

**T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

***IN VITRO* KOŞULLARDA DOMATES  
(*Lycopersicon esculentum* Mill.) BİTKİ  
REJENERASYONU VE DOKU KÜLTÜRÜ**

**DERYA SANCAK**

**TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SAMSUN**

**2017**

**Her hakkı saklıdır.**

## TEZ ONAYI

Derya SANCAK tarafından hazırlanan "İn Vitro Koşullarda Domates (*Lycopersicon Esculentum* Mill.) Bitki Rejenerasyonu ve Doku Kültürü Parametrelerinin Optimizasyonu" adlı tez çalışması 03/11/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** Doç. Dr. Musa KAVAS  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi  
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

### Jüri Üyeleri

**Başkan** Doç. Dr. Musa KAVAS  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi  
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı



**Üye** Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU  
Kastamonu Üniversitesi  
Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı



**Üye** Yrd. Doç. Dr. Yılmaz KAYA  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi  
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı



Yukarıdaki sonucu onaylarım. .../.../2017

**Prof. Dr. Bahtiyar ÖZTÜRK**  
Enstitü Müdürü

## ETİK BEYAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

16/10/2017

Derya SANCAK

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### *IN VITRO* KOŞULLARDA DOMATES (*Lycopersicon esculentum* Mill.) BİTKİ REJENERASYONU VE DOKU KÜLTÜRÜ PARAMETRELERİNİN OPTİMİZASYONU

Derya SANCAK

Ondokuz Mayıs Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Musa KAVAS

Domates bitkisi, dünyada büyük miktarlarda yetiştiriciliği yapılan bir bitki türüdür. Domatesin besin içeriğinin zenginliği, kullanım alanlarının fazlalığı, tarımının kolay olmasından dolayı üretimi her geçen gün artmaktadır ve dünyada üretimi en çok yapılan yaş sebzedir. Türkiye dünyada domates üretiminde 11,8 milyon ton üretim ile 4. sıradadır. Dünya piyasasında üretim olarak önemli bir yere sahip olan domates aynı zamanda laboratuvar çalışmaları için de model bir bitkidir. Doku kültürü optimizasyonu her genotipe özel olarak yapılmalıdır. Bundan dolayı SC 2121 domates çeşidi için laboratuvarımızda doku kültürü optimizasyon işlemi yapılmıştır. Ticari olarak satın alınan domates tohumu yüzey sterilizasyonu yapılarak, çimlendirilmiştir. Elde edilen steril domateslerin hipokotil ve kotiledonları eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. IAA, NAA, BAP, KN, TDZ, ZEA ve 24-epiBL bitki büyüme düzenleyicilerinin farklı konsantrasyon ve kombinasyonları ile desteklenen MS besiyeri kullanılmıştır. Gelişimi takip edilen eksplantlardan sürgün oluşturanlar alt kültüre alınarak büyütülmüştür. Köklenme ortamında gelişen domatesler saksılara alınarak yeni bitkicikler elde edilmiştir. Yapılan optimizasyon çalışmasının sonucunda sürgün oluşumunda en iyi ortam MS+0,5 mg/L IAA+3 mg/L KN içeren ortam olduğu tespit edilmiştir. Sürgün oluşum yüzdesi, hipokotil %82, kotiledon %78'dir. Kök oluşumunda en iyi ortam ise; MS+2 mg/L IAA+0,5 mg/L KN içeren ortam olduğu tespit edilmiştir. Kök oluşum yüzdesi, hipokotil ve kotiledonda %94'tür.

Ekim 2017, 65 sayfa

Anahtar Kelimeler: Domates, Bitki Büyüme Düzenleyicisi, Sürgün, Kök, MS besiyeri

## ABSTRACT

Master's Thesis

*IN VITRO* OPTIMIZATION OF TISSUE CULTURE PARAMETERS AND  
PLANT REGENERATION IN TOMATO (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Derya SANCAK

Ondokuz Mayıs University  
Graduate School of Sciences  
Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Musa KAVAS

Tomato plant is a plant species grown in large quantities all over the world. Tomato is rich in nutrients, used for various purposes and can be cultivated with ease as a result its production is increasing on a daily basis. Hence it is regarded as one of the most produced vegetable crop in the world. Turkey is in the 4th producer of tomatoes in the world producing 11,8 million tons yearly. Tomato, which has an important place among list of essential crops produced on the world market, is also a useful model in studies related to plant biotechnology. However, major drawback is that tissue culture optimization should be done specifically for each genotype. As a result, tissue culture optimization process was performed in our laboratory for the tomato variety SC 2121. In this study, commercially purchased tomatoes were surface-sterilized and germinated. Hypocotyl and cotyledons of the obtained sterile tomatoes were then used as explant sources and grown in IAA medium (MS medium) supplemented with different concentrations and combinations of NAA, BAP, KN, TDZ, ZEA and 24-epiBL plant growth regulators. Explants were obtained from the normal tomato plants following the development by subculture. Tomato plants growing in rooting environment were transferred into a pot and new plants were obtained. Results from this study showed that the ideal environment for shoot formation was medium containing MS+0.5 mg/L IAA+3 mg/L KN with percentage of shoot formation: hypocotyl 82%, cotyledon 78%. The ideal environment for root formation are; MS+2 mg/L IAA+0.5 mg/L KN. Overall root formation was 94% in hypocotyl and cotyledon.

October 2017, 65 pages

Keywords: Tomato, Plant Growth Regulator, Shoot, Root, Murashige Skoog Medium

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmalarım boyunca bilimsel düşünce, bilgi birikimi ve tecrübelerini benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Musa KAVAS'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bölümdeki araştırma görevlisi arkadaşım Zafer SEÇGİN'e bütün katkılarından dolayı teşekkür ederim. Bölümdeki bütün araştırma görevlisi ve yüksek lisans arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Yüksek lisansımı tamamlamamda, her anımda yanımda olup hem okulda hem evde benden desteğini esirgemeyen canım kuzenim Ebru YILMAZ'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemde gizli kahramanlarım olan, maddi-manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, beni her kararımda destekleyip arkamda duran, sevgilerini eksik etmeyen babam Hüseyin SANCAK, annem Kısmet SANCAK ve biricik kardeşlerim Hami SANCAK, Mustafa SANCAK ve Enes SANCAK'a, bütün hayatım boyunca desteğini esirgemeyen amcam Hasan SANCAK'a sonsuz teşekkür ederim.

Ekim 2017, Samsun

Derya SANCAK

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2.DOMATES</b> .....	<b>3</b>
2.1.Domatesin Yapısı .....	3
2.2.Domatesin Genetik Çeşitliliği ve Botanik Olarak Sınıflandırılması.....	3
2.3.Domatesin Bileşimi ve Botanik Özellikleri .....	5
2.4. Domatesin Sağlık Üzerine Etkisi .....	9
2.5. Domatesin Ekolojik İstekleri.....	9
2.6. Dünyada ve ülkemizde domates üretimi .....	10
<b>3.BİTKİ DOKU KÜLTÜRÜ</b> .....	<b>13</b>
3.1. Bitki Doku Kültürünün Tarihçesi.....	14
3.2. Bitki Doku Kültürünün Avantaj ve Dezavantajları.....	15
3.3. Bitki Doku Kültürü Teknikleri.....	16
3.3.1. Kallus kültürü.....	16
3.3.2. Hücre Süspansiyon Kültürü .....	16
3.3.3. Protoplast Kültürü .....	17
3.3.4. Embriyo Kültürü .....	17
3.3.5.Meristem Kültürü.....	17
3.4. Bitki Doku Kültürü Aşamaları .....	18
3.5. Bitki Doku Kültüründe Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	18
3.6. Besi Ortamları .....	19
3.7. Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Fonksiyonları.....	20
3.8.Bitki Doku Kültürüne Etki Eden Etmenler .....	25
<b>4.MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>26</b>
4.1.Materyal .....	26
4.1.1.Bitki Materyali .....	26
4.1.2.Besin Ortamı .....	26
4.2.Yöntem.....	26
4.2.1.MS Besiyerinin hazırlanması .....	26
4.2.3.Sterilizasyon İşlemi.....	27
4.2.3.1.Besiyeri ve kullanılacak ekipmanların sterilizasyonu.....	27
4.2.3.2.Çalışma ortamının sterilizasyonu .....	27
4.2.4.Domates tohumlarının yüzey sterilizasyonu .....	28
4.2.5.Domates tohumlarının besi ortamına ekimi ve çimlendirilmesi .....	28
4.2.6.Eksplantların Alınması.....	29
4.2.7.Farklı BBD konsantrasyonu içeren besiyerleri .....	30
4.2.8.Sürgün oluşturan besi ortamlarının alt kültüre alınması .....	32
4.2.9.Sürgünlerin köklendirme ortamına aktarımı .....	32
4.2.10. Saksıya alım ve iklime alıştırma .....	33
<b>5.BULGULAR VE TARTIŞMA</b> .....	<b>34</b>
5.1. Farklı BBD Konsantrasyonlarının Sürgün Oluşumuna Etkisi .....	34

5.2.Farklı BBD Konsantrasyonlarının Kök Oluşumuna Etkisi.....	38
5.3.Farklı BBD Konsantrasyonlarının Kallus Oluşumuna Etkisi .....	40
<b>6. SONUÇ.....</b>	<b>48</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>49</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>55</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR

### SİMGELER

%	Yüzde Oran
KNO <sub>3</sub>	Potasyum nitrat
°C	Santigrat Derece
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	Kalsiyum klorür
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	Kobalt klorür
l, ml, µl	Litre, milli litre, mikro litre
g, mg, µg	Gram, Milli gram, Mikro gram
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	Borikasit

### KISALTMALAR

KN	Kinetin
MS	Murashige ve Skoog
NAA	Naftalen asetik asit
Na EDTA	Sodyum Etildiamin tetra asetik asit
24-epiBL	24-epibrassinolid
NaOCl	Sodyum hipoklorit
Zea	Zeatin
BA	Benziladenin
BAP	6-benzil amino pürin
RF	Rejenerasyon frekansı
EDTA	Etildiamin tetra asetik asit
IAA	Indol-3 asetik asit
IBA	Indol-3-bütirik asit
IP	Isopentyl
TDZ	Thidiazuran

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Domates kökleri.....	7
Şekil 2. 2. Domates yaprağı .....	7
Şekil 2. 3. Domates bitkisinin yüzeyindeki ‘glandular trichome’ .....	8
Şekil 2. 4. Domates çiçeği.....	8
Şekil 4.1. Sterilizasyon aşaması <b>a</b> ; UV ışık altında steril olan kabin ve aletler, <b>b</b> ; %20’lik sodyum hipoklorit çözeltisinde bekletilen domates tohumları, <b>c</b> ; Sterilizasyon işleminden sonra kuruması için bekletilen tohumlar.....	28
Şekil 4.2. Çimlendirme aşaması <b>a</b> ; yüzey sterilizasyonundan sonra kavanoza ekilen domates tohumları <b>b</b> ; 10 günlük domates fideleri.....	29
Şekil 4.3. Hazırlanan örnek bir set .....	29
Şekil 5.1. 0,5 mg/L IAA + 3 mg/L Kinetin sürgün oluşumu.....	42
Şekil 5.2. 0,5 mg/L IAA + 3 mg/L Kinetin sürgün oluşumu .....	43
Şekil 5.3. 0,5 mg/L IAA + 2 mg/L BAP sürgün oluşumu .....	43
Şekil 5.4. 2 mg/L TDZ + 1 mg/L IAA sürgün oluşumu .....	44
Şekil 5.5. 0,5 mg/L Zeatin + 1 mg/L IAA sürgün oluşumu.....	44
Şekil 5.6. 0,5 mg/L Zeatin + 1 mg/L IAA sürgün oluşumu.....	45
Şekil 5.7. Köklendirme ortamında köklenmeye başlayan sürgün.....	45
Şekil 5.8. Büyüyen domates bitkisinin köklendirme ortamında tepeden görünümü .	46
Şekil 5.9. Şekil 4.7. Domates köklerinin MS’den arındırılması .....	46
Şekil 5.10. Saksıya alınan domates bitkisi .....	47
Şekil 5.11. İklim odasında büyütülen domates bitkileri.....	47

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türlerin döllenme özelliklerine göre ayrımları .....	5
Çizelge 2.2. Domatesin kimyasal bileşimi .....	6
Çizelge 2.3. Domatesin fizyolojik dönemleri .....	9
Çizelge 2.4. Dünya yaş sebze üretiminde ilk 10 ürün.....	11
Çizelge 2.5. Ülkemizde ürün bazında yaş sebze üretim verileri .....	11
Çizelge 3.1. Bitki doku kültüründe bazı önemli çalışmalar .....	14
Çizelge 3.2. Yaygın olarak kullanılan besin ortamları ve bileşenleri .....	19
Çizelge 3.3. Bitki doku kültüründe en çok kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri.	23
Çizelge 3.4. Bitki büyüme düzenleyicilerinin gruplandırılması, fonksiyonu ve en yaygın kullanılanlar .....	24
Çizelge 3.5. Farklı çevre şartlarının çeşitli evrelerde kültürler üzerine etkileri.....	25
Çizelge 4.1. MS besiyeri içeriği.....	27
Çizelge 4.2. Sürgün gelişimi için IAA'nın TDZ, Zeatin, BAP ve Kinetin BBD'leriyle farklı konsantrasyonlarda kombinasyonları.....	30
Çizelge 4.3. Sürgün gelişimi için NAA'nın BAP ve Kinetin BBD'leriyle farklı konsantrasyonlarda kombinasyonları .....	31
Çizelge 4.4. Sürgün gelişimi için 24-epibrassinolid bitki büyüme düzenleyicisinin farklı konsantrasyonlarda denemesi.....	32
Çizelge 5.1. Farklı konsantrasyonlarda kullanılan IAA / Kinetin kombinasyonunun sürgün gelişiminde rejenerasyon frekansına etkisi.....	34
Çizelge 5.2. Farklı konsantrasyonlarda kullanılan IAA / BAP kombinasyonunun sürgün gelişiminde rejenerasyon frekansına etkisi .....	35
Çizelge 5.3. Farklı konsantrasyonlarda kullanılan TDZ / IAA kombinasyonunun sürgün gelişiminde rejenerasyon frekansına etkisi .....	36
Çizelge 5.4. Farklı konsantrasyonlarda kullanılan Zeatin / IAA kombinasyonunun sürgün gelişiminde rejenerasyon frekansına etkisi .....	36
Çizelge 5.5. BBD'lerin tekli konsantrasyonlarının sürgün gelişiminde rejenerasyon frekansına % etkisi.....	37
Çizelge 5.6. Farklı konsantrasyonlarda kullanılan IAA / BAP kombinasyonunun kök gelişimine etkisi .....	38
Çizelge 5.7. Farklı konsantrasyonlarda kullanılan IAA / Kinetin kombinasyonunun kök gelişimine etkisi .....	39
Çizelge 5.8. Farklı konsantrasyonlarda kullanılan NAA / Kinetin kombinasyonunun kök gelişimine etkisi .....	40
Çizelge 5.9. BBD'lerin tekli konsantrasyonlarının kallus gelişimine etkisi .....	41

## 1. GİRİŞ

İnsanoğlu yeryüzünde var olmaya başladığından itibaren, diğer tüm canlılar gibi temel ihtiyacının başında beslenme gelmektedir. Hızla artan nüfus oranı, buna paralel olarak azalan tarım alanları, iklimsel değişimler gibi etkenler yeterli beslenme sorununu her geçen gün daha da arttırmaktadır. Gelişmiş ülkeler aşırı ve yanlış beslenmeden dolayı oluşan obezite, kanser, kalp hastalıkları gibi sorunlarla mücadele ederken; az gelişmiş ülkeler açlık veya yetersiz beslenme sorunuyla mücadele etmek zorunda kalmıştır (Liu vd, 2003).

Günümüzde kronik hastalıklara yakalanan insanlar, tıbbi tedaviye yardımcı olması amacıyla çareyi doğada ve doğal ürünlerde aramaktadırlar. Bu sebeple günümüzde tüketilen meyve ve sebzeler besin ihtiyacını karşılamasının yanısıra, içerdiği birtakım vitamin ve mineral maddeler ile antioksidan özellikleri de değerlendirilmeye başlanmıştır. Bu ürünlerden biri de domatestir (Willcox vd, 2003).

Domates bitkisinin ismi Aztek dilinden kökenini alan ‘xitomate’ veya ‘zitotomate’ kelimelerinden geliştirilmiştir. İlk yazılı kayıtlara 1544 yılında İtalya’da ulaşılmıştır ve Avrupa’ya 16. yüzyılın başlarında gelmiştir (Uylaşer, 1996). Domatesi ilk kez Meksika yerlileri kültüre almıştır ve oradan Avrupa’ya götürülmüştür. Avrupa’da ilk başlarda meyvelerinin kırmızı renkli olması sebebiyle zehirli bir bitki olabileceği düşünölmüş ve bundan dolayı tüketimi yapılmayarak süs bitkisi olarak yetiştirilmiştir. Olgunlaşmamış yeşil meyvelerinin içerdiği solanin maddesinin insan sağlığına olumsuz etki yapması sebebiyle bu izlenim kuvvetlenmiştir (Çapanoğlu ve Boyacıoğlu, 2010). Ülkemizde domates yetiştiriciliği, 1900’lü yılların başlarında Adana’da başlamış olup, son 40 yıl içerisinde hem ıslah hem de yetiştiricilik bakımından oldukça büyük bir ilerleme kaydedilmiştir (Oğuz, 2010).

Değişen yaşam şartları ve teknolojik gelişmeler sonucunda, özellikle işlenmiş gıda ürünleri tüketimi oldukça artış göstermiştir. Zamanla bilinçlenen tüketici, tükettiği üründe lezzet, görünüş, fiyat gibi özelliklere ek olarak sağlık açısından faydalı olmasını da istemektedir. Dünyada ve ülkemizde en fazla tüketilen gıdalardan biri olan domates ve ürünleri beslenmede önemli bir yere sahiptir. Taze olarak

tüketilmesinin yanı sıra işlenerek salça, domates suyu, konserve turşu, reçel, ketçap gibi gıdaların üretiminde bileşen olarak da kullanılmaktadır (Sahlin vd, 2004).

Birinci Dünya Savaşı sırasında tanıdığımız domates, bugün ülkemizde kültürü yapılan ve tüketimi en fazla olan bitkilerin başında gelmektedir (Küçükler, 1994). Ülkemizin iklim şartları domates yetiştiriciliği için oldukça uygundur. Ülkemizde domatesi işleyecek sanayi 1970’li yıllarda kurulmuş ve hızla ilerlemiştir. İklim şartları ve sanayinin yeterli olması domates meyvesine olan ticari yönelimi hızlandırmıştır. Domates, ülkemizde çoğunlukla Ege, Marmara ve Akdeniz bölgelerinde yetiştirilmektedir (Yoltaş, 1996).

Bitki doku kültürü genel bir terim olup; bitkilerin doku, organ, hücre ya da hücre kısımlarının izole edilerek, kapalı ve cam kaplarda “*in vitro*” yapay besi ortamında ve steril şartlarda yetiştirilerek, tam bitkilerin elde edilmesi işlemidir (Babaoğlu, 2001). Doku kültürüyle çoğaltım “*mikroüretim*” olarak adlandırılmaktadır. Bu teknikle çoğaltmada bitkilerden yeni bitki oluşturabilecek; meristemler, sürgün uçları, boğum ve boğum araları, hipokotil, yaprak, gövde parçaları, kotiledonlar, kökler, tomurcuklar vb. eksplantlar kullanılabilir (Er ve Canpolat, 1992).

Mikroçoğaltım alanında yapılan ilk çalışma 1902 yılında, Haberlandt tarafından yapılmıştır. Haberlandt’ın amacı tek bir hücreden tam bir bitki oluşturulabileceğini ispatlamaktı, fakat çalışmasında yalnızca hacim artışı sağlanmış, çoğaltım gerçekleşmemiştir. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda, Haberlandt’ın çoğaltım yapamamasının sebebi olarak, hücre bölünmesi, gelişmesi ve farklılaşması için besi ortamında ihtiyaç duyulan bitki büyüme düzenleyicilerinin o yıllarda bilinmemesi olduğu düşünülmüştür. 1934 yılında White, *in vitro* koşullarda maya özütü içerisinde domates köklerini geliştirmeyi başarmıştır. 1939 yılında ise Fransa’da Nobecourt ve Gautheret, Amerika’da ise White birbirlerinden habersiz olarak kallus dokusunun sürekli olarak kültür ortamında üretilebildiğini göstermişlerdir (Hartman ve Kester, 1975).

## 2. DOMATES

### 2.1. Domatesin Yapısı

Domates (*Solanum lycopersicum*), dünyada büyük miktarlarda yetiştiriciliği yapılan *Solanaceae* familyasına ait bir bitki türüdür (Peralta ve Spooner, 2005). Domates bitkisi gelişmiş bir kazık köke sahiptir ve kökleri 1 m<sup>3</sup>'lük hacme yayılabilmektedir. Domatesin gövde gelişimi, çeşidinin yer veya sızık olmasına bağlı olarak farklılık gösterir. Yaprakları ise bileşik yaprak şeklindedir (Ayan, 2010).

Gövde ve yapraklarının üzerinde bulunan tüyler domatese kokusunu veren bir salgı üretirler ve dokunulduğunda yeşile boyayan bir yapıları vardır. Tohumları meyve içinde karpel loplarda, çimlenmesini engelleyici peltamsi sıvı içerisinde bulunur. Domates tohumları uygun saklama koşullarında muhafaza edildiklerinde çimlenme yeteneklerini 5-6 yıl koruyabilirler (Güneysu, 2004).

### 2.2. Domatesin Genetik Çeşitliliği ve Botanik Olarak Sınıflandırılması

Domatesin çok sayıda yabani ve kültüre alınmış uzak akrabaları hala Galapagos adalarında, Peru'da And dağlarında, Ekvator ve Bolivya'ya uzanan dar bir bölgede bulunmaktadır (Rick, 1973; Taylor, 1986). Kültür domatesinin bu yabani akrabaları, deniz seviyesinden yüksekliğe bağlı olarak, enlem derecesinden de etkilenerek, geniş bir varyabilite göstermektedir. Bu sebeple türlerin gelişimi için neredeyse hiç tükenmeyecek nitelikte değerli bir gen havuzu sunmaktadır (Rick ve Holle, 1990; Roselló vd, 1996; Peralta ve Spooner, 2005).

Domates bitkisine (*Lycopersicon esculentum* Miller) ait sistematik bilgiler:

- **Alem** : *Plantae*
- **Alt Alem:** *Tracheobionta*
- **Bölüm** : *Magnoliophyta*
- **Sınıf** : *Magnoliopsida*
- **Takım** : *Solanales*
- **Aile** : *Solanaceae*
- **Cins** : *Solanum*
- **Tür** : *Solanum lycopersicum*

Domatesin, bitkiler alemindeki sınıflandırılması ilk olarak 1753 yılında İsveçli botanikçi Carl Linnaeus tarafından *Solanum lycopersicon* olarak yapılmıştır. Bu isimlendirme 1768 yılında İngiliz botanikçi Phillip Miller tarafından *Lycopersicon esculentum* Mils. olarak değiştirilmiştir (Taylor, 1986; Heiser ve Anderson, 1999). Orijinal isimlendirmenin *Solanum lycopersicon* olduğunu düşünen birçok taksonomist bulunmaktadır, fakat literatürde *Solanum esculentum* olarak geçmektedir. 2005 yılında Peralta ve arkadaşlarının Kuzey Peru bölgesinde yaptığı bir araştırmada, *Solanaceae* familyasına ait yeni yabancı domates türlerinin bulunması sonucu yapılan yeni sınıflandırmada domates *Solanum lycopersicum* olarak isimlendirilmiştir (Peralta vd, 2005).

Yabancı domatesler morfolojik karakterlerine, dölleme biyolojilerine ve tercih ettikleri yaşama ortamlarına göre gösterdikleri büyük farklılıklar nedeniyle, tarihsel gelişim boyunca araştırmacılar farklı sınıflandırmalar yapmıştır. Domates ve yabancı akrabaları birçok çalışmada farklı karakterler dikkate alınarak sınıflandırılmıştır. Bu farklı karakterlerde; tek yıllık veya çok yıllık olmaları, gövdelerinde tüy veya diken bulunması, yapraklarının diziliş biçimleri, ince ya da otsu gövdelerinin olması ve buna bağlı olarak çalı veya dik formda bulunmaları, çiçek salkımlarının tekli, ikili veya çoklu olması gibi birçok kriter yer almaktadır. Bu farklı kriterler değerlendirilerek sınıflandırma yapılmıştır (Peralta ve Spooner, 2005).

Yabancı domates türlerinin botanik olarak sınıflandırılmasında, döllenebilir olgunluğa geldiği aşamada gösterdikleri dölleme biyolojisi özellikleri önemli bir rol oynamaktadır. Birbirinden farklılık gösteren dölleme biyolojileri, kendine uyuşur ve kendine uyuşmaz olmak üzere iki grupta incelenmektedir (Foolad, 2007). Kendine uyuşur ve kendine uyuşmaz türler Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Farklı bölgelerde farklı iklimsel şartlarda yetişen, aynı türe ait biyotiplerde farklı dölleme biçimi görülebilmektedir. Örneğin, *Solanum hirsutum*’un hem kendine uyuşur hem de kendine uyuşmaz türleri bulunmaktadır. Yabancı türlerde yabancı döllemenin ölçüsü ile stigmanın anter konisinin dışında olması arasında oldukça yüksek bir ilişki olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda türlerin kendine uyuşma durumlarının, bazı genlerin kontrolünde olduğu anlaşılmıştır (Peralta ve Spooner, 2005).

Çizelge 2.1. *Solanum* türlerinin dölllenme özelliklerine göre ayrımları (Foolad, 2007)

<b>Kendine uyşur türler</b>	<b>Kendine uyşmaz türler</b>
<i>Solanum chimielewskii</i>	
<i>Solanum esculentum</i>	<i>Solanum hirsutum</i>
<i>Solanum pimpinellifolium</i>	<i>Solanum peruvianum</i>
<i>Solanum hirsutum</i>	<i>Solanum pennellii</i>
<i>Solanum pennellii</i>	<i>Solanum chilense</i>
<i>Solanum cheesmanii</i>	
<i>Solanum parviflorum</i>	

### 2.3. Domatesin Kimyasal Bileşimi ve Botanik Özellikleri

Domates, içerdiği şeker miktarının düşük olmasından dolayı tüketim alışkanlıklarında diğer meyveler gibi kabul görmez, fakat kabul görmemesi domatesin botanik olarak meyve olduğu gerçeğini değiştirmez. Botanik olarak meyve olup da sebze olarak tüketilen tek bitki domates değildir. Patlıcan, hıyar ve kabak da bu guruba dahildirler (Saydam, 2011).

Domates bitkisi taze veya kurutulmuş olarak tüketilmesinin yanı sıra salça, konserve, ketçap, domates suyu, turşu şeklinde de tüketilebilmektedir. Domates, likopen, karoten ve C vitamini kaynağıdır (Bramley, 2000; Offord, 1998). İçeriğindeki likopen maddesi sayesinde meyveleri başlangıçta yeşil iken daha sonra rengi kırmızıya dönüşmektedir. Günümüz beslenmesinde antioksidan içeren bitkiler önemli bir yer almaktadır. Domatesin içeriğinde antioksidan seviyesi yüksek bileşenler bulunmaktadır. İçerdiği antioksidanlarının insanlarda kalp hastalıklarını önlemesi ve kanser riskini azaltması gibi etkilerinden dolayı araştırmacıların dikkatini çekmektedir (Çapanoğlu ve Boyacıoğlu, 2010). Domatesin kimyasal bileşimi detaylı olarak Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Domatesin kimyasal bileşimi (Sarıbay, 2004)

Bileşim Ögesi	Birim	Minimum-Maksimum	Ortalama
Kuru madde	%	4,80 – 6,60	5,80
Titrasyon asitliği	%	0,26 – 0,55	0,29
Sitrik asit	%	1,92– 4,74	3,33
Malik asit	%	0,60 – 2,08	0,95
İndirgen şeker	%	1,66 – 3,99	3,00
Glikoz	%	0,79 – 1,90	1,49
Früktoz	%	1,15 – 2,59	1,90
Protein	%	0,69 – 1,00	0,95
Ham selüloz	%	0,60 – 0,84	0,75
Ham yağ	%	0,20 – 0,30	0,21
Kül	%	0,51 – 0,70	0,64
Potasyum	mg/kg	1770 - 3400	2600
Fosfor	mg/kg	128 - 277	206
Magnezyum	mg/kg	68 - 124	97
Kalsiyum	mg/kg	28 - 68	46
Sodyum	mg/kg	12 - 21	14
Demir	mg/kg	3,50 – 9,50	5,60
Mangan	mg/kg	0,40 – 2,50	1,40
Çinko	mg/kg	0,00 – 1,40	0,70
Tiyamin	mg/kg	0,16 - 0.80	0,57
Riboflavin	mg/kg	0,20- 0.50	0,35
Pantotenik asit	mg/kg	2,80 - 3.40	3,10
B6 vitamini	mg/kg	0,74 - 1.50	1

### Kökler

Sera üretiminde domates kökleri 40-100 cm derinliğe ve 40-60 cm yanlara doğru yayılmaktadır. Açıkta yapılan yetiştiricilikte köklerin toprakta dağılımı daha fazla olabilmektedir. Köklerin %72 gibi büyük bir çoğunluğu toprağın 0-20 cm derinliğinde bulunmaktadır (Aybak ve Kaygısız, 2007).



Şekil 2.1. Domates kökleri (Anonim, 2011)

### Yapraklar

Domates bitkisinin büyük bir çoğunluğu bileşik yapraklıdır. Gövde üzerindeki yapraklar aralıklı olarak sağda ve solda dizili şekilde ise bunlara düzenli yaprak (regular leaf -RL) denir. Bazı çeşitler ise basit yaprağa sahiptir ve bunlara patates yaprak (patato leaf - PL) denilir (Şekil 2.2). Tüm bileşik yaprak gövdeye sap ile bağlı iken, yaprakçıklar petiol ile yaprak sapına bağlanırlar (Aybak ve Kaygısız, 2007).



Şekil 2.2. Domates yaprağı (Anonim, 2013)

### Gövde

Domatesin otsu yapıdaki gövdesi başlangıçta yuvarlak, yumuşak ve tüylüdür. İlerleyen dönemlerde yuvarlaklık köşeliliğe, yumuşaklık sertliğe dönüşmektedir. Domateslerde gövdenin üzeri domatese tipik kokusunu veren trichome denilen

tüylerle kaplıdır (Şekil 2.3). Bu tüyler dokunulduğunda ele yeşil renk verir (Davis, 1978).



Şekil 2.3. Domates bitkisinin yüzeyindeki ‘glandular trichome’ (Anonim, 2011)

### Çiçekler

Domates bitkisinde çiçekler basit veya bileşik salkım şeklindedir. İlk olgunlaşan ve açan çiçekler daima gövdeye en yakın olan çiçeklerdir. İlk salkımın gövde üzerinde meydana geldiği boğum aralığı da çeşitlere göre değişir. Domates biyolojik olarak kendine döllen bir bitkidir. Domateslerde çok ender olsa da kısırlık görülebilir (Aybak ve Kaygısız, 2007).



Şekil 2.4. Domates çiçeği (Anonim, 2017)

Çizelge 2.3. Domatesin fizyolojik dönemleri (Jones, 2007)

Aşama	Gelişme Dönemi	Süreç (gün)
0	Çimlenme	25-35
1	Yapraklanma	20-25
2	Vejetasyon	20-30
3	Çiçeklenme	20-30
4	Meyve tutum	15-20
Toplam	Meyve olum - hasat	100-140

#### 2.4. Domatesin Sağlık Üzerine Etkisi

Domates bitkisinin kanser, kan dolaşımı, kalp sorunları gibi hastalıkları önlenmesinde etkisinin olduğu yapılan birçok araştırma sonucunda belirlenmiştir. Domates önemli derecede likopen ve karotenoid içerdiğinden dolayı sağlık üzerine olumlu etkisinin olduğu belirtilmektedir (Abushita vd, 2000). İçeriğindeki yüksek likopen miktarı, kanser riskini azaltmak için insanlarda serbest radikallere karşı bir radikal uzaklaştırıcı olarak rol oynamaktadır (Muratore vd, 2008). Ayrıca, likopen ve karotenoidler dışında içerdiği askorbik asit, flavonoidler ve E vitamini gibi antioksidan bileşiklerden dolayı da sağlık üzerine koruyucu etkisinin olduğu ifade edilmektedir (Willcox vd, 2003).

Yapılan çalışmalarda domates ve domates ürünleri tüketiminin bazı kronik hastalıkların (Rao vd, 1998) ve bazı kanserlerin oluşum riskini azalttığı (Balestrieri vd, 2004), alkol tüketimine bağlı karaciğer hasarını önlediği (Tapiero vd, 2004) saptanmıştır.

#### 2.5. Domatesin Ekolojik İstekleri

Domates bitkisi toprak isteği bakımından seçici değildir ve besin içeriğince zengin hemen her toprakta yetişebilir. Domates bitkisinin yetiştiği toprağın pH değeri 5.5-7.0 değerleri arasında, tuzsuz – az tuzlu toprak olduğunda bitki iyi yetişir. Bitki

gelişimi ve veriminin artması için su tutma kapasitesinin yüksek olduğu topraklar tercih edilmelidir (Güneysu, 2004).

Domates, sıcak ve ılıman iklim bitkisidir ve en verimli gelişimi 15-28°C sıcaklık aralığındadır. Gece ve gündüz sıcaklıkları arasında çok fazla fark olması istenmez, 6 ila 8°C'lik bir fark idealdir. 30°C'den yüksek sıcaklıklarda domates bitkisi gelişimini sürdürür, fakat yüksek sıcaklık polen çimlenmesini olumsuz yönde etkiler. Bundan dolayı polen tüpü oluşumu gerçekleşse de yeterli düzeyde uzayamaz ve dölllenme oluşmaz. Dölllenme olmamasının sonucunda da çiçek dökülmesi gerçekleşir (Güneysu, 2004).

Domates bitkisinin kök çevresi düzenli su aldığı durumlarda bitkinin gelişimi ve verimi olumlu yönde etkilenir. Fakat aşırı sıcak ve nemli ortamlarda bitkide çeşitli hastalıklar meydana gelmektedir. Yüksek nem bitki büyüme döneminde olumlu etki yaparken, meyve olgunlaşması döneminde olumsuz etki yapmaktadır (Akpınar, 2014).

## **2.6. Dünyada ve Ülkemizde Domates Üretimi**

Domates, dünyada kültür bitkileri içerisinde en çok üretimi yapılan bitkilerin başında gelmektedir. Domatesin taze, kurutulmuş, salçalık, konservelik, turşuluk, ketçap yapımı gibi birçok şekilde kullanımları mevcuttur. Domates tarımı besin içeriğinin zenginliği ve kullanım alanlarının çokluğu sebebiyle her geçen gün artmakta ve değerlendirilmektedir (Offord,1998).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nün 2014 yılı verilerine göre; Dünyada toplam 4,6 milyon hektar alanda domates ekimi yapılmaktadır. Domates üretiminde dünyada önde gelen ülkeler sırasıyla; Çin Halk Cumhuriyeti (50,5 milyon ton), Hindistan (18,2 milyon ton), Amerika Birleşik Devletleri (12,5 milyon ton), Türkiye (11,8 milyon ton) ve Mısır (8,5 milyon ton)'dır. Dünyada 52,4 milyon hektar alanda yaş sebze üretimi yapılmıştır. Söz konusu alanda yetiştirilen toplam yaş sebze yaklaşık 995 milyon ton olup, domates yaklaşık 163,4 milyon tonluk üretimi ile dünyada en çok yetiştirilen yaş sebze ürünüdür. Domates bitkisini, sırasıyla, kuru soğan (84,7 milyon ton), lahanası (71,4 milyon ton), hıyar ve kornişon (71,3 milyon ton) bitkileri takip etmektedir (Çizelge 2.4).

Çizelge 2.4. Dünya yaş sebze üretiminde ilk 10 ürün (Anonim, 2014)

Sıra	Ürün Adı	2012	2013	Değişim (%)
1	Domates	160.797.627	164.434.039	%1,6
2	Kuru soğan	81.462.299	84.758.190	%4
3	Lahana	70.281.933	71.434.080	%1,6
4	Hıyar ve Kornişon	69.266.371	71.333.414	%3
5	Patlıcan	47.643.440	49.339.734	%3,6
6	Havuç ve Şalgam	36.931.325	37.209.469	%0,8
7	Biber	30.792.661	31.116.944	%1,1
8	Marul ve hindiba	25.545.999	24.896.115	%-2,5
9	Kabak	24.613.911	24.609.860	%0,0
10	Sarımsak	23.399.561	24.195.662	%3,4
11	Diğerleri	405.480.566	411.944.895	%1,6
	<b>Genel Toplam</b>	<b>976.215.693</b>	<b>994.272.402</b>	<b>%1,8</b>

Domates veriminin en yüksek olduğu ülke ise Belçika'dır. Çin Halk Cumhuriyeti dünya üretiminin yaklaşık üçte birini tek başına gerçekleştirmekte olup, ülkemizin küresel domates üretiminden aldığı pay %7,2 seviyesindedir. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre 2015 yılında ülkemizde yaş sebze ürünleri üretim miktarı bir önceki yıla göre %4 oranında artarak 23,9 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Sebze grubunun önemli ürünlerinden domates üretimi %6,5 oranında artarak 12,6 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 2.5).

Çizelge 2.5. Ülkemizde ürün bazında yaş sebze üretim verileri (Anonim, 2017b)

Sıra	Sebze	Üretim (ton)
1	Domates	12.615.000
2	Biber (salçalık, dolmalık, sivri)	2.307.456
3	Soğan (kuru)	1.879.189
4	Hıyar	1.822.636
5	Patlıcan	805.259
6	Lahana	766.675
7	Fasulye	640.836
8	Havuç	534.988
9	Kabak (sakız, çerezlik) ve Balkabağı	449.898
10	Marul	447.492
11	Diğerleri	1.644.583
	<b>Genel Toplam</b>	<b>23.914.012</b>

Çizelge 2.6. Ülkemizde örtü altı domates üretimi yıllara göre dağılımı (Anonim, 2017b)

Yıl	Üretim (ton)	Yıl	Üretim (ton)
2001	1.417.667	2009	2.657.461
2002	1.632.175	2010	2.852.863
2003	1.940.494	2011	3.092.083
2004	1.960.185	2012	3.096.349
2005	2.023.888	2013	3.200.930
2006	2.067.738	2014	3.285.570
2007	2.451.062	2015	3.394.447
2008	2.382.731	2016	3.614.472

Çizelge 2.7. Ülkemizde yıllara göre domates üretimi (Anonim, 2017b)

Yıl	Üretim (ton)	Yıl	Üretim (ton)
2001	8.425.000	2009	10.745.572
2002	9.450.000	2010	10.052.000
2003	9.820.000	2011	11.003.433
2004	9.440.000	2012	11.350.000
2005	10.050.000	2013	11.820.000
2006	9.854.877	2014	11.850.000
2007	9.936.552	2015	12.615.000
2008	10.985.355	2016	12.600.000

### 3. BİTKİ DOKU KÜLTÜRÜ

Bitkilerin, beslenme maksadıyla geliştirilmesi çalışmalarında iki önemli dönem vardır. İlk dönem Yeşil Devrim olarak isimlendirilmektedir. Bu dönemin içinde klasik bitki ıslahı, ticari gübreler ve diğer agronomik tekniklerin gelişimi bulunmaktadır. Yeşil devrimde üretim, 'tohum-bitki-tohum' döngüsünde gerçekleştirilir. İkinci dönem ise Gen Devrimi olarak isimlendirilmektedir (Kung, 1993). DNA'nın yapısının anlaşılması, bakteri genetiği, bitki doku kültürünün gelişimi ve bu tekniklerin birçok bitkiye uygulanabilir olması gen devrimi dönemini başlatmıştır. Gen devrimi ile yeşil devrim karşılaştırıldığında, gen devriminde hedefe ulaşma bakımından bir tümevarım söz konusudur. Yani, 'baz- nükleotid- gen- kromozom', 'ribozom- aminoasit- protein- kloroplast- mitokondri', 'hücre- doku- organ- bitki' ve tohum zincirinin her parçası amaca ulaşmada ayrı ayrı veya birlikte değerlendirilerek üzerinde değişiklikler yapılabilmektedir. Bunlar arasında hücreye kadar olan konular genellikle bitki genetik mühendisliğinin, hücre-tohum arasındaki konular ise bitki doku kültürünün alanlarıdır. Bitki doku kültürü, bitki genetik mühendisliği ile birlikte bitki biyoteknolojisini oluşturan ana unsurlardan biridir (Babaoğlu vd, 2001).

Bitki doku kültürü; bitkinin hücre, doku ve organlarının kontrollü koşullarda, aseptik şartlar altında, sentetik besi ortamında kültüre alınarak yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin üretilmesidir (Babaoğlu vd, 2001). Yapay besi ortamına alınan, çoğunlukla küçük parçalar halinde, kimi zaman hücreler halinde olan bitkilerin tüm bitkiyi meydana getirme yeteneği totipotensiden kaynaklanmaktadır. Totipotent hücre, yeni bir bitki oluşturabilecek yeteneğe sahip olan hücreye verilen isimdir. Totipotensi doku kültürünün temel dayanağıdır. Bazı bitkilerde bir organın izole edilmesi veya çelik alınması totipotent hücrelerin aktif hale geçmelerini sağlar iken, bazı bitkilerde ise totipotent hücrelerin aktifleşmesi için birtakım hormonal uyarıcıların kültür ortamına ilave edilmesi gerekmektedir (Gönülşen, 1987).

Doku kültüründe yaşanan gelişmeler, bitkilerde fizyoloji, biyokimya, genetik ve moleküler biyoloji gibi konularda karşılaşılan problemlerin çözümünde yardımcı olmaktadır (Kocaçalışkan, 2002).

### 3.1. Bitki Doku Kültürünün Tarihçesi

Doku kültürü çalışmalarının, 1902 yılında başladığı ilk zamanlardan itibaren devam eden yıllarda olgun embriyoların kültüre alınması, oksinin tanımlanması, kök ve sürgün uçlarının laboratuvarında çoğaltımı, ilk kallus kültürlerinin başlatılması gibi gelişmeler ard arda gözlenmiştir. Bu gelişmeler 1995 yılına gelindiğinde insanlar için ilk rekombinant gıdanın üretimine kadar ilerlemiştir. Son 20 yıl boyunca *in vitro* kültür teknikleri yoğun bir şekilde gelişerek 1000'den fazla farklı türe uygulanmıştır (Bigot, 1987).

Çizelge 3.1. Bitki doku kültüründe bazı önemli çalışmalar (Babaoğlu vd, 2001).

Tarih	Çalışmalar	Araştırmacılar
1902	İlk izole edilmiş hücrelerin kültürü	Haberlandt
1904	Olgun embriyoların kültürü	Hanning
1917	Biyoteknoloji teriminin ilk kullanımı	Karl Ereky
1920	Oksinin tanımlanması	Went ve ark.
1924	İlk embriyo kurtarma tekniği (mısır)	Dieterich
1934	İlk sürekli kök kültürleri (domates)	White
1934	İlk kallus kültürleri	Gautheret
1953	DNA'nın yapısının belirlenmesi	Watson ve Crick
1954	Hücre süspansiyonlarından ilk bitki eldesi	Muir ve ark.
1958	İlk somatik embriyogenesis (havuç)	Steward ve ark.
1962	MS besin ortamının geliştirilmesi	Murashige ve Skoog
1965	Tek hücreden bitki rejenerasyonu	Vasil ve Hilderbrandt
1967	İlk haploid bitki üretimi	Bourgin ve Nitsch
1968	B5 ortamının geliştirilmesi	Gamborg ve ark.
1971	Protoplastlardan ilk bitki rejenerasyonu	Nagata ve Takabe
1983	Transgenik ilk bitkinin elde edilmesi (tütün)	Murai ve ark.
1995	İlk rekombinant insan gıdası	Flavr Savr, domates
1997	<i>E.coli</i> genom dizilemesi	Blattner ve ark.
2001	İnsan genom dizilemesi	Vetner ve ark.
2005	Çeltik genom dizilemesi	Uluslararası çeltik genom dizileme projesi

### 3.2. Bitki Doku Kùltürünün Avantaj ve Dezavantajları

Doku kùltürünün avantajları;

- Yüksek çoğaltım sonucunda kısa sürede çok sayıda bitkicik elde edilebilmektedir.
- *In vitro* çoğaltım mevsime bağılı olmadan sürekli uygulanabilmektedir.
- *In vitro* üretilen bitkiler mikroorganizmalardan bağımsız oldukları için, mikroorganizma kaynaklı hastalıklara yakalanma ihtimalleri çok düşük olmaktadır.
- Genotiplerin bitki virüslerinden korunabilmeleri mümkündür (Arora, 2010).
- Bitkilere sıvı nitrojen (-196°C) içerisinde kriyoprezervasyon işlemi uygulanarak, sınırsız bir zaman dilimi için bitkiler muhafaza edilebilmektedir (Callow, 1997).
- Doku kùltüründe çoğaltılan bitkiler daha kontrollü bir fiziksel ve kimyasal çevreye sahip olduklarından dolayı, büyüme ve gelişmenin istenilen herhangi bir safhası rahatlıkla gözlemlenebilir ve üzerinde çalışılabilir (Neumann vd, 2009).

Doku kùltürünün dezavantajları;

- *In vitro* yöntem ile düzenli olarak büyük miktarlarda bitki materyali üretimi olduğundan dolayı bu durum *in vitro* koleksiyonların yönetimi için sorun yaratmaktadır.
- Kontaminasyon veya insan hatası sebebiyle materyal yitirme riski her alt kùltürde mevcut olmaktadır.
- Kùltürlerde zamanla somaklonal varyasyon artışı sonucu bitki materyalinin genetik bütünlüğünü kaybetme riski vardır (Scowcroft, 1984).

### **3.3. Bitki Doku Kültürü Teknikleri**

Bitki doku kültürü teknolojisi 5 sınıfa ayrılmaktadır (Harisha, 2007);

1. Kallus kültürü
2. Hücre süspansiyon kültürü
3. Protoplast kültürü
4. Embriyo kültürü
5. Meristem kültürü

#### **3.3.1. Kallus kültürü**

Kallus kültürü, katı ortam üzerinde istenilen dokunun farklılaşmamış parankima hücrelerinin uyarılması ve çoğaltılması ile ilgili bir tekniktir. Kallus, bitkinin herhangi bir yerinde oluşan yaraya karşı verdiği *in vitro* tepkidir. Kallus oluşumu, besin ortamına ilave edilen endojen oksin ve sitokin ile sağlanır (Brown, 1990). Bitki büyüme hormonları kullanılarak kallus sürekli olarak çoğaltılabilir. Sonrasında isteğe bağlı olarak organ veya somatik embriyo oluşumuna yönlendirilebilir. Ancak kallus organ oluşturmaya bir kez başlarsa, devamında kallus oluşumu durur. Dolayısıyla kallus kültürleri, organogenez veya embriyogenez için yeni bir besi yerine transfer edilebilir veya kültür ortamında sürekli olarak kallus formunda kalması sağlanabilir (Stewart, 2008).

#### **3.3.2. Hücre süspansiyon kültürü**

Hücre süspansiyon kültürlerinin çoğunluğu, mekanik etkiyle çalkalanan sıvı besiyeri içerisinde bulunan kallus kültürlerinden oluşmaktadır. Kallus kültüründe, hücreler birbirlerine plasmodesmata ile bağlantıdadır, hücre süspansiyonunda ise tüm hücreler izole edilmektedir. Sıvı besiyerinde bulunan kallus kültürleri sürekli olarak çalkalanır. Çalkalamanın verdiği mekanik etki sonucunda genellikle 10-14 gün sonunda, ekplantın dış yüzeyinden hücreler kopar. Kopan hücrelerin, süspansiyon kültürleri gelişmeye başlar (Neumann, 2009). Somatik embriyolar genellikle hücre süspansiyon kültürlerinden elde edilmektedir (Augustine ve D'Souza, 1997).

### **3.3.3. Protoplast kültürü**

Protoplastlar, hücre duvarı hariç bitki hücrelerinin bütün unsurlarını içermektedirler. Protoplastları kullanarak tek bir hücreden tam bir bitki rejenerasyon etmek mümkündür. Protoplastlar mekanik parçalanma veya enzimatik çözünme ile kendilerini çevreleyen hücre duvarından uzaklaştırılabilir. Protoplastlar için eksplant kaynağı olarak genellikle fidelerden elde edilen genç yapraklar kullanılmaktadır. Protoplastlar sıvı veya katı besiyerinde kültüre alınır. Protoplastlar aljinat matrisine gömüldükten sonra katı besiyeri üzerinde kültüre alındığında daha yüksek oranda rejenerasyon elde edilir. Aljinat, protoplast kültürünün kritik olan ilk birkaç gününde mekanik strese ve çevresel şartlardaki değişime karşı hücreyi koruma sağlar (Stewart, 2008).

### **3.3.4. Embriyo Kültürü**

Embriyo kültürü, olgunlaşmamış ovül veya tohumlardan izole edilen embriyoların *in vitro* koşullarda kültüre alınmasıdır. Bu teknik tohumların dormant, inatçı veya gelişmenin erken aşamasında yok olan türlerde direkt rejenerasyon için çok kullanışlı bir yöntem olarak uygulanmaktadır. Embriyo kültürü, çimlenme yeteneği olmayan tohumlar oluşturan türler arası melezlerden, hibrit elde edilmesine de imkan sağlamaktadır (Stewart, 2008).

### **3.3.5. Meristem Kültürü**

Doku kültürü, bitkilerin çoğaltımı için kullanılan bir yöntem olmasının yanı sıra, hastalıklardan arı bitkilerin üretimi için de önemli bir araçtır. Apikal meristem uçlarını kullanarak hastaliksız bitkilerin üretimi mümkündür. Bakteri veya fungustan arı bitkilerin üretiminin mümkün olmasına rağmen, meristem kültürü daha çok virüslerin eliminasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (Kantha ve Gamborg, 1975; Brown vd, 1988; Ayabe ve Sumi, 2001).

### 3.4. Bitki Doku Kùltürü Aşamaları

Doku kùltürü işlemleri 5 aşamadan oluşmaktadır (Babaoğlu vd, 2001):

- Aşama 1: Hazırlık  
Bu aşamada kullanılacak bitki parçası yani eksplant ve besin ortamı seçilir, hazırlanır ve sterilizasyon işlemi yapılır.
- Aşama 2: Kùltür başlangıcı  
Kallus ve hücre süspansiyonları oluşturulur.
- Aşama 3: Sürgün çoğaltım aşaması  
Kallus veya hücre süspansiyonlarından bitki rejenerasyonu uyarılarak sürgün gelişimi teşvik edilir.
- Aşama 4: Sürgün gelişimi ve köklendirme  
Oluşan sürgünler çoğaltılır, boyları uzatılır ve yeterli düzeyde büyüyen sürgünler köklendirilir.
- Aşama 5: Dış ortama alıştıırma  
Köklenen bitkiler kontrollü bir şekilde dış ortama alıştıırılır.

### 3.5. Bitki Doku Kùltüründe Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bitki doku kùltüründe, besin ortamının içeriğinde bulunan kimyasal maddeler, sterilizasyonda, pH ayarlanmasında, vitamin veya bitki büyüme düzenleyicisi stok solüsyonlarının hazırlanmasında kullanılan kimyasallar bulunmaktadır. Besiyerini oluşturan bileşenler;

- Makro elementler; N, P, K, Cl, Mg, Na, Ca, S
- Mikro elementler; Fe, Mn, Zn, Cu, B, Mo, Co, I
- Şeker; sükroz, glikoz, maltoz, rafinoz, fruktoz
- Bitki büyüme düzenleyicileri
- Vitaminler; B1, B2, B3, B5, B6, H, C, E, M, A, D3
- Katılaştırıcı ajanlar; agar, agaroz, aljinat, phytigel, jelatin
- Amino asitler veya diğer nitrojen sağlayıcıları; glisin, arginin, glutamin, prolin aspartik asit
- Kimyasal olarak tanımlanamayan maddeler; hindistan cevizi sütü, maya özü
- Tamponlar (Nadiren kullanılırlar) (Dixon, 1987; Babaoğlu vd, 2001)

### 3.6. Besi Ortamları

Birçok araştırmacı tarafından çeşitli besiyeri ortamı geliştirilmiştir. Geliştirilen besiyerlerinden en çok kullanılanı 1962 yılında Murashige ve Skoog'un geliştirdikleri MS besiyeridir (Murashige ve Skoog, 1962). MS besiyeri ilk defa tütün bitkisi için geliştirilmiştir ve yüksek tuz içermektedir. 1968 yılında, Gamborg ve arkadaşları tarafından B5 besiyeri geliştirilmiştir (Gamborg, 1968). B5 besiyeri soya kallus kültürleri için geliştirilmiştir. 1965 yılında, Linsmaier ve Skoog tarafından LS besiyeri geliştirilmiştir (Linsmaier ve Skoog, 1965). 1963 yılında, White WH besiyerini geliştirmiştir (White, 1963). WH besiyeri domates bitkisinin köklendirilmesi için geliştirilmiştir ve düşük tuz içermektedir. 1972 yılında, Schenk ve Hildebrandt tarafından geliştirilen SH besiyeri ve Nitsch tarafından geliştirilen NN besiyeri de kullanılan ortamlar arasındadır (Babaoğlu vd, 2001).

Çizelge 3.2. Yaygın olarak kullanılan besin ortamları ve bileşenleri (Babaoğlu vd, 2001)

Besi Ortamlarının Kimyasal İçeriği						
Bileşenler	MS	B5	SH	LS	WH	NN
KNO <sub>3</sub>	1900	2500	2500	1900	80	950
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	-	-	1650	-	720
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	-	300	-	-	-
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	134	-	-	-	-
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370	250	400	370	720	185
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440	150	200	440	-	220
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	-	-	170	68	68
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	-	-	-	16,5	-
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	-	10	10	16,89	-	-
KI	0,83	0,75	1	0,83	0,75	-
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	3	5	6,2	1,5	10
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,6	2	1	10,58	3	10
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025	0,025	0,2	0,025	-	0,025
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,25	0,25	1	0,25	-	0,25
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,25	0,25	0,1	0,25	-	-
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27,8	27,8	15	27,85	-	27,8
Na <sub>2</sub> EDTA	37,3	37,3	20	-	-	37,3
Nikotik asit	0,5	1	5	-	-	5
Pridoksin-HCl	0,5	1	0,5	-	-	0,5
Thiamin-HCl	0,1	10	5	0,4	-	0,5
Folik asit	-	-	-	-	-	0,5
<i>myo</i> -inositol	100	100	1000	-	-	100
Sakkaroz	30.000	20.000	30.000	-	-	20.000
Glisin	2	-	-	-	-	2

### 3.7. Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Fonksiyonları

Bitki büyüme düzenleyicileri, bitki doku kültürü ortamlarının en önemli unsurudur. Bitki dokularının içinde doğal olarak oluşan bazı kimyasallar beslenmeden daha çok büyüme ve gelişme düzenleyici role sahiptirler. Bitki hormonları veya bitki büyüme düzenleyicileri olarak bilinen bu bileşikler genellikle çok düşük konsantrasyonlarda aktif olurlar (Machakova vd, 2008). Bitkinin kendi yapısındaki bileşikler “hormon” olarak adlandırılırken, bitki doku kültürü ortamlarına sonradan ilave edildiklerinde dışardan eklendiklerini belirtmek için “bitki büyüme düzenleyicileri” olarak isimlendirilirler (Cleland, 1999).

Bitki büyüme ve gelişmesinde kritik rol oynayan bitki büyüme düzenleyicileri oksinler, sitokininler, giberellinler, absisik asit ve etilen olmak üzere 5 gruba ayrılmaktadır.

#### Oksinler

Doku kültürüne ilave edilen oksinler hücre bölünmesini ve gelişimini uyarıcı etkiye sahiptirler. Oksinler, sürgün ve köklerin uçlarında üretilerek, yaprak, gövde ve köklerinin büyüyen hücrelerine yayılırlar. Somatik embriyo oluşumunu en fazla etkileyen bileşiklerdir. Oksinler, doku kültüründe tek başına kullanıldıklarında kallus oluşumunu uyarırlar ve elde edilen sürgünlerin köklendirilmesini sağlarlar (Anderson, 2011).

Geçmişte oksinlerin doğal olarak üretildiği düşünülmekteydi fakat günümüzde doğal olarak oluşan tek oksinin **IAA** (İndol-3-asetik asit) olduğu belirlenmiştir. Sentetik oksinler arasında **2,4-D** (2,4-diklorofenoksi asetik asit), **IBA** (indol-3-bütirik asit), **NAA** (naftalen asetik asit) ve **Picloram** (4-amino-3,5,6-trikloro pikolinik asit) bulunmaktadır (Bidlack ve Jansky, 2011).

#### Sitokininler

Bitki doku kültüründe en çok kullanılan sitokininler, adenin (aminopürin) türevleridir. Sitokininler, çoğunlukla kök uçlarında ve genç yapraklarda sentezlenirler. Hücre bölünmesi, dokuların farklılaşması, bitki rejenerasyonu,

yapraklarda yaşlanmanın geciktirilmesi ve sürgün çoğaltımında rol oynarlar. (Babaoğlu vd, 2001).

Doğal olarak bulunan sitokininler **Zeatin, 2IP** (6-dimetil aminopürin) (Staden ve diğ, 2008), sentetik olarak bulunan sitokininler ise **BAP** (6-benzilaminopürin), **Kn** (Kinetin) ve **TDZ** (Thidiazuron)'dir (Babaoğlu vd, 2001).

### Giberellinler

Bitki patojeni bir fungus olan *Gibberella fujikuroi*, bitkilerin aşırı uzun boylu olup devrilmelerine ve tohum üretememelerine sebep olmaktadır. 1926'da Japon bilim adamı Eiichi Kurozawa ve arkadaşları bu duruma sebep olan maddeyi fungustan izole ederek, **giberellin** olarak isimlendirmişlerdir (Heldt, 2005).

Giberellinler, çiçeklenmenin düzenlenmesi, dormansinin kırılması, meyve oluşumu ve büyümesi gibi olaylarda görev alırlar (Heldt, 2005). Kallus gelişimini, organogenesi ve adventif kök oluşumunu engeller, gövdenin uzamasını ve çiçeklenmeyi arttırlar (Babaoğlu vd, 2001). Bitkilerde teşhislerine göre numaralandırılmış olarak 100 den fazla giberellin bulunmaktadır. Fakat sadece birkaç tanesi bitki hormonu olarak görev almaktadır ve en önemlileri **GA<sub>1</sub>** ve **GA<sub>3</sub>**'tür (Katekar, 1999).

### Absisik asit

Absisik asit sentezi, su depolanmasının doğrudan gözlenebildiği yaprak ve kök gibi organlarda görülür (Heldt, 2005). Absisik asitin doku kültüründeki rolü henüz tam olarak anlaşılmamıştır, somatik embriyoların olgunlaştırılmasında kullanılmaktadır. Ayrıca yaprak/meyve dökümünde ve dormanside etkilidir, stomaların kapanmasını düzenler. Absisik asitin ışık duyarlılığı hassastır (Babaoğlu vd, 2001).

### Etilen

Etilen gaz halinde olan tek hormondur ve yüksek bitkilerin farklı organlarında oluşur. Dokular yoluyla taşınımı çok hızlı ve kolaydır. Etilen üretiminin uyarılmasında kuraklık, sel, soğuk, sıcak stresi, tuz, ozon, enfeksiyon ve mekanik yaralama gibi stres ve fizyolojik süreçler etkilidir (Vanková, 2011). Etilen meyve

olgunlaşmasını düzenler ve hem doğal hem de kuraklığa bağlı yaşlanma başlangıcını belirler. Abiyotik strese olduğu kadar biyotik strese de tepki ile ilişkili bir hormondur (Young vd, 2004).

### Brassinosteroidler (BR)

Yukarıda bahsedilen 5 farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin yanı sıra, son yıllarda araştırmacıların yaptıkları çalışmalar sonucunda, bitki büyüme düzenleyicilerinin altıncı grubu olarak brassinosteroidi de göz önüne almayı gerektiren kanıtlar ortaya konmuştur. Brassinosteroidler, ilk kez 1970 yılında Mitchell ve arkadaşları tarafından, *Brassica napus* bitkisinin polenlerinden elde edilmiştir. Keşfedilen hormon steroid yapıya uygun ilk bitki hormonu olarak tanımlanmıştır (Malikova vd, 2008; Slavikova vd, 2008). Doğada var olan ve tanımlanmış 60 tan fazla brassinostreoid bulunmaktadır (Haubrick ve Assmann, 2006). Doğada en çok bulunan ve çalışmalarda en fazla kullanılan brassinosteroidler; **BL** (brassinolit), **28-HomoBL** (28-homobrassinolit) ve **24-EpiBL** (24- epibrassinolit)'dir (Vardhini vd, 2008; Malikova vd, 2008; Slavikova vd, 2008). Bu zamana kadar toplam olarak 58 bitki türünden brassinosteroid izole edilmiştir. Bunlardan 65 adet BR ve 5 adet BR konjugatı tanımlanmıştır (Steigerova vd, 2012).

BR uygulaması;

- Tohum çimlenmesini artırır (Ashraf vd, 2010; Yang vd, 2011),
- Hücre duvarının esnekliğini arttırarak hücre uzamasına katkı sağlar (Sun vd, 2010),
- Kök uzamasını uyarır (Kartal vd, 2009; Yang vd, 2011),
- Nükleik asit ve protein miktarını artırır (Anuradha ve Rao, 2001; Arora vd, 2010).

Çizelge 3.3. Bitki doku kültüründe en çok kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri (Babaoğlu vd, 2001)

Adı	Kısa adı	Molekül ağırlığı	Erime durumu	Toz sak. sic. (°C)	Stok solüsyon sak.sic. (°C)	Etkili konst. aralığı
<b>Oksinler</b>						
İndol-3-asetik asit	IAA	175.2	EtOH	-0	-0	0.01-3
Naftalin asetik asit	NAA	186.2	NaOH	O.S	0 - 5	0.1-10
2,4-Diklorofenoksi asetik asit	2,4-D	221.0	EtOH	O.S	0 - 5	0.01-5
4-amino-3,5,6-trikloro pikolinik asit	Picloram	241.5	DMSO	O.S	0 - 5	0.01-10
<b>Sitokininler</b>						
6-Benzil amino pürin	BAP	225.3	NaOH	O.S	0 - 5	0.1-5
İzopentil adenin	2IP	203.2	NaOH	-0	-0	1.0-30
Kinetin	KN	215.2	NaOH	-0	-0	0.1-5
Thidiazuran	TDZ	220.2	DMSO, KOH	O.S	0-5	0.001-0.05
Zeatin	ZEA	219.25	NaOH	-0	-0	0.1-5
<b>Giberellin</b>	GA <sub>3</sub>	346.4	H <sub>2</sub> O	0-5	-0	0.05-5
<b>Absisik asit</b>	ABA	264	H <sub>2</sub> O	0-5	-0	0.1-5

Çizelge 3.4. Bitki büyüme düzenleyicilerinin gruplandırılması, fonksiyonu ve en yaygın kullanılanlar (Gaspar vd, 1996; Haberer ve Kieber, 2002)

BBD	Fonksiyonu	En yaygın kullanılanlar
Sitokininler	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Hücre bölünmesi, yeniden farklılaşma, rejenerasyon ve sürgün çoğaltımı</li> <li>- Çiçeklenmenin geciktirilmesi</li> <li>- Yaprak dökülmesinin engellenmesi</li> <li>- Sürgünlerde köklenme ve embriyogenezin engellenmesi</li> <li>- Çimlenmenin artırılması</li> <li>- Yaşlanmanın geciktirilmesi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-BAP (benzilaminopürin)</li> <li>- BA (benziladenin)</li> <li>- KIN (kinetin)</li> <li>- Adenin Sülfat</li> <li>- 2iP (izo pentil adenin)</li> <li>- TDZ (thidiazuron)</li> <li>- Zeatin</li> </ul>
Oksinler	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Köklenmenin teşvik edilmesi</li> <li>- Apikal dominans</li> <li>- Işığa yönelme</li> <li>- Yan sürgün gelişiminin baskılanması</li> <li>- Hücre gelişimi</li> <li>-Kallus oluşumunun uyarılması, hücre süspansiyonlarının eldesi ve somatik embriyo oluşumu</li> <li>- Kallus oluşumu, organogenez ve somatik embriyo oluşumu (sitokininlerle birlikte)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- IBA (indol butirik asit)</li> <li>- IAA (indol asetik asit)</li> <li>-2,4-D (2,4diklorofenoksi asetik asit)</li> <li>- NAA (naftalen asetik asit)</li> </ul>
Gibberellinler	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Meristemlerden bitki rejenerasyonunun uyarılması</li> <li>- Sürgün boyunun uzaması</li> <li>- Kallus gelişimini, organogenez ve adventif kök oluşumunun engellenmesi</li> <li>- Bitkilerde çiçeklenmenin artırılması</li> </ul>	GA3 (Gibberellik asit)
Absisik Asit	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Somatik embriyoların olgunlaşması</li> <li>- Yaprak ve meyve dökülmesi (absisyon),</li> <li>- Dormansi</li> <li>- Stomaların kapanması</li> </ul>	ABA (Absisik asit)
Etilen	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Meyve olgunlaşması, senesens ve yaprak absisyonunun teşvik edilmesi</li> <li>- Yüksek derişimlerde, mikrotübül ve mikrofibrillerin yerleşimlerini etkileyerek, hücre uzamasının azaltılıp, hücre genişlemesinin artırılması</li> <li>- <i>In vitro</i> kültürlerde, alt kültür sonrasında zamana bağlı olarak, büyüme ve organogenezin inhibe edilmesi</li> <li>- Kallus ve süspansiyon kültürlerinde büyümede, gövde ve kök uzaması, aksillar ve adventif tomurcuk oluşumu, embriyogenez</li> </ul>	

### 3.8. Bitki Doku Kültürüne Etki Eden Etmenler

Çizelge 3.5. Farklı çevre şartlarının çeşitli evrelerde kültürler üzerine etkileri  
(Babaoğlu vd, 2001)

Çevre şartları	Etkileri ( <i>in vitro</i> )	Etkileri ( <i>ex vitro</i> )
Sabit hava sıcaklığı	Karanlıkta yüksek solunum	Çevresel strese hassaslık
Düşük-yüksek sıcaklık	Yavaş-aşırı gelişme	Yavaş-aşırı gelişme
Düşük ışık yoğunluğu	Yaprak çıkışında azalma, kültürlerde beyazlaşma	Fotosentezin azalması, büyüme ve gelişmenin yavaşlaması
Düşük hava girişi-yüksek nem	Düşük transpirasyon oranı, stomalarda düzensizlik, köklenme ve besin alımında zorluklar, vitrifikasyon	Aşırı transpirasyon, su ve besin maddesi alım zorluğu
Ortamda düşük erimiş O <sub>2</sub>	Köklenmede zorluk, kültürlerde kahverengileşme, hücre ve dokuların ölümü	Kök çürümesi, yavaş gelişme
Ortamda yüksek inorganik iyon konsantrasyonu	Ortamda yüksek ozmotik basınç, yüksek etilen üretimi	Büyümede gerileme
Ortamda yüksek şeker konsantrasyonu	Vitrifikasyon ve bazı düzensizlikler, bakteriyel ve fungal kontaminasyon, bitki ölümü	-
BBD ve vitamin içeren ortamlar	Aşırı konsantrasyonlarda mutasyon ihtimali, somaklonal varyasyon	-
Uygun olmayan büyüme düzenleyicileri	Kallus gelişimi, köklenme ve büyüme bozuklukları	-
Yüksek konsantrasyonda agarla katılaştırılmış ortamlar	Düşük O <sub>2</sub> alımı, köklenmede bozukluk	-
Düşük CO <sub>2</sub> konsantrasyonu	Etilen biyosentezinin uyarılması	-

## **4. MATERYAL ve YÖNTEM**

### **4.1. Materyal**

#### **4.1.1. Bitki Materyali**

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada bitki materyali olarak, ticari olarak satın alınan *Lycopersicon lycopersicum* L. SC 2121 çeşidi kullanılmıştır.

#### **4.1.2. Besin Ortamı**

Doku kültürü çalışmalarında besiyeri olarak MS (Murashige ve Skoog, 1962) besiyeri kullanılmıştır. Amaca yönelik olarak; tohum çimlendirme, sürgün oluşumu ve köklendirme ortamı için farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicilerini içeren MS besiyeri hazırlanmıştır.

### **4.2. Yöntem**

#### **4.2.1. MS Besiyerinin hazırlanması**

1 litrelik cam şişeye 4.4 gr/L MS besiyeri ve 30 gr/L sükröz eklendikten sonra üzerine 800 ml distile su eklenmiştir. Hazırlanan karışım iyice çözündürülmüştür. MS besiyeri içeriği çizelge 4.1’de verilmiştir.

Katılaştırıcı ajan olarak kullanılan phytagel’den önce pH ayarlaması yapılmıştır. pH değeri önceki çalışmalar baz alınarak 5.8’e ayarlanmıştır. pH’ı ölçülen besiyeri istenilenden daha bazik ise 1M HCl, istenilenden daha asidik ise 1M NaOH çözeltisinden kontrollü bir şekilde damlatılarak pH 5.8’e ayarlanmıştır. pH ayarlaması yapılan besiyerine 2.8 gr/L phytagel eklenerek son hacim 1 litreye tamamlanmıştır.

Çizelge 4.1. MS besiyeri içeriği (Murashige ve Skoog, 1962)

Bileşenler	Besi ortamlarındaki konsantrasyon (mg/L)
KNO <sub>3</sub>	1900
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	22,3
KI	0,83
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,6
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,25
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,025
Glisin	2
Na <sub>2</sub> EDTA	37,3
Nikotinik asit	0,5
Sakkaroz	30000

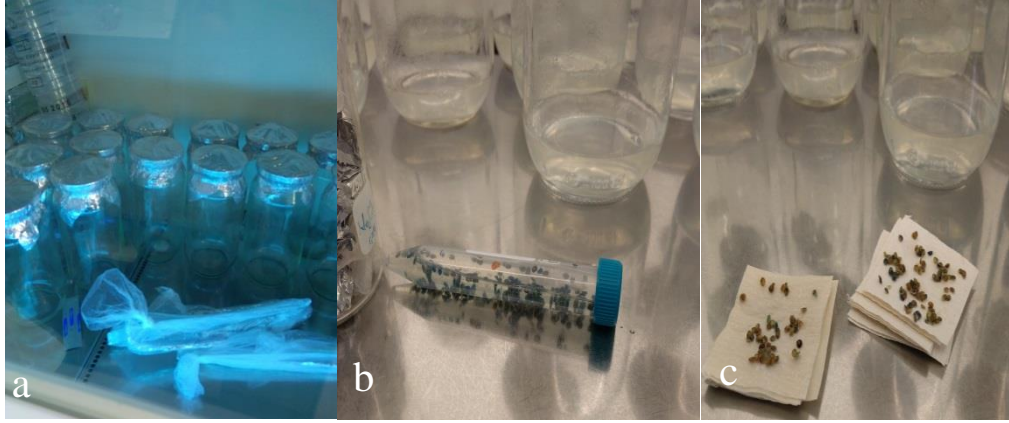
### 4.2.3. Sterilizasyon İşlemi

#### 4.2.3.1. Besiyeri ve kullanılacak ekipmanların sterilizasyonu

Cam şişede hazırlanan besiyerinin kapağı alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Çalışmalarda kullanılacak olan ekipmanlar (pens, bistüri, distile su, kurutma kağıdı, 15 ve 50 ml'lik falkon tüpler, kavanoz) alüminyum folyoya sarılarak otoklav poşetine konulmuştur. Hazırlanan malzemeler 121<sup>0</sup>C'de 1.1 atm basınçta 20 dakika otoklavlanmıştır.

#### 4.2.3.2. Çalışma ortamının sterilizasyonu

Doku kültürü çalışmalarında, çalışma ortamı olarak kullanılan steril kabin %70'lik alkol ile iyice silinmiştir. Çalışmamızda ihtiyacımıza yönelik otoklavdan çıkan steril ekipmanlar %70'lik alkol ile silinip kurulandıktan sonra steril kabin içerisine koyulmuşlardır. Hazırlanan steril kabin 15 dakika UV ışık altında steril edilmiştir.



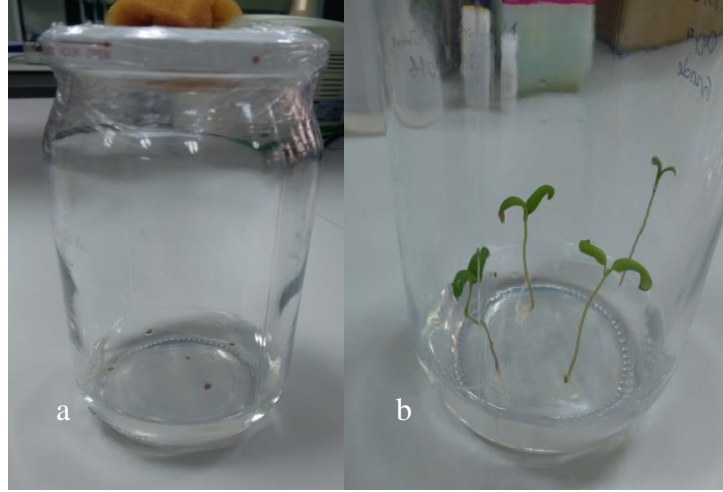
Şekil 4.1. Sterilizasyon aşaması **a**; UV ışık altında steril olan kabin ve aletler, **b**; %20'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde bekletilen domates tohumları, **c**; Sterilizasyon işleminden sonra kuruması için bekletilen tohumlar.

#### 4.2.4. Domates tohumlarının yüzey sterilizasyonu

Tohumların yüzey sterilizasyonu için, 15 ml'lik falkon tüp içerisinde tohumlar 30 saniye %70'lik etil alkolde çalkalanmıştır. Çalkalama işleminin ardından 2 defa steril distile sudan geçirilerek %20'lik sodyum hipoklorit (NaOCl)'te 20 dakika bekletilmiştir. 20 dakikanın sonunda tohumlar 5 defa steril distile sudan geçirilerek, kurutma kağıdının üzerine alınmıştır.

#### 4.2.5. Domates tohumlarının besi ortamına ekimi ve çimlendirilmesi

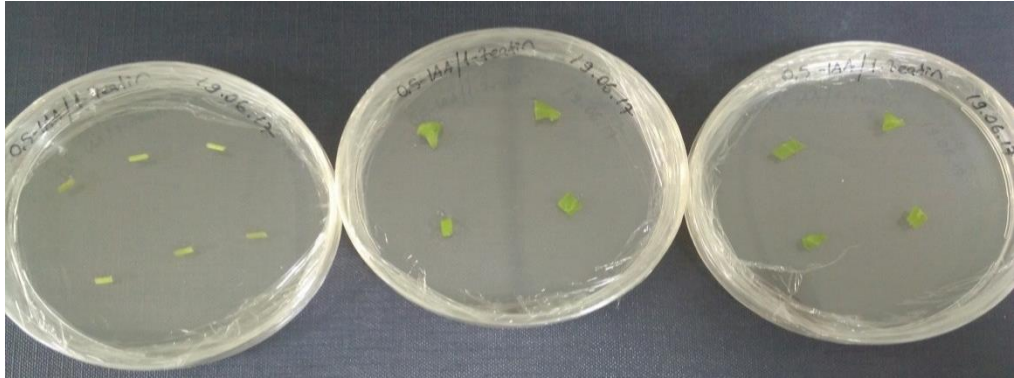
Hazırlanan MS besiyeri 1 litrelik kavanozlara 125 ml gelecek şekilde dökülmüş ve katılaşmaya bırakılmıştır. Katılaştıktan sonra, steril domates tohumları her bir kavanoza 6 adet tohum gelecek şekilde pens yardımıyla yerleştirilmiştir. Hazırlanan kavanozların ağzı streç film ile sarılarak, 10 gün boyunca 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyotta 26°C'de iklim dolabına çimlenmesi için kaldırılmıştır.



Şekil 4.2. Çimlendirme aşaması **a**; yüzey sterilizasyonundan sonra kavanoza ekilen domates tohumları **b**; 10 günlük domates fideleri

#### 4.2.6. Eksplantların Alınması

10 günlük çimlenme döneminin ardından büyüyen fidelerden steril kabin içerisinde eksplantlar alınmıştır. Farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicisi içeren MS besiyeri 1 gün öncesinde hazırlanarak petri kaplarına dökülmüştür. Her konsantrