (2008) tarafından kullanılan SSR markörleri gen dizileri kullanılarak belirlenmiştir ve bu nedenle, genlerin kodlama bölgelerini haritalamaları beklenmektedir. Buna karşılık, AFLP markörleri özellikle genik bölgeleri hedeflememektedir. Sonuç olarak, bu tür diziler daha az korunmuştur ve gene dayalı markörlere kıyasla daha polimorfiktirler.

AFLP markörleri bu çalışmada kullanılan patlıcan dışındaki diğer türleri daha önceki çalışmalardan beklenildiği gibi patlıcan grubu dışında grublamıştır. Bu nedenle, bu çalışmada *S. linnaeanum* türü *S. melongena*'ya en yakın tür olarak belirlenirken (FURINI ve WUNDER 2004, LEVIN ve ark. 2006) *S. aethiopicum* ve *S. macrocarpon* türlerini ise çok daha farklı olduklarını ortaya koymuştur. Patlıcan ve *S. linnaeanum* arasındaki genetik benzerlik ayrıca bu iki türün taksonomilerinden de ortaya çıkmaktadır. *S. melongena* ve *S. linnaeanum* türleri *Solanum* cinsi içerisinde

Melongena seksiyonu içerisinde yer alırken *S. aethiopicum* ve *S. macrocarpon* türleri *Solanum* cinsi içerisinde Oliganthes seksiyonunda yer almaktadır (FURINI ve WUNDER 2004). AFLP verilerine dayalı dendogram analizleri Türk patlıcanlarının orta düzeyde moleküler genetik çeşitliliğe sahip olduklarını ortaya koymuştur. Benzer şekilde orta düzey genetik çeşitliliğe MACE ve ark. (1999) ve FURINI ve WUNDER (2004) tarafından AFLP verileri kullanılarak yapılan çalışmalarda *S. melongena* tohum örneklerinde de gözlenmiştir. BEHERA ve ark. (2006) mikrosatellit markörleri kullanarak yaptıkları çalışmada 92 Güney Asya orijinli *S. melongena* tohum örneklerinde daha geniş düzeyde çeşitlilik bulmuşlardır (genetik çeşitlilik düzeyi 0.37 ile 0.90 arasında değişmiştir). Bununla birlikte, Güney Asya patlıcanının birincil genetik çeşitlilik merkezi olmasından dolayı bu tür daha yüksek düzey varyasyonlar beklenmektedir. Türkiye gibi İspanya’da patlıcanının ikincil düzeyde bir çeşitlilik merkezi olması ve İspanyol patlıcanlarının önemli sayılabilecek bir düzeyde morfolojik ve moleküler genetik varyasyonu taşıdıkları gösterilmiştir (PROHENS ve ark. 2005, MUNOZ-FALCON ve ark. 2008, MUNOZ-FALCON ve ark. 2009). 28 İspanyol ve 4 adet diğer patlıcan çeşitleri arasındaki moleküler genetik çeşitliliği ortaya koymak için AFLP markörleri kullanıldığında, İspanyol patlıcan çeşitlerinin diğer ülke çeşitleri ile moleküler olarak farklı olmadıkları ancak kendi aralarında oldukça farklı olduklarını rapor etmişlerdir (PROHENS ve ark. 2005). Araştırmacılar bu çeşitliliği birkaç faktöre adanmışlardır: Bu faktörler arasında yedinci yüzyılda Arablar tarafından başlatılan patlıcan dağıtımını sırasında Kuzey Afrika ve Avrupa arasında bir köprü olarak İspanya’nın pozisyonu, İspanya mutfağında kullanılan tiplerin çeşitli olması ve çevresel şartlardaki farklılıklar yer almıştır (PROHENS ve ark. 2005). Patlıcan’ın yeryüzünde dağılımını sırasında Türkiye’de Orta Doğu ve Kuzey Afrika arasında bir köprü olarak rol oynamıştır. Bu nedenle, ülke içerisinde genel kullanımda olan çok farklı morfolojik tiplere rastlanmaktadır. Böylece, İspanya için sayılan bu faktörler, aynı zamanda, Türk patlıcan çeşitlerinde gözlenen moleküler varyasyona katkıda buldukları düşünülmektedir. Türk patlıcanlarının moleküler verilere dayalı kümeleme analizi patlıcan tipleri ile (uzun, yarı-uzun, yuvarlak) ile bir ilişki göstermemiştir. Aksine, İspanyol uzun ve yarı-uzun tipleri AFLP verilerine dayalı PcoA analizlerinde gruplama göstermiştir (PROHENS ve ark. 2005). İlave olarak, AFLP verilerine dayalı gruplama ve İspanyol patlıcan meyvelerindeki şerit veya çizgilerin varlığı veya yokluğu arasında benzer bir ilişki gözlenmiştir (PROHENS ve ark. 2005, MUNOZ-FALCON ve ark. 2008). Bu sonuçlar, moleküler ve morfolojik çeşitlilik ölçümleri arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Ancak, benzer bir ilişki Türk çeşitleri için belirgin değildir.

Germplazm koleksiyonlarındaki genetik çeşitlilik düzeyinin belirlenmesi germplazm idaresi ve ıslah açısından faydalı bilgiler sağlayacaktır. Etkin, verimli ve ekonomik germplazm yönetimi materyalleri hem morfolojik ve hemde moleküler düzeyde karakterizasyonu gerektirmektedir. Moleküler karakterizasyon oldukça pahalı olmasına rağmen morfolojik veriler tarafından sağlanamayan genetik çeşitlilik hakkında bilgiler sağlamaktadır. Örneğin, Solanaceous türlerinin evcilleştirme ile ilişkili bir çok morfolojik karakter bir yada bir kaç gen tarafından kontrol edildikleri bilinmektedir (FRARY ve ark. 2000, DOGANLAR ve ark. 2002, VAN DER KNAPP ve TANKSLEY 2003, CONG ve ark. 2008, XIAO ve ark. 2008). Böylece, sadece morfolojiye dayalı olarak germplazmların koleksiyonu ve korunması morfolojik olarak tamamen farklı olan tohum örneklerinin sadece bir veya iki allel tarafından farklı olmasından dolayı yanıltıcı olabilmektedir. Benzer şekilde, ilgili tüm agronomik karakterlerin moleküler olarak işaretlenmesi neredeyse imkan dahilinde olmamasından dolayı, sadece moleküler genetik verilerin göz önüne alınması germplazm idaresi ve ıslah açısından rasyonel değildir. Bu nedenle, moleküler ve morfolojik

yaklaşımların bir kombinasyonu , bu çalışmada da gösterildiği gibi, Türk patlıcanlarına yönelik koruma ve ıslah çabalarına yol gösterecektir.

