



TR0100022

*Lycopersicon esculentum* ve *Lycopersicon peruvianum* TÜRLER ARASI MELEZLEMELERİNDE  
KALLUS KÜLTÜRÜ YÖNTEMİ İLE HİBRİD BİTKİ ELDESİ

Funda DEMİREL

Vedat ŞENİZ

*Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Bursa*

**ÖZET**

Aralarında uyumsuzluk olduğu bilinen iki domates türü arasında yapılan melezlemeler sonrasında hibrid bitkiyi elde etmek amacıyla kallus kültürü yönteminin kullanılabilirliğini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada; *L. esculentum* türüne ait "Rio Grande", "H 2274", "Tivoli", "Ontario 7710" ve "P.19" çeşitleri ile *L. peruvianum* yabancı domates türü arasında karşılıklı (tesiprokal) melezlemeler yapılmıştır.

Melezlemeler sonrasında *L. peruvianum* ana ebeveyn olduğunda unilateral uyumsuzluktan dolayı meyve elde edilemezken, baba ebeveyn olduğunda meyve elde edilmiş fakat, bu meyvelerde embriyo aborsiyonu meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu tip meyvelerin tozlanmadan sonraki 40. günde dahi izole edilebilecek embriyolara sahip olmadığı görülmüştür. Bu nedenle, *L. esculentum* x *L. peruvianum* melezlemelerinde embriyo kültürüne alternatif olarak, embriyo aborsiyonuna uğramış tohumlardan kallus oluşumu yolu ile bitkicik eldesi yoluna gidilmiştir. Bu amaçla yapılan ilk denemede %10 diploid, %5.7 triploid ikinci denemede ise %12.4 diploid, %8.4 triploid bitki oluşum oranı ile yöntemin ümitvar olduğu belirlenmiştir.

**SUMMARY**

*The Hybrid Plant Production via Callus Culture In The Interspecific Crosses Between  
L. esculentum and L. peruvianum*

This study was conducted with the aim of determining the usability of callus culture in two tomato species which known incompatibility prevents each other. Reciprocal crosses were carried out using the tomato (*L. esculentum*) cultivars "Rio Grande", "H 2274", "Tivoli", "Ontario 7710", "P.19" and wild tomato species *L. peruvianum*.

No fruits could be obtained when *L. peruvianum* was the female parent due to unilateral incompatibility, whereas fruits were obtained when this wild species was the male parent, however, the embryos in these fruits were determined to be aborted. This type of fruits were observed to have no embryos to be excised even on the 40<sup>th</sup> day after pollination. Therefore in *L. esculentum* x *L. peruvianum* crosses, attempt was made to obtain plantlets via callus formation from the seeds with aborted embryo as an alternative to embryo culture. This method was determined to be promising with the plantlets formation rates of 10% diploid, 5.7% triploid in the first trial, and 12.4% diploid, 8.4% triploid, in the second.

**Key Words:** *L. esculentum*, *L. peruvianum*, interspecific crosses

**GİRİŞ**

İnsan beslenmesindeki önemi ve dünya ekonomisindeki payı nedeni ile kültürü yapılan domatesin islahına son yıllarda oldukça fazla önem verilmiştir. Özellikle, bu türle yeşil meyveli türler (*Eriopersicon* alt cinsinin üyeleri) arasındaki melezlemeler islahçıların üzerinde en çok durduğu konular arasında yer almıştır (Esquinas-Alcazar 1981). Örneğin, *L. peruvianum* türü özellikle bu amaç için çok kullanılmıştır. Çünkü, bu tür yüksek oranda polimorfiktir ve bu nedenle çok çok kullanış gen taşır. Bu tür kültür domateslerinde geniş çapta zarar yapan mozaiik virüs, yaprak çürüklüğü, *Fusarium*, *Septoria*, *Verticillium* ve *Alternaria* yaprak solgunlukları ve kök çürüklüğü yapan nematodlara mukavimdir. Ayrıca meyveleri çok yüksek miktarda C vitamini içermektedir (Macit 1972, Ford-Lloyd ve Jackson 1986).

*L. peruvianum* bu özellikleri yanında bir bahçe kültürü bitkisi olarak nispeten değerlidir. Bu türün alt cinsinin diğer üyelerinde olduğu gibi meyveleri küçük, kiraza benzer ve olgunlaştığında yeşil kalır. Meyveleri hoş olmayan bir lezzete sahiptir, ele alındığında kolaylıkla parçalanır ve çürür. Bununla birlikte, bu türün islah programlarında kullanılmamadığı başlıca amaç *L. esculentum*'a bir veya birkaç istenen özelliğin aktarılabilmesidir (Hogenboom 1972).

Türler arası melezleme, kültürü yapılan bitki türlerine, yabancı türlerden değerli özelliklere sahip genlerin transferini sağlayan önemli bir araç olmakla birlikte; kültürü yapılan domates türü yabancı bir domates türü olan *L. peruvianum* ile melezlemede, *L. peruvianum* ana ebeveyn olarak kullanıldığında unilateral uyumsuzluk meydana gelmekte, polen tüpü uzaması döllenme gerçekleşmeden önce durmaktadır. Herhangi bir polen tüpünün ovule girmesi de engellendiğinden, sonuçta meyve tutumu olmamaktadır (Tigcheelaar 1986).

*L. peruvianum* baba ebeveyn olduğunda ise endosperm 8 - 10 hücreden fazla bölünme sağlayamamak ve bu nedenle embriyo, gelişmesi için gerekli besin maddesini bulamayarak aborsiyona uğramaktadır. Bu tip melezler meyve tutmakta, fakat canlı tohum oluşmamaktadır (Alexander ve Oakes 1971).

*L. esculentum* x *L. peruvianum* türler arası melezlemelerinde uyumsuzluk embriyo kültürünün kullanımı ile aşılması olmakla birlikte, bazı durumlarda embriyo kültürü kullanımının hem zor hem de istenen başarıyı vermediği gözlemlenmiştir. *L. esculentum* ana ebeveyn, *L. peruvianum* baba ebeveyn olduğunda normal meyveler meydana gelmekte fakat, Currence ve Minn (1962)'in bildirdiğine göre meyve tutumu çok düşük oranlarda gerçekleşmektedir. Araştırmacı, meyve tutumundaki problemlerin melez bitkilerde 4. döli kuşağa kadar devam ettiğine de işaret etmektedir. Sink ve Reynolds (1986), bu meyvelerin kısmi olarak gelişmiş bir kaç başlangıç hücresine sahip ytrek şekilli safhadaki çimlenme gücü olmayan embriyolara sahip olduğunu bildirmiştir. Bazen, 30 - 40 gün yaşlı meyveler içerisinde nadir olarak bu safhayı geçmiş olan embriyolara da rastlanmaktadır. Bu embriyolar (yaklaşık 1.0 mm uzunlukta) az gelişmiştir, ışık geçirmez ve görünüş olarak parlak beyaz renktedir fakat, anormal şekilli oldukları gözlenir. Yapılan bir çalışmada bu tip kültürü yapılan 50 embriyodan ancak, 3'nün aktarıldığına yaşamını sürdürdüğü gözlemlenmiştir.

Domateste embriyo kültürü ile ilgili çalışmaların yoğunlaşmasını takiben tekniğin pratik uygulamaları üzerinde de durulmuş ve öncelikle, *L. esculentum* x *L. peruvianum* melezlemeleri üzerinde çalışılmıştır. Embriyo kültürüne alternatif olarak kullanılabilen tekniklerden biri olan olgunlaşmamış tohum kültürü tekniğini ilk kez Smith kullanmış, araştırmacı bu tekniği kullanarak *L. peruvianum* PI 128.657 cv. Michigan State'i melezlemiş, kültür domates çeşitine "Mi" nematoda mukavemet genini transfer etmiştir (Sink ve Reynolds 1986).

Thomas ve Pratt (1981) ise başka yollarla gelişmeyecek durumda olan renk farklılaşmasının başladığı safhadaki meyvelerden aldığı 1000'nin üzerindeki gelişmemiş tohumu kallus oluşturma ortamına almıştır. Canlı tohum oluşturmamayan *L. esculentum* cv. VFNT cherty x *L. peruvianum* LA 1283 - 4 türler arası melezlemesinden elde edilen gelişmemiş tohumların %12 kadarı 2 ay içerisinde kallus oluşturmuştur. Rejenerasyon olan kallus klonlarının %40'ı en azından bir diploid bitki oluşturmuş böylece, kallus üretimi için kültürü alınan gelişmemiş tohumların %4 kadarı sonuçta diploid hibrid bitkiler meydana getirmiştir. Bu kalluslardan oluşan hibritler *L. esculentum* ebeveyni şekilde geriye melezlenmiş, melezleme sonucunda beklenildiği gibi gelişmemiş tohumlar meydana gelmiş, bu tohumlardan yine kallus oluşumu yolu ile bitki elde edilebilmiştir.

Wu ve ark. (1987)'nin yapmış oldukları bir çalışmada *L. esculentum* x *L. peruvianum* melezlemesinden elde edilen olgunlaşmamış hibrid tohumların tozlanmadan 25 - 30 gün sonra alınarak MS ortamı üzerinde kültürü yapılmıştır. Kültürü yapılan bu tohumlardan %52 oranında kallus oluşumu gözlemlenmiştir. Bu kalluslar köklenme ortamına aktarıldığında 2300 bitkici oluşmuş, tarla şartlarına transfer edildiklerinde ise %90'lık bir yaşama oranı elde edilmiştir. Elde edilen bitkiler  $2n=24$  (her iki ebeveynin özelliklerini taşıyan ve tohum tutan) ve  $2n=48$  (çok az tohum tutan) kromozom sayısına sahip bitkiler olarak ikiye ayrılmıştır.

Yine Patil ve ark. (1993)'ün yapmış olduğu bir çalışmada *L. esculentum* x *L. peruvianum* melezlemesinde bu teknik kullanılmış ve elde edilen bitkilerin tümünün diploid ( $2n=24$ ) olduğu gözlemlenmiştir. Fakat elde edilen bitkilerin kendine kusur olduğu ve meyvelerin tohum içermediği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, meyveler içinde kısmi olarak gelişmiş tohumlar bulunmuştur. Bu aşamada yine hibrid bitkileri elde etmek amacıyla olgunlaşmamış tohumlar pembe renge dönmüş safhasındaki meyvelerden izole edilmiş ve kültürü yapılmıştır. Deneme sonunda kültürü yapılan bu olgunlaşmamış tohumlardan elde edilen bitkilerin canlı tohumlara sahip olduğu gözlemlenmiştir.

*L. peruvianum*'da bulunan domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) ve domates yaprak oyucusu (*Scrobipalpusoides absolutus*)'na dayanıklılık genlerinin *L. esculentum*'a aktarılmasını amaçlayan Segeren ve ark. (1993)'ü da bu amaçla *L. esculentum* cv. Angela Giganto ve *L. peruvianum* arasında melezlemeler yapılmıştır. Melezlemeler sonrasında 15 - 25 gün yaşlı olgunlaşmamış embriyolar izole edilerek, oksin ve sitokininlerin değişik konsantrasyonlarını içeren ortamda kültürü yapılmıştır. En iyi uygulama 10 mM 6-BA ve 2,5 mM IAA ilavesi olmuş ve olgunlaşmamış embriyoların %20 kadarında kallus oluşumu sağlanmıştır.

## 2. MATERİYAL VE METOD

### 2.1. Materyal

Çalışmada *L. esculentum* Mill. ( $2n=24$ ) türüne ait "Rio Grande", "H 2274", "Tivoli", "Ontario 7710" ve "P.19" çeşitleri ile *L. peruvianum* ( $2n=24$ ) yabancı domates türü bitkisel materyal olarak kullanılmıştır.

### 2.2. Metod

Bitkileri yetiştirmek amacıyla tohumlar 2:2:1 oranında bahçe toprağı, yanmış elenmiş ahır gübresi ve kum karışımından oluşan harçla doldurulmuş  $20 \times 30$  cm boyutundaki kasalara hepsinden en az 50 tohum olacak şekilde seraya ekilmişlerdir. Kasalar ekimden sonra cam seraya yerleştirilmiştir. Tohumlar çimlenip kotiledon yaprakları yere paralel duruma geldiği zaman 14 cm çap ve 13 cm derinlikteki plastik sakamlara şaşırtılmıştır. Bitkilerin bu sakamlarda gelişmesi beklenmiş ve bu şartına işleminin 20 gün sonra asıl yerlerine aktarılmıştır.

Melezleme işleminin kolay yapılmasını amacıyla bitkiler ipe alınmış ve bitkilerde koltuk alma işlemi yapılarak tek gövde halinde gelişmeleri sağlanmıştır. Bitkiler çiçeklenme aşamasına geldikten sonra bütün bitkilerde melezlemeye yetecek kadar çiçek olduğu zaman kastrasyon işlemine başlanmıştır. Kastrasyon sabah saat 8:30 - 10:00 arasında ana olarak ayrılmış olan bitkilerdeki taç yapraklarını henüz açılmadığı ve çiçek ekscenine  $45^\circ$ 'lik açı oluşturduğu çiçeklerde Yordanov (1983)'ün belirttiği şekilde yapılmıştır. Bu günü izleyen günün öğleden sonrası saat 15:00 - 17:00 arasında ise melezleme yapılmıştır.

Tozlama işleminden 40 gün sonra hasat edilen meyveler laboratuvara alınarak, bu meyvelerden izole edilen embriyo aborsiyonuna uğramış tohumlar Çizelge 1'de bileşimi verilmiş olan Thomas ve Pratt (1981)'in tavsiye ettiği ortama alınmıştır.

Çizelge 1. Embriyosu görülmeyen tohumlardan kallus oluşumu yolu ile bitki elde edilmesinde kullanılan ortamın bileşimi (Thomas ve Pratt 1981).\*

Ortam	Amaç	Hormon Kompozisyonu
2D/1PCCC <sup>c</sup>	Kallus	2 mg/l (2,4 - D) 1 mg/l (ZiP)
2Z <sup>a</sup>	Sürgün rejenerasyonu	2 mg/l Zeatin
MSS <sup>bc</sup>	Köklenme	-

\* Ortamlar temel olarak MS ortamındaki besin maddelerine sahiptir. Sadece amaca göre ortama katılan hormon ve vitaminlerde değişiklik yapılmaktadır. Ortam isimleri Thomas ve Pratt (1981)'de kullanıldığı gibi aynen alınmıştır.

<sup>a</sup> Sakkaroz konsantrasyonu 20 g/l'ye düşürülmüştür.

<sup>b</sup> Agar konsantrasyonu 6 g/l'ye düşürülmüş, inositol ve tiamin ortamdan çıkarılmıştır.

<sup>c</sup> Pyridoxine HCl ve nikotinic asit ortamdan çıkarılmıştır.

İçinde 25'er ml ortamın bulunduğu 1.5 cm x 15 cm uzunlukta cam tüpler otoklavda 15 dakika süre ile 121°C sıcaklığa tabi tutularak sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra tüpler otoklavdan çıkarılarak zaman kaybedilmeden steril kabin içerisine alınmışlardır.

Embriyo aborsiyonu meydana gelmiş meyvelerden tohumların izolasyonu aşamasında ise tohumlar alkol + kuru yakma metodu ile sterilize edilmiş meyveden çıkarılarak, steril filtre kağıdı üzerinde tohumu saran jelimsi tabaka ayrılmış ve her tüpe bir tane olacak şekilde ekim yapılmıştır. İleriki dönemde kallus oluşturan tohumlar 2 cm çap x 18 cm uzunlukta daha büyük cam tüpler içinde bulunan taze kallus oluşturan ortama steril kabin içerisinde aktarılarak alt kültür yapılmış, böylece kallusun daha fazla gelişmesi sağlanmıştır. Yeterince gelişen kalluslar bir alt kültürden sonra sürgün geliştirme ortamına aktarılmıştır. Sürgünler oluştuktan sonra ise köklenme ortamına alınarak bitkicikler elde edilmiştir.

Yukarıda belirtildiği şekilde ekimi yapılan tüm tüpler sıcaklığı 25±2°C olan iklim dolabında, floresan lambalarla günde 8000 lux şiddetinde aydınlatılan tablalar üzerine yerleştirilmiştir. Yalnız kallus oluşumunu teşvik amacıyla tüpler Thomas ve Pratt (1981)'in önerileri doğrultusunda, kallus oluşuncaya kadar alüminyum folye ile sarılarak karanlık bir ortam sağlanmıştır.

Embriyo aborsiyonuna uğramış tohumların uzunluklarının ölçülmesinde melezleme sonrasında elde edilen meyvelerden tesadüfen seçilen onur tohum kullanılmış ve oküler mikrometre yardımıyla mikroskop altında, tohumun meyveye bağlandığı kusun ile uç kısm arasındaki mesafe ölçülmüştür. Tohumların çıkarıldığı domates meyvelerinin çapları ise 0.1 mm duyarlılığında kompas yardımıyla ölçülmüştür. Bu iki parametre arasındaki ilişki, korelasyon katsayılarının belirlenmesi ile hesaplanmıştır.

Kültüre alınan tohumlardan bitkiye dönüştürme oranlarının belirlenmesinde; denemede farklı sayıda tohum kullanıldığı için istatistik analiz yapılmamış, sonuçlar çoğu doku kültürü çalışmasında olduğu gibi % olarak verilmiştir. Deneme sonucunda kallus oluşturan tohum sayısı ve rejeneren olan kallus sayısı belirlenerek; ekilen tohum sayısına göre kallus oluşturan tohum yüzdesi, kallus oluşturan tohum sayısına göre de rejeneren olan kallus yüzdesi hesaplanmıştır. Rejeneren olan her bir kallus klon olarak belirlenerek, harflendirilmiştir.

Kromozom sayımı için Tan (1994)'in önerdiği kolay ve hızlı sonuç veren "Lactopropionic Orcein Ezme" yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle göre hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda incelenmiştir.

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

*L. esculentum* x *L. peruvianum* melezlemesinden elde edilen meyveler tozlanmadan 40 gün sonra hasat edilip incelendiğinde embriyoların gelişmesini çok geç safhada durdurduğu gözlenmiştir. Elde edilen bu tohumların uzunluğu ölçülerek, meyve çapı arasında bir ilişki olup olmadığına bakılmış, yapılan istatistik analizler sonucunda meyve çapları ile tohum uzunlukları arasında 0.01 istatistik düzeyde bir korelasyon bulunmuştur. Bu sonuç yani, meyve çapı arttıkça tohum büyüklüğünün de artması bize tohumda canlılık faaliyetlerinin durmadığını belirtir delili olmuştur. Bu durum belirlendikten sonra hibrid bitkiyi elde etmek amacıyla olgunlaşmamış tohumlardan kallus oluşturma yöntemi denenmiştir. Bu amaçla birbirine paralel olarak yapılan denemelerde *L. esculentum* x *L. peruvianum* melezlemelerinden elde edilen 40 gün yaşlı tohumlar büyüklüklerine göre 3 gruba (≥ 2.0 mm / 1.9 - 1.1 mm / 1.0 - 0.5 mm) ayrılarak kültüre alınmıştır. I. Denemede 140, II. Denemede ise 178 mat, beyaz, gelişmiş tohum kallus geliştirme ortamına alınmış ve yaklaşık 2 ay sonra bu tohumların meyveye bağlandığı yerin sonunda kallus oluşumunun başladığı gözlenmiştir. Thomas ve Pratt (1981)'in yaptıkları çalışmada da tohumların bizim gözlemlerimize benzer bir şekilde 2 ay içerisinde kallus oluşturdıkları belirlenmiştir.

I. Denemede tüm tohumlar dikkate alındığında %11.43 (Çizelge 2), II. Denemede ise %16.3'lük (Çizelge 3) kallus oluşturan tohum yüzdesi elde edilmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuçlar 2 ay içerisinde %12 oranını elde eden Thomas ve Pratt (1981) ile uyurken, Wu ve ark. (1987)'nin %52 ve Segeren ve ark. (1993)'ün %20 ile daha yüksek kallus oranı

Çizelge 2. L. peruvianus'un baba ebeveyn olduğu melezlemelerden elde edilen tohumlarla yapılan I.Deneme'nin sonuçları.

Tohum. Büy. (mm)	Rio Grande				H 2274				Tivoli				Ontario 7710				P.19																																			
	Ts	Tk	K(%)	Kr	Bitkicik sayısı				Ts	Tk	K(%)	Kr	Bitkicik sayısı				Ts	Tk	K(%)	Kr	Bitkicik sayısı				Ts	Tk	K(%)	Kr	Bitkicik sayısı																							
					Kal.klonu	2n	3n	R(%)					Kal.klonu	2n	3n	R(%)					Kal.klonu	2n	3n	R(%)					Kal.klonu	2n	3n	R(%)	Kal.klonu	2n	3n	R(%)																
>2.0	0	0	0.0	0	0.0	-	-	-	0	0	0.0	0	0.0	-	-	-	0	0	0.0	0	0.0	-	-	-	10	0	0.0	0	0.0	-	-	-	10	0	0.0	0	0.0	-	-	-												
1.9 - 1.1	10	0	0.0	0	0.0	-	-	-	10	0	0.0	0	0.0	-	-	-	15	2	13.3	0	0.0	-	-	-	30	5	16.7	3	60.0	A	2	1	B	2	1	25	6	24.0	4	66.7	D	1	3	E	2	1	F	0	1	G	2	0
1.0 - 0.5	10	2	20.0	1	50.0	H	2	0	5	1	20.0	1	100	I	2	1	5	0	0.0	0	0.0	-	-	-	5	0	0.0	0	0.0	-	-	-	5	0	0.0	0	0.0	-	-	-												

Ts = Ekilen tohum sayısı  
 Tk = Kallus oluşturan tohum sayısı  
 K(%) = Kallus oluşturan tohum yüzdesi  
 Kr = Rejenere olan kallus sayısı  
 R(%) = Rejenere olan kallus

Çizelge 3. L. peruvianum'un baba ebeveyn olduğu melezlemelerden elde edilen tohumlarla yapılan II.Deneme'nin sonuçları.

Tohum. Büy. (mm)	Rio Grande					H 2274					Tivoli					Ontario 7710					P.19																																		
	Ts	Tk	K(%)	Kr	R(%)	Bitkicik sayısı					Bitkicik sayısı					Bitkicik sayısı					Bitkicik sayısı																																		
						Kal.	klonu	2n	3n	Ts	Tk	K(%)	Kr	R(%)	Kal.	klonu	2n	3n	Ts	Tk	K(%)	Kr	R(%)	Kal.	klonu	2n	3n	Ts	Tk	K(%)	Kr	R(%)	Kal.	klonu	2n	3n																			
>2.0	0	0	0.0	0	0.0	-	-	-	0	0	0.0	0	0	0.0	-	-	15	0	0.0	0	0.0	-	-	20	1	5.0	0	0.0	-	-	0	0	0.0	0	0.0	-	-	-																	
1.9 - 1.1	15	2	13.3	2	100	J	1	0	20	2	10.0	1	50.0	L	1	2	25	4	16.0	1	25.0	M	0	1	30	7	23.3	5	71.4	N	1	0	0	2	1	25	5	20.0	3	60.0	S	1	2	Ş	0	1	P	1	1	R	1	0	0	2	0
1.0 - 0.5	5	2	40.0	2	100	Ü	2	0	7	2	28.6	1	50.0	V	3	2	5	1	20.0	0	0.0	-	-	6	1	16.7	1	100	Y	3	0	5	2	40.0	1	50.0	Z	1	2	0	2	1	2												

Ts = Ekilen tohum sayısı  
 Tk = Kallus oluşturan tohum sayısı  
 K(%) = Kallus oluşturan tohum yüzdesi  
 Kr = Rejenere olan kallus sayısı  
 R(%) = Rejenere olan kallus yüzdesi

elde ettikleri görülmektedir. Bu değerler bizim elde ettiğimiz değerlerden daha yüksektir ve bunda kullanılan çeşit ve ortam farklılığının etkisi düşünülebilir.

Çeşit ve tohum büyüklükleri dikkate alınmaksızın incelendiğinde I. Denemede 22 bitkicik oluşmuş ve bunlardan 14 tanesinin diploid, 8 tanesinin triploid yapıda olduğu belirlenmiştir. Bu değerler ekilen toplam tohum sayısına oranlandığında %10 diploid, %5.7 oranında triploid bitkiye karşılık gelmektedir (Çizelge 2). II. Denemede ise 37 bitkicik oluşmuş; bunlardan 22 tanesi diploid, 15 tanesi triploid yapıya sahip olmuştur. Böylece ekilen toplam tohum sayısına göre %12.4 diploid, %8.4 oranında triploid bitki elde edilmiştir (Çizelge 3).

Büldüğü gibi bir hibrid tohum hibrid embryo, hibrid endosperm ve anaya ait dokudan oluşur. Çalışmamızda hem diploid hem de triploid bitkicikler elde edilmiştir. Triploid bitkiciklerin endosperm orijini oldukları kısımdır. Diploid bitkiciklerin kaynağının ise hibrid embriyo mu, yoksa anaya ait doku mu olduğunu belirlemek için daha kapsamlı ve zaman alıcı çalışmalar içeren, elde edilen bitkilerin morfolojisi, verimlilik ilişkileri ve izoenzim analizlerinin yapılması gerekmektedir.

Kullanılan ana çeşit ve tohum büyüklükleri açısından incelediğimizde ise I. ve II. Denemede 2.0 mm ve daha büyük tohumlar her çeşitte bulunmadığı için detaylı bir karşılaştırma olanağı olmamıştır. I. Denemede bu tohumların kallus oluşturmadağı. II. Denemede ise sadece Ontario 7710 çeşitinin ana ebeveyn olduğu mezlemelerden elde edilen tohumlardan birinin kallus oluşturduğu belirlenmiştir. 1.9 - 1.1 mm grubu en iyi sonucu vermiş; her iki denemede de tüm çeşitlerden bu tohumlar alınmış ve kültürü yapılmıştır. I. Denemede Rio Grande ve H 2274 çeşitinin dışındakiler kallus oluşturmuştur. En yüksek kallus oluşum oranına %24 ile P.19 çeşiti ana ebeveyn olduğunda ulaşılmış, ayrıca bu çeşitte 5 tanesi diploid, 5 tanesi triploid 10 bitkicik elde edilmiştir. P.19 çeşitini %16.7 kallus oluşumu ile Ontario 7710 izlenmiş, bu kalluslardan 5 tanesi diploid, 2 tanesi triploid bitkicik oluşturmuştur. Tivoli çeşiti ana ebeveyn olduğunda ise ancak %13.3 kallus oluşum oranı elde edilmiş fakat, bu kallusların hiç biri rejener olmamıştır. En küçük tohumların bulunduğu 1.0 - 0.5 mm'lik grupta ise Tivoli, Ontario 7710 ve P.19 çeşitinin dışındakiler kallus oluşturabilmiştir. Rio Grande ve H 2274 %20'lik bir kallus oluşum oranına sahip olmuştur. Rio Grande 2 adet diploid, H 2274 ise 2 diploid, 1 triploid bitkicik oluşturmuştur (Çizelge 2).

II. Denemede de 1.9 - 1.1 mm grubunda tüm çeşitlerden alınan tohumlarla kültür yapılmış Ontario 7710 çeşiti %23.3, Rio Grande ve P.19 çeşiti %20, Tivoli %16, H 2274 %19'luk bir kallus oluşum oranına sahip olmuştur. Ontario 7710 çeşiti 5 diploid 3 triploid, Rio Grande 2 diploid 1 triploid, P.19 3 diploid 3 triploid, Tivoli 1 triploid, H 2274 1 diploid 2 triploid bitkicik oluşturmuştur. 1.0 - 0.5 m grubunda yine tüm çeşitlerden tohum kültüre alınmış. Rio Grande ve P.19 çeşiti ana ebeveyn olduğunda %40, H 2274 %28.6, Tivoli %20, Ontario 7710 %16.7 kallus oluşum oranına sahip olmuştur. Tivolide kallusların hiç biri rejener olmamış H 2274 3 diploid 2 triploid, Rio Grande 4 diploid 1 triploid, P.19 1 diploid 2 triploid, Ontario 7710 3 diploid bitkicik oluşturmuştur. Gözle görülmesi gibi en yüksek oranlar 1.9 - 1.1 mm grubundan elde edilmiş fakat, çeşitler arasında tüm gruplarda farklılıklar olmuştur (Çizelge 3).

Çalışmamız bütünüyle incelendiğinde; *L. esculentum* ile mezlemelerde engellerle karşılaşan ve embriyo abortyonu meydana gelen *L. peruvianum* gibi yabani domates türleri kullanıldığında hibrid bitkiyi elde edilebilir amacıyla olgunlaşmamış tohumlardan kallus oluşumu yolu ile hibrid bitkicikleri elde etmenin mümkün olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre, hibrid bitkilerin olgunlaşmamış tohumlardan kallus oluşumu yolu ile eldesinin ümitvar olduğu belirlenmiştir.

#### KAYNAKLAR

- Alexander, L. J. ve Oakes, G. L. 1971. Ohio M-R 9 and Ohio M-R 12: Two New Tomato Varieties Resistant to Five Ohio Strains of TMW. Research Bulletin 1045, Ohio Agricultural Research and Development Center, Ohio, p.19.
- Currence, T. M. ve Munn, P. 1962. Tomato Breeding. In "Handbuch Der Pflanzen-Züchtung", (T. H. Roemer, W. Rudorf, eds.), 351 - 369, Band VI, 2. AUFL.
- Esquinas-Alcazar, J. T. 1981. Genetic Resources of Tomatoes and Wild Relatives. International Board for Plant Genetic Resources. Genetic Resources Officer, IBPGR Secretariat, Rome, p. 65.
- Ford-Lloyd, B. ve Jackson, M. 1986. Plant Genetic Resources: An Introduction to Their Conservation and Use. Chapter 7, Castlefield Press, Moulton, Northampton, 94 - 114.
- Hogenboom, N. G. 1972. Breaking Breeding Barriers in *Lycopersicon*. I. The Genus *Lycopersicon*, Its Breeding Barriers and The Importance of Breaking These Barriers. Euphytica, 21: 221 - 227.
- Macit, F. 1972. Doku Kültürleri ve Bitki Islahı. Bitki Islahı Semineri, 3 - 8 Nisan 1972, Türkiye Ziraat Araştırmacılar Derneği Yay. No: 1, Birlik Matbaası, Bornova, İzmir, 175 - 187.
- Patil, R. S., Latif, M., D'Utra Vaz, F. B., Davey, M. R. ve Power, J. B. 1993. Hybridization, Through Culture of Embryos and Immature Seeds of A Range of Tomato Cultivars With A Tomato Somatic Hybrid (*L. esculentum* (+) *L. peruvianum*): Emergence of A Possible New Marker Gene for Tomato Breeding. Plant Breeding, 111: 273 - 282.
- Seegeren, M. I., Sondahl, M. R., Siqueira, W. J., Filho, H. P. M., Negai, H. ve Lourenço, A. L. 1993. Tomato Breeding: 1. Embryo Rescue of Interspecific Hybrids Between *Lycopersicon esculentum* Mill. and *L. peruvianum* (L.) Mill. Rev. Brasil. Genet. 16(2): 367 - 380.
- Sink, K. C. ve Reynolds, J. F. 1986. Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). In "Biotechnology in Agriculture and Forestry, Crops I, Vol. 2", (Y. P. S. Bajaj, ed.), 319 - 344. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Tan, A. 1994. Yabani Pancar (*Beta L.*) Türlerinde Modifiye Edilmiş Lactopropionic Orcein Ezme Yöntemi ile Kromozom Çalışmaları. Anadolu, J. of AAR, 4(1): 1 - 7.

- Thomas, B. R. ve Pratt, D. 1981. Efficient Hybridization Between *Lycopersicon esculentum* and *L. peruvianum* via Embryo Callus. *Theor. Appl. Genet.*, 59: 215 - 219.
- Tijchelaar, E. C. 1986. Tomato Breeding. In "Breeding Vegetable Crops", (M. J. Bassett, ed.), 135 - 166, Avi. Publishing Com., Inc., Westport, Connecticut.
- Wu, H. M., Lu, W. Z., She, J. M., Zhou, H. Y., Xu, H. L., Long, M. S., Yu, W. G. ve Jai, C. G. 1987. Induction of Interspecific Hybrid Plant of Tomato From Immature Seed *In Vitro*. *Journal of Agricultural Sciences, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences*, 3(4): 7 - 13.
- Yordanov, M. 1983. Heterosis in Tomato. In "Heterosis, Reappraisal of Theory and Practica", (R. Frankel, ed.), 189 - 219, Springer-Verlag.