2. SSR markör sistemleri değerli bir moleküler analiz aracı olarak kabul edilmiştir (POWELL ve ark. 1996). Ancak, tutucu yapısından ve beklenen düşük polimorfizm seviyesinden dolayı, grublama analizlerinde EST'lerden türetilen SSR markörlerinin kullanılışlığı sorgulanmıştır (VARSHNEY ve ark. 2005, RUDD 2003). Mevcut çalışmanın sonuçları bir patlıcan EST kütüphanesinden türetilen genik mikrosatellit markörlerinin genomik SSR'lar kadar polimorfik olabileceğini göstermiştir (NUNOME ve ark. 2003, METZGAR 2000). Ayrıca, SSR markörleri allel sayısı bakımından *Solanum melongena* içerisindeki analizlerde RFLP (DOGANLAR ve ark. 2002) ve RAPD (KARIHALOO ve ark. 1995) markörlerinden daha bilgilendirici oldukları bulunmuştur. AFLP işaretleyicileri tür içi çalışmalarda hem teşvik edici (MACE ve ark. 1999) ve hemde cesaret kırıcı sonuçlar vermiştir (NUNOME ve ark. 2001). Ancak, AFLP teknik olarak SSR analizlerinden daha zor olduğu kabul edilmektedir. smSSR kaynaklı dendrogram, evcilleştirilmiş patlıcanların orijinleri ve diğer sık kullanılan markör sistemleri ile elde edilen sonuçlar arasında genel anlaşma patlıcan ve yakın akrabaları arasındaki genetik ilişkileri araştırmak için bu çalışmada geliştirilen patlıcan mikrosatellit markörlerinin güvenilir, basitçe uygulanabilen, ekonomik ve etkili genetik kaynaklar olduğunu göstermiştir. Böylece, diğer Solanaceous türler için kullanılabilir özgün markör sistemlerine göre patlıcan özgün markörlerin nisbi olarak çok daha az sayıda olması, bu proje kapsamında geliştirilen SSR markörlerini patlıcan ıslahçıları ve araştırmalarını sınırlı parasal kaynaklar ile yapmak zorunda olan ve nükleer veya kloroplast DNA dizileri tarafından sağlanan derinlikte filogenetik bilgi gerektirmeyen germplazm korumacıları için çok değerli genomik kaynaklar yapmıştır.

3. Patlıcan'da toplam suda çözünebilir antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde içeriği bakımından önemli derecede genotipler arasında farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan patlıcan genotiplerinden Çamlıca çeşiti en yüksek seviyede antioksidan aktivitesine sahip olmuştur. Aktioksidan aktivitesi açısından bu çeşiti Giresun ve Eskişehir Tombul çeşitleri takip etmiştir. Aynı zamanda, Eskişehir Tombul çeşiti en yüksek seviyede fenolik madde içeriğine sahip olmuştur. Bu çeşiti fenolik madde içeriği bakımından Çamlıca ve Topan-374 nolu genotipler takip etmiştir. Bu bileşiklerin insan sağlığına pozitif etkilerinden dolayı bu üç çeşitin tüketilmesi önerilmektedir. Ayrıca, ıslah açısından, bu üç çeşitin yüksek antioksidan kapasitesi ve yüksek fenolik madde içeriğine sahip olacak yeni patlıcan çeşitlerinin geliştirilmesini konu alacak ıslah çalışmalarında anaç olarak kullanılabilmesi tavsiye edilmektedir. Bu iki karakterde birden çok sayıda gen ile kontrol edildiği için bu karakterler bakımından yapılacak ıslah çalışması zor olacaktır. Bu tip kantitatif kalıtım gösteren karakterlerin ıslahı için öncelikle bu karakterleri kontrol eden gen bölgelerinin haritalanması önerilmektedir. Bu amaç için uygun haritalama popülasyonlarının oluşturulması gerekmektedir. Proje kapsamında kullanılan ve ilgili karakterler bakımından yüksek düzeyde genetik varyasyon gösteren Çamlıca ve MM738 gibi patlıcan genotiplerinin anaç olarak kullanılması iyi bir başlangıç olacaktır. Ancak, *S. melongena*'da tür içi melezler genellikle düşük seviyede genotipik polimorfizm gösterdikleri için genom düzeyindeki çalışmalarda dikkatli olunması gerekmektedir (ISSHIKI ve ark. 2003, KARIHALOO ve ark. 1995). Bu nedenle, türlerarası popülasyonlar genellikle daha yüksek düzeyde genetik polimorfizm gösterdiği için bir *Solanum melongena* genotipi olan Çamlıca çeşitinin *Solanum aethiopicum* genotipi

olan Rize çeşitlerinin melezlenmesinden oluşturulacak bir populasyon antioksidan aktivitesi ve fenolik madde içeriği gibi kantitatif karakterlerin haritalanmasında daha uygun olacaktır. Sonuç olarak, moleküler genetik haritalama ve antioksidan kapasitesi ve fenolik madde içeriği karakterlerini kontrol eden en önemli lokusların belirlenmesi patlıcan da bu karakterlerin marköre dayalı seleksiyonuna imkan sağlayacaktır

4. Solamargine ve solasonine'in yapıları birbirine çok yakın olup sadece içerdikleri trisakkarit yapısındaki bir şeker molekülü ile farklılık gösterirler. Bu nedenle iki molekülün polariteleri birbirine çok yakın olup birbirinden ayrılması oldukça zordur. Normal faz kolon kromatografisi ile RP (ters faz) kolon kromatografisine göre glikoalkaloidlerin birbirlerinden ayrılmasının daha iyi olduğu gözlenmiştir. RP kolon kromatografisiyle ise safsızlıkları istenilen maddelerden ayrılmış; glikoalkaloidler ayrılmamıştır. TLC yöntemi ile ise saflaştırılan maddeler standartları ile karşılaştırılmıştır. Solamargine'de Rf değerleri standart için saflaştırılan örnek için bulunmuştur. Solasonine'de ise Rf değerleri standart için saflaştırılan örnek için bulunmuştur. Rf değerlerinin birbirine yakınlığı saflaştırılan maddelerin solamargine ve solasonine olduğunu göstermiştir. Saflaştırılan moleküllerin 1H NMR spektrumu alınmış ve literatürdeki değerler ile karşılaştırılmıştır. Böylece TLC sonuçları teyid edilmiş ve saflaştırılan maddelerin solamargine ve solasonine olduğu ispatlanmıştır.

5. Patlıcan'da AB-QTL yaklaşımını uygulamak amacıyla *Solanum incanum*, *Solanum aethiopicum*, *Solanum linneanum* ve *Solanum macrocarpon* gibi dört yabani tür donör anaç olarak kullanılmış ve bir çok melezleme çalışmaları yapılmış ve populasyonlar oluşturulmaya çalışılmıştır. Şu ana kadar en başarılı olarak *Solanum incanum* ile yapılan melezleme çalışmalarından elde edilmiştir. Bu kombinasyonun başarılı olmasının esas sebebi ise brinjal patlıcan türünün *Solanum incanum*'dan orijin almış olmasıdır. Bu kombinasyonda herhangi bir ıslah, genetik ve genom seviyesinde yapılacak çalışmalarda kullanılabilir F1, F2, BC1F1 ve BC2F1 gibi populasyon yapıları oluşturulmuştur. Çalışmada kullanılan diğer türler *Solanum aethiopicum*, *Solanum linneanum* ve *Solanum macrocarpon* ile yapılan çalışmalardan istenilen düzeyde sonuçlar alınamamıştır. Hatta *Solanum linneanum* ile F6-RIL oluşturmak amacıyla yaklaşık 1.5-2 yıl süren yoğun çalışmalar sonunda sadece 20 civarında hattan RIL hatları geliştirilebilmiştir. Ancak, bu sayı ileri düzey genetik ve moleküler analizler yapılması için uygun değildir. Özellikle bu çalışmalar için Yüksel Tohumculuk Firmasından melezlemeler ve kendilemeler için yardım alınmıştır. Buna rağmen genetik çalışmalarda kullanılmaya yetecek sayıda hat üretilenmemiştir. Bu nedenle bu iki populasyon çalışmadan çıkarılmıştır. Bu iki yabani tür için gerekli iklim ve yetişme koşulları mevcut koşullarımızla sağlanamamıştır. Yetiştirme sezonu boyunca bitkiler son derece güçlü gelişim göstermiş ve oldukça bol miktarda çiçek oluşturmuştur. Ancak, meyve tutumunda ve tohum oluşumu sağlanamamıştır. Bu nedenle bu populasyonlar çalışmadan çıkarılmıştır. Bu üç populasyon yerine yine projede öngörülen diğer yabani türle (*Solanum incanum*) çalışmalara devam edilmektedir. Bu amaç için proje kapsamında verticillium ve fusarium'a dayanıklı olduğu bilinen *Solanum incanum* hattı ile melezlemeler yapılmış ve şu ana kadar iki kez geriye melezlenerek BC2F1 generasyonu oluşturulmuştur. Bu populasyon genom haritalama çalışmalarında halen kullanılmaktadır. *Solanum incanum*'dan türetilen bu populasyonlar F6-RIL ve BC2F6 generasyonlarına ilerletilerek kalıcı haritalama populasyonları oluşturulacaktır. Oluşturulan bu populasyonlar patlıcan tarımında önemli değişik karakterlerin haritalanmasında ve

genom kıyaslama çalışmalarında kullanılacaktır. Halen, *Solanum incanum* populasyonu için genom haritalama ve QTL analizleri için BC2F1 ve BC2F2 populasyonlarında çalışmalar devam etmektedir.

6. Mevcut RFLP markör sistemine dayalı patlıcan moleküler genetik bağlantı haritasının çözünürlüğünü arttırmak için AFLP, SSR ve son zamanlarda domates bitkisi için geliştirilen COSII işaretleyicileri kullanılmıştır. Bu amaç için AFLP ve SSR işaretleyicileri geliştirilmiş ve patlıcan genom haritasına yerleştirilmiştir. Proje kapsamında patlıcan genom haritasına toplam 730 civarında AFLP ve 20 civarında SSR lokusu eklenmiştir. Ayrıca, projede domates genomu için geliştirilmiş olan genomik kaynakların (işaretleyici sistemlerinin) patlıcan genomunda kıyaslamalı genom analizlerinde kullanılması amaçlanmıştır. Bu amaç için Cornell Üniversitesi ve University of California tarafından domates genomu için geliştirilen COSII (Conserved Orthologs Set) markörleri kullanılmıştır. Bu markörler aralarında patlıcanın da bulunduğu bir çok Solanaceae ailesi türlerinde de çalıştıkları belirtilmiştir (FULTON ve ark. 2002, VAN DEYNZE ve ark. 2007). COSII işaretleyicileri Asterid türlerinde bir grup tek kopya korunmuş ortolog genlerden (COSII genleri) geliştirilmiş PCR'a dayalı işaretleyicilerdir. Her bir COSII geni (bir grup Asterid türlerine özgün genleri temsil eden) Arabidopsis'te tek kopya bir gene karşılık gelmektedir (www.sgn.cornell.edu). Bu şekilde özgün oldukları (unigene) belirlenen domates COSII genlerinden PCR primerleri dizayn edilmiş ve bu primer bir çok Solanaceae türlerinde denenmiştir. Yapılan bu çalışmalar sonucunda toplam 450 adet COSII işaretleyicisinin *Solanum melongena* da çalıştığı belirlenmiştir. Projenin bu kısmında, domates COSII işaretleyicilerinin patlıcan genomundaki yerlerini belirlemek ve mevcut patlıcan moleküler genetik bağlantı haritasını yüksek çözünürlüğe getirmek ve kıyaslamalı genom analizleri yapmak için haritalanmaları amaçlanmıştır. Şu ana kadar yapılan çalışmalarda 102 COSII işaretleyicisi patlıcan genomunda haritalanmıştır.

Kaynaklar

1. ARESHENKOVA, T., GANAL, M.W. Long tomato microsatellites are predominantly associated with centromeric regions. *Genome* 42: 536-544, (1999)
2. BEHERA, T.K., SHARMA, P., SING, B.K., KUMAR, G., MOHAPATRA, T., SINGH N.K. Assessment of genetic diversity and species relationships in eggplant (*Solanum melongena* L.) using STMS markers. *Scientia Horticulturae* 107: 352-357, (2006).
3. CHO, Y.G., ISHII, T., TEMNYKH, S., et al. Diversity of microsatellites derived from genomic libraries and GenBank sequences in rice (*Oryza sativa*). *Theor Appl Genet* 100: 713-722, (2000)
4. CONG, B., BARRERO L.S., TANKSLEY, S.D. Regulatory change in YABBY-like transcription factor led to evolution of extreme fruit size in tomato domestication. *Nature Genetics* 40: 800-804, (2008).
5. D'ARCY, W.G. The classification of the Solanaceae. In: JG Hawkes JG, RN Lester RN, AD Skelding AD ed. *The Biology and the Taxonomy of the Solanaceae*. Linnaean Society Symposium Series; pp. 3-47 (1997)
6. D'ARCY, W.G. The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography. In: JG Hawkes, RN Lester, M Nee, N Estrada-R ed. *Solanaceae III, Taxonomy, Chemistry, Evolution*. Royal Botanic Gardens; pp. 75-137. (1991)
7. DAUNAY, M.C., LESTER, R.N., ANO, G. Eggplant. In: A Charrier, M Jacquot, S Hamon, D Nicolas ed. *Tropical Plant Breeding*. Science Publishers Inc.; pp. 199-222. (2001)
8. DAUNAY, M.C. Eggplant. In: J Prohens, F Nuez ed. *Handbook of Crop Breeding, Vol Vegetables: Fabaceae, Liliaceae, Umbelliferae and Solanaceae*. Springer; pp. 163-220, (2008)
9. DAUNAY, M.C., DALMON, A., LESTER, R.N. Management of a collection of *Solanum* species for eggplant (*Solanum melongena* L.) breeding purposes. In: M Nee, Lester RN, JP Jessop ed. *Solanaceae IV, Advances in Biology and Utilization* (Eds.). Royal Botanic Gardens, Kew; pp. 369-383.(1999)
10. DAUNAY, M.C., LESTER, R.N., GEBHARDT, C.H., HENNART, J.W., JHAN, M., FRARY, A., DOGANLAR, S. Genetic resources of eggplant (*Solanum melongena* L.) and allied species: A new challenge for molecular geneticists and eggplant breeders In: *Solanaceae V*, pp.251-274. Eds R.G. Van Den Berg, G.W. Barendse and C. Mariani C. Nijmegen University Press, Nijmegen, The Netherlands, (2001).
11. DAUNAY, M.C., LESTER, R.N., LATERROT, H. The use of wild species for the genetic improvement of brinjal eggplant (*Solanum melongena*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*). In: JG Hawkes, RN Lester, M Nee, N Estrada-R ed. *Solanaceae III, Taxonomy, Chemistry, Evolution* (Eds.). Royal Botanic Gardens; pp. 389-412. (1991)
12. DICE, L.R. Measures of the amount of ecological association between species. *Ecology* 26: 297-302, (1945).
13. DICE, L.R. Measures of the amount of ecological association between species. *Ecology* 26: 297-302, (1945)
14. DOGANLAR, S., FRARY, A., DAUNAY, M.C., et al. Conservation of gene function in the Solanaceae as revealed by comparative mapping of domestication traits in eggplant. *Genetics* 161: 1713-1726, (2002)
15. DOGANLAR, S., FRARY, A., DAUNAY, M.C., et al. A comparative genetic linkage map of eggplant (*Solanum melongena*) and its implication for genome evolution in the Solanaceae. *Genetics* 161: 1697-1711, (2002)
16. DOGANLAR, S., FRARY, A., DAUNAY, M.C., LESTER, N., TANKSLEY, S.D. A comparative genetic linkage map of eggplant (*Solanum melongena*) and its implications for genome evolution in the Solanaceae. *Genetics* 161: 1697-1711, (2002).
17. DOGANLAR, S., FRARY, A., DAUNAY, M.C., LESTER, N., TANKSLEY, S.D. Conservation of gene function in the Solanaceae as revealed by comparative mapping of domestication traits in eggplant. *Genetics* 161: 1713-1726, (2002).
18. FAOSTAT <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>, (2010).
19. FRARY, A., DOGANLAR, S., DAUNAY, M.C. Eggplant. In: C Kole ed. *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*. Springer Acad Press; pp 287-314.(2007)
20. FRARY, A., DOGANLAR, S., DAUNAY, M.C., et al. QTL analysis of morphological traits in eggplant and its implications for conservation of gene function during evolution of solanaceous species. *Theor Appl Genet* 107: 359-370, (2003)
21. FRARY, A., NESBITT, T.C., FRARY, A., GRANDILLO, S., VAN DER KNAAP, E., CONG, B., LIU, J., MELLER, J., ELBER, R., ALPERT, K., TANKSLEY, S.D. Fw2.2: a quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. *Science* 289: 85-88, (2000).

22. FRARY, A., XU, Y., LIU, J., et al. Development of a set of PCR-based anchor markers encompassing the tomato genome and evaluation of their usefulness for genetics and breeding experiments. *Theor Appl Genet* 111: 291-312, (2005)
23. FULTON, T.F., CHUNWONGSE, J., TANKSLEY, S. D. Microprep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants. *Plant Mol Biol Rep* 13: 207-209, (1995).
24. FURINI, A., WUNDER, J. Analysis of eggplant (*Solanum melongena*)-related germplasm: morphological and AFLP data contribute to phylogenetic interpretations and germplasm utilization. *Theoretical and Applied Genetics*, 108: 197-208. (2004)
25. FURINI, A., WUNDER, J. Analysis of eggplant (*Solanum melongena*)-related germplasm: morphological and AFLP data contribute to phylogenetic interpretations and germplasm utilization. *Theor Appl Genet* 108: 197-208, (2004)
26. HE, C., POYSA, V., YU, K. Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in determining relationships among *Lycopersicon esculentum* cultivars. *Theor Appl Genet* 106: 363-373, (2003)
27. IBPGR Descriptors for eggplant. International Board for Plant Resources, Rome. (1990)
28. ISSHIK, S., OKUBA, H., FUJIEDA, K. Genetic control of isozymes in eggplant and its wild relatives. *Euphytica*, 80: 145-150. (1994b)
29. ISSHIK, S., OKUBA, H., FUJIEDA, K. Phylogeny of eggplant and related *Solanum* species constructed by allozyme variation. *Scientia Horticulturae*, 59: 171-176. (1994a)
30. ISSHIK, S., OKUBA, H., ODA, N., FUJIEDA, K. Isozyme variation in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Journal of the Japanese Society of Horticultural Science*, 63: 115-120. (1994c)
31. ISSHIKI, S., OKUBA, H., FUJIEDA, K. Phylogeny of eggplant and related *Solanum* species constructed by allozyme variation. *Scientia Horticulturae* 59: 171-176, (1994)
32. ISSHIKI, S., OKUBA, H., FUJIEDA, K. Genetic control of isozymes in eggplant and its wild relatives. *Euphytica* 80: 145-150, (1994)
33. ISSHIKI, S., OKUBA, H., ODA, N., et al. Isozyme variation in eggplant (*Solanum melongena* L.). *J Japan Soc Hort Sci* 63: 115-120, (1994)
34. ISSHIKI, S., SUZUKI, S., YAMASHITA, K. RFLP analysis of mitochondrial DNA in eggplant and related *Solanum* species. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50: 133-137. (2003)
35. ISSHIKI, S., UCHIYAMA, T., TASHIRO, Y., MIYAZAKI, S. RFLP analysis of a PCR amplified region of chloroplast DNA in eggplant and related *Solanum* species. *Euphytica*, 102: 295-299. (1998)
36. JONES, N., OUGHAM, H., THOMAS, H. Markers and mapping: we are all geneticists now. *New Phytol* 137: 165-177, (1997)
37. KARIHALOO, J.L., BRAUNER, S., GOTTLIEB, L.D. Random amplified polymorphic DNA variation in the eggplant. *Theoretical and Applied Genetics*, 90:767-770. (1995)
38. KARIHALOO, J.L., BRAUNER, S., GOTTLIEB, L.D. Random amplified polymorphic DNA variation in the eggplant. *Theor Appl Genet* 90: 767-770, (1995).
39. KARIHALOO, J.L., GOTTLIEB, L.D. Allozyme variation in the eggplant, *Solanum melongena* L. (*Solanaceae*). *Theoretical and Applied Genetics*, 90: 578-583. (1995)
40. KASHYAP, V., KUMAR, S.V., COLLENNIER, C., FUSARI, F., HAICOUR, R., ROTINO, G.L., SIHACHAKR, D., RAJAM, M.V. Biotechnology of eggplant. *Scientia Horticulturae*, 97: 1-25. . (2003)
41. KAUR, M., SINGH, S., KARIHALOO, J.L. Diversity of enzyme electrophoretic patterns in the eggplant complex. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 13:69-72. (2004)
42. KNAAP, S., BOHS, L., NEE, M., et al. Solanaceae – a model for linking genomics with biodiversity. *Comp Funct Genom* 5: 285-291, (2004) Daunay MC, Lester RN, Gebhardt CH, et al. Genetic resources of eggplant (*Solanum melongena* L.) and allied species: a new challenge for molecular geneticists and eggplant breeders. In: RG Van Den Berg, GW Barendse, C Mariani ed. *Solanaceae V*, Nijmegen University Press; pp. 251–274.(2001)
43. KNAPP, S., BOHS, L., NEE, M., SPOONER, D.M Solanaceae – a model for linking genomics with biodiversity. *Comparative and Functional Genomics* 5: 285-291. (2004)
44. LESTER, R.N. Genetic Resources of Capsicum and Eggplants. In: X. EUCARPIA Meeting On Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant. Avignon France, pp. 25-30, (1998)
45. LESTER, R.N., HASAN, S.M.Z. Origin and domestication of the brinjal-eggplant, *Solanum melongena*, from *S. incanum* in Africa and Asia. In: JG Hawkes, RN Lester, M Nee, N Estrada-R ed. *Solanaceae III Taxonomy, Chemistry, Evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew; pp. 369-387.(1991)
46. LESTER, R.N., JAEGER, P.M.L., BLEIJENDAAL-SPIERINGS B.H.M. African eggplants: a review of

- collecting in West Africa. *Plant Gen Res Newsl* 81/82: 17-26, (1990).
47. LESTER, R.N., NIAKAN. L. Origin and domestication of the scarlet eggplant, *Solanum aethiopicum*, from *S. anguivi* in Africa. In: *Solanaceae: Biology and Systematics.* (Ed. WG D'Arcy). Columbia Univ Press. New York, pp. 433-456, (1986)
 48. LEVIN, R.A., MYERS, N.R., BOHS, L. Phylogenetic relationships among the "Spiny Solanums" (*Solanum* subgenus *Leptostemonum*, *Solanaceae*). *American Journal of Botany*, 93: 157-169. (2006)
 49. LEVIN, R.A., MYERS, N.R., BOHS, L. Phylogenetic relationships among the "Spiny Solanums" (*Solanum* subgenus *Leptostemonum*, *Solanaceae*). *Amer J Bot* 93: 157-169, (2006)
 50. MACE, E.S., LESTER, R.N., GEBHARDT, C.G. AFLP analysis of genetic relationships among the cultivated eggplant, *Solanum melongena* L., and wild relatives (*Solanaceae*). *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 626-633. (1999)
 51. MACE, E.S., LESTER, R.N., GEBHARDT, C.G. AFLP analysis of genetic relationships among the cultivated eggplant, *Solanum melongena* L., and wild relatives (*Solanaceae*). *Theor Appl Genet* 99: 626-633, (1999)
 52. MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27: 209-220. (1967)
 53. MANTEL. N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res* 27: 209-220, (1967)
 54. METZGAR, D., BYTOF, J., WILLIS. C. Selection against frameshift mutations limits microsatellite expansion in coding DNA. *Genome Res* 10: 72-80, (2000)
 55. MOHAMMADI, S.A., PRASANNA, B.M. Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Sci* 43: 1235-1248, (2003)
 56. MOHAN, M., NAIR, S., BHAGWAT, A., et al.. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Mol Breed* 3: 87-103,(1997)
 57. MOHAN, M., NAIR, S., BHAGWAT, A., KRISHNA, T.G., YANO, M., BHATIA, C.R., SASAKI, T. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding*, 3: 87-103. (1997)
 58. MUELLER, L.A., SOLOW, T.H., TAYLOR, N.,et al. The SOL genomics network. A comparative resource for *Solanaceae* biology and beyond. *Plant Physiol* 138: 1310-1317(2005)
 59. MUNOZ-FALCON, J.E., PROHENS, J., VILANOVA, S., Nuez, F. Characterization, diversity and relationships of the Spanish striped (*Listada*) eggplants: a model for the enhancement and protection of local heirlooms. *Euphytica*, 164: 405-419. (1997)
 60. MUNOZ-FALCON, J.E., PROHENS, J., VILANOVA, S., NUEZ, F. Diversity in commercial varieties and landraces of black eggplants and implications for broadening the breeders' gene pool. *Annals of Applied Biology*, 154: 453-465. (2009)
 61. MUTLU, N., BOYACI, F.H., GÖÇMEN, M et al. Development of SRAP, SRAP-RGA, RAPD and SCAR markers linked with a *Fusarium* wilt resistance gene in eggplant. *Theor Appl Genet* 117: 1303-1312, (2008)
 62. MUTLU, S. *Solanaceae* genetic resources activities in Turkey. In: Report of a Working Group on *Solanaceae*, pp.39-40. Eds M.C. Daunay, van Doonijeweeert, L. Maggioni, and E. Lipman, IPGRI, Rome. (2004)
 63. NUNOME, T., ISHIGURA, K., YOSHIDA, T. Mapping of fruit shape and color development traits in eggplant (*Solanum melongena* L.) based on RAPD and AFLP markers. *Breed Sci* 51: 19-26, (2001).
 64. NUNOME, T., ISHIGURO, K., YOSHIDA, T., HIRAI, M. Mapping of fruit shape and color development traits in eggplant (*Solanum melongena* L.) based on RAPD and AFLP markers. *Breeding Science*, 1: 19-26. (2001)
 65. NUNOME, T., NEGORO, S., KONO, I., KANAMORI, H., MIYATAKE, K., YAMAGUCHI, H., OHYAMA, A., FUKUOKA, H. Development of SSR markers derived from SSR-enriched genomic library of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 119: 1143-1153. (2009)
 66. NUNOME, T., SUWABE, K., IKETANI, H., et al. Identification and characterization of microsatellites in eggplant. *Plant Breeding* 122: 256-262, (2003)
 67. NUNOME, T., SUWABE, K., IKETANI, H., HIRAI, M. Identification and characterization of microsatellites in eggplant. *Plant Breeding*, 122: 256-262. (2003b)
 68. NUNOME, T., SUWABE, K., OHYAMA, A., et al. Characterization of trinucleotide microsatellites in eggplant. *Breeding Science* 53: 77-83, (2003)
 69. NUNOME, T., SUWABE, K., OHYAMA, A., FUKUKOKA, H. Characterization of trinucleotide microsatellites in eggplant. *Breeding Science*, 53: 77-83. (2003a)

70. POWELL, W., MACHRAY, G.C., PROVAN, J. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Sci* 1: 215-222, (1996)
71. PROHENS, J., BLANCA, J.M., NUEZ, F. Morphological and molecular variation in a collection of eggplants from a secondary center of diversity: implications for conservation and breeding. *J Am Soc Hort Sci* 130: 54-63, (2005)
72. PROHENS, J., BLANCA, J.M., NUEZ, F. Morphological and molecular variation in a collection of eggplants from a secondary center of diversity: implications for conservation and breeding. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 130: 54-63. (2005)
73. RANADE, SA Application of molecular sequences and DNA profiles for taxonomy and phylogenetics of plants. In: *Molecular Insight in Plant Biology*, pp. 49-66. Eds P. Nath, A.K. Mattoo, S.A. Ranade and J.H.Weil, Science Publishers, USA. (2003)
74. ROLDAN-RUIZ, I., DENDAW, J., VAN BOCKSTAEL, E., DEPICKER, A., DeE LOOSE, M. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Molecular Breeding*, 6: 125-134. (2000)
75. RUDD, S. Expressed sequence tags: alternative or complement to whole genome sequences. *Trends in Plant Sci* 8: 321-329, (2003).
76. SAKATA, Y., LESTER, R.N. Chloroplast diversity in brinjal eggplant (*Solanum melongena* L.) and related species. *Euphytica*, 97: 295-301. (1997)
77. SAKATA, Y., LESTER, R.N. Chloroplast diversity in brinjal eggplant (*Solanum melongena* L.) and related species. *Euphytica* 97: 295-301, (1997)
78. SAKATA, Y., LESTER, R.N. Chloroplast DNA diversity in eggplant (*Solanum melongena*) and its related species *S. incanum* and *S. marginatum*. *Euphytica*, 80: 1-4. (1994)
79. SAKATA, Y., LESTER, R.N. Chloroplast DNA diversity in eggplant (*Solanum melongena*) and its related species *S. incanum* and *S. marginatum*. *Euphytica* 80: 1-4, (1994)
80. SAKATA, Y., NISHIO, T., MATTHEWS, P.J. Chloroplast DNA analysis of eggplant (*Solanum melongena*) and related species for their taxonomic affinity. *Euphytica*, 55: 21-26. . (1991)
81. SCHUELKE, M., An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology* 18: 233-234, (2000)
82. SINGH, A.K, SINGH, M., SINGH, A.K, et al. Genetic diversity within the genus *Solanum* (Solanaceae) as revealed by RAPD markers. *Curr Sci* 90: 711-716, (2006)
83. SMULDERS, M.J., BREDEMEIJER, G., RUS-KORTEKAAS, W., et al. Use of short microsatellites from database sequences to generate polymorphisms among *Lycopersicon esculentum* cultivars and accessions of other *Lycopersicon* species. *Theor Appl Genet* 97: 264-272, (1997)
84. STAGEL, A., PORTIS, E., TOPPINO, L., ROTINO, G., LANTERI, S. Gene-based microsatellite development for mapping and phylogeny studies in eggplant. *BMC Genomics*, 9: 357-371. (2008)
85. STAGEL, A., PORTIS, E., TOPPINO, L., et al. Gene-based microsatellite development for mapping and phylogeny studies in eggplant. *BMC Genomics* 9: 357, (2008)
86. STAUB, J.E., SERQUEN, F.C. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *Hortscience*, 31: 729-740. (1996)
87. THIEL, T., MICHALEK, W., VARSHNEY, R.K., et al. Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet* 106: 411-422, (2003)
88. TUMBILEN, Y., FRARY, A., DAUNAY, M.-C., DOGANLAR, S. Application of EST-SSRs to examine genetic diversity in eggplant and its close relatives. *Turkish Journal of Biology*, in press. (2010)
89. VAN DER KNAPP, E., TANKSLEY, S.D. The making of a bell pepper-shaped tomato fruit: identification of loci controlling fruit morphology in Yellow Stuffer tomato. *Theoretical and Applied Genetics*, 107: 139-147. (2003)
90. VARSHNEY, R.K., GRANER, A., SORRELLS, M.E. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends in Biotechnology* 23: 48-55, (2005)
91. VOS, P., HOGERS, R., BLEEKER, M., REIJANS, M., LEE, T., HORNES, M., FRIJTERS, A., POT, J., PELEMAN, J., KUIPER, M., ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23: 4407-4414. (1995)
92. WEESE, T.L., BOHS, L. A three gene phylogeny of the genus *Solanum* (Solanaceae). *Systematic Botany* 32: 445-463, (2007)
93. XIAO, H., JIANG, N., SCHAFFNER, E., STOCKINGER, E.J., VAN DER KNAAP, E. A retrotransposon-mediated gene duplication underlies morphological variation of tomato fruit. *Science*, 319: 1527-1530, (2008).

94. JONES, P.J. Clinical nutrition: 7. Functional foods- more than just nutrition. *CMAJ*, 166: 1555-1563, (2002).
95. RODRIGUEZ, E.B., FLAVIER, M.E., RODRIGUEZ-AMAYA, D.B., AMAYA-FARFAN, J. Phytochemicals and functional foods. Current situation and prospect for developing countries. *Segurança Alimentar e Nutricional*, Campinas 13: 1-22, (2006).
96. NORDBERG, J., ARNER, E.S.J. Reactive oxygen species, antioxidant and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Bio. Med.* 31:1287-1312, (2001).
97. VALKO, M., LEIBFRITZ, D., MONCOL, J., CRONIN, M.T.D., MAZUR, M., TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Inter. J. Biochem. Cell Bio.* 39: 44-84, (2007).
98. VICHNEVETSKAIA, K.D., ROY, D.N. Oxidative stress and antioxidative defense with an emphasis on plants antioxidants. *Environ. Rev.* 7: 31-51, (1999).
99. SOMOGYI, A., ROSTA, P.P., TULASSAY, Z., NAGY, G. Antioxidant measurements. *Physiol. Meas.* 28: 41-55, (2007).
100. HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*. 141: 312-322, (2006).
101. SORG, O. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?. *C. R. Biologies.* 327: 649-662, (2004).
102. PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT.* 40: 1-11, (2007).
103. WOLF, R., WOLF, D., RUOCCO, V. Vitamin E: the radical protector. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 10: 103-117, (1998).
104. SAKIHANA, Y., COHEN, M.F., GRACE, S.C. Yamasaki, H. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology* 177: 67-80, (2002).
105. FOOD & AGRICULTURE ORGANIZATION. FAO Statistical Database. <http://www.faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567>. Accessed August, (2007).
106. CHARRIES, A., JACQUOT, M., HAMON, S., NICOLAS, D. Tropical plant breeding. Science Pub Inc&CIRAD, Enfield NH, USA. 199-221, (2001).
107. MAGIOLI, C., MANSUR, E. Eggplant (*Solanum melongena* L.): tissue culture, genetic transformation and use as an alternative model plant. *Acta. Bot. Bras.* 19: 139-148, (2005).
108. GUIMARAES, P.R., GALVAO, A.M.P., BATISTA, C.M., AZEVEDO, G.S., OLIVEIRA, R.D., LAMOUNIER, R.P., FREIRE, N., BARROS, A.M.D., SAKURAI, E., OLIVEIRA, J.P., VIERIA, E.C., ALVAREZ-LEITE, J.I. Eggplant (*Solanum melongena*) infusion has a modest and transitory effect on hypercholesterolemic subjects. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 33: 1027-1036, (2000).
109. USDA Nutrient Data Laboratory. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search>. Accessed August, (2007).
110. STOMMEL, J.R., WHITAKER, B.D. Phenolic acid content and composition of eggplant fruit in a germplasm core subset. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 128: 704-710, (2003).
111. RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26: 1231-1237, (1999).
112. SINGLETON, V.L., ROSSI, Jr.J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: 144-158, (1965).
113. BOR, J.Y., CHEN, H.Y., YEN, G.C. Evaluation of antioxidant activity and inhibitory effect on nitric oxide production of some common vegetables. *J. Agric. Food. Chem.* 54: 1680-1686, (2006).
114. CHU, Y.F., SUN, J., WU, X., LIU, R.H. Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 50: 6910-6916, (2002).
115. HALVORSEN, B.L., HOLTE, K., MYHRSTAD, M.C.W., BARIKMO, I., HVATTUM, E. REMBERG, S.F., WOLD, A.B., HAFFNER, K., BAUGEROD, H., ANDERSEN, L.F., MOSKAUG, J.O., JACOBS, D.R., BLOMHOFF, R.A. systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *J. Nutr.* 132: 461-471, (2002).
116. HUANG, H.Y., CHANG, C.K., TSO, T.K., HUANG, J.J., CHANG, W.W., TSAI, Y.C. Antioxidant activities of various fruits and vegetables produced in Taiwan. *Inter. J. Food Sci Nutr.* 55: 423-429, (2004).
117. OU, B., HUANG, D., HAMPSCH-WOODILL, M., FLANAGAN, J.A., DEEMER, E.K. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *J. Agr. Food Chem.* 50: 3122-3128,

- (2002).
118. PELLEGRINI, N., SERAFINI, M., COLOMBI, B., RIO, D.D., SALVATORE, S., BIANCHI, M., BRIGHENTI, F. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J. Nutr.* 133: 2812-2819, (2003).
 119. HANSON, P.M., YANG, R.Y., TSUO, S.C.S., LEDESMA, D., ENGLE, L., LEE, T.C. Diversity in eggplant (*Solanum melongena*) for superoxide scavenging activity, total phenolics, and ascorbic acid. *J. Food. Comp. Analysis.* 19: 594-60, (2006).
 120. DEEPA, N., KAUR, C., GEORGE, B., SINGH, B., KAPOOR, H.C. Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes during maturity. *LWT* 40: 121-129, (2005).
 121. HANSON, P.M., YANG, R.Y., WU, J., CHEN, J.T., LEDESMA, D., TSOU, S.C.S. Variation for antioxidant activity and antioxidants in tomato. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 129: 704-711, (2004).
 122. HOWARD, L.R., CLARK, J.R., BROWNMILLER, C. Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season. *J. Sci. Food Agric.* 83: 1238-1247, (2003).
 123. WANG, S.Y., STRECH, A.W. Antioxidant capacity in cranberry is influenced by cultivar and storage temperature. *J. Agric. Food Chem.* 49: 969-974, (2001).
 124. ISSHIKI, S., SUZUKI, S., YAMASHITA, K. RFLP analysis of mitochondrial DNA in eggplant and related *Solanum* species. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50: 133-137, (2003).
 125. KARIHALOO, J.D., BRAUNER, S., GOTTLIEB, L.D. Random amplified polymorphic DNA variation in the eggplant, *Solanum melongena* L. (Solanaceae). *Theor. Appl. Genet.* 90: 767-770, (1995).
 126. ABOUZID, S., FAWZY, N., DARWEESH, N., ONHARAX, Y. Steroidal glycoalkaloids from the berries of *Solanum distichum*. *Natural Product Research*, Vol. 22, No. 2: 147-15, (2008).
 127. DINAN, L., HARMATHA, J., LAFONT, R. Chromatographic procedures for the isolation of plant steroids. *Journal of Chromatography A* 935: 105-123, (2001).
 128. NAKAMURA, S., HONGO, M., SUGIMOTO, S., MATSUDA, H., YOSHIKAWA, M. Steroidal saponins and pseudoalkaloid oligoglycoside from Brazilian natural medicine, "fruta do lobo" (fruit of *Solanum lycocarpum*). *Phytochemistry* 69: 1565-1572, (2008).
 129. WANYONYI, A.W., CHHABRA, S.C., MKOJI, G., EILERT, U., NJUE, W.M. Bioactive steroidal alkaloid glycosides from *Solanum aculeastrum*. *Phytochemistry* 59: 79-84, (2002).
 130. VEISSENBERG, M. Isolation of solasodine and other steroidal alkaloids and sapogenins by direct hydrolysis-extraction of *Solanum* plants or glycosides therefrom. *Phytochemistry* 58: 501-508, (2001).
 131. USUBILLAGE, A., AZIZ, I., TETTAMANZI, M.C., WAIBEL, R., ACHENBACH, H. Steroidal alkaloids from *Solanum Sycophanta*. *Phytochemistry* 44: 537-543, (1996).

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje No: 104T224
Proje Başlığı: Solanaceae’de Kıyaslamalı Genom Analizleri: Model Sistem Olarak Patlıcan (<i>Solanum melongena</i> L.)
Proje Yürütücüsü ve Araştırmacılar: Doç. Dr. Sami Doğanlar, Prof. Dr. Anne Frary, Yrd. Doç. Dr. Ritche Eanes, Dr. Marie-Christine Daunay, Sevgi Mutlu
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji & Genetik Bölümü, Urla, İzmir 35430
Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi:
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 01/04/2005 – 01/04/2010
Öz (en çok 70 kelime) Patlıcan besleyici ve sağlıkla ilgili içerdiği özel bileşikleri ile hem günlük diyetimizin önemli bir komponentidir hemde son zamanlarda değişik konularda çalışmalar için popüler hale gelmiştir. Önerilen projede de bir çok çalışma konusu için model bitki olarak kullanılmıştır. Bu proje kapsamında geliştirilen SSR markörleri ve AFLP markörleri kültür ve yabani patlıcan türlerinde genetik çeşitlilik çalışmalarında kullanılmıştır. Kıyaslamalı genom analizleri kapsamında domates için geliştirilmiş COSII markörleri patlıcanda kullanılarak patlıcan moleküler genetik haritasının çözünürlüğü artırılmıştır. Patlıcan ıslahında kullanılmak üzere ve genetik varyasyon düzeyini arttırmak için dört değişik yabani türle AB-QTL populasyonları geliştirilmeye çalışılmıştır. Son olarak, bazı Türk ve yabancı enşeyli patlıcan tür ve çeşitleri ikincil metabolitler bakımından karakterize edilmiştir. Bu ikincil ürünler içerisinde antioksidan aktivitesi ve fenolik madde içeriği ile solamaring ve solasodine glikoalkaloidleri yer almıştır.
Anahtar Kelimeler: Kıyaslamalı genomik, SSR, AFLP, COSII, genetik çeşitlilik, bağlantı haritalaması, glikoalkaloidler, antioksidan içerikler
Projeden Yapılan Yayınlar: <ol style="list-style-type: none">1. Tümbilen Y, Frary A, Mutlu S, Doğanlar S (2010) Genetic diversity in Turkish eggplant (<i>Solanum melongena</i>) varieties as determined by morphological and molecular analyses. <i>Biologia Plantarum</i> (değerlendirme aşamasında)2. Tümbilen Y, Frary A, Daunay MC and Doğanlar S (2010) Application of EST-SSRs to examine genetic diversity in eggplant and its close relatives.3. Bilal Ökmen, Hasan Ö. Şığva, Sevgi Mutlu, Sami Doğanlar, Ahmet Yemencioğlu and Anne Frary (2009) Diversity of Total Antioxidant Activity and Total Phenolics Content in Turkish Eggplant (<i>Solanum melongena</i> L.) Cultivars. <i>International Journal of Food Properties</i> 12: 616-624.

4. Anne Frary, Sami Doganlar and Marie Christine Daunay (2007) Eggplant, *Solanum melongena* L.” In: C. Kole (ed.), Genome Mapping & Molecular Breeding in Plants, Springer, Heidelberg, Berlin, pp: 231-257.
5. Sami Doganlar, Anne Frary, Marie Christine Daunay and Rolf Mank (Yazım aşamasında) An integrated RFLP-AFLP map of eggplant based on a SL x SM F2 population. Theoretical Applied Genetics (yazım aşamasında)
6. Anne Frary, Sami Doganlar and Marie-Christine Daunay (Yazım aşamasında) Identification and Molecular mapping of verticillium resistance in eggplant. Theoretical Applied Genetics (yazım aşamasında)
7. Nergiz Gürbüz, Ritche Eanes, Anne Frary, Sami Doğanlar (2010) Isolation and purification of solamargine and solasodine from eggplant fruit. (yazım aşamasında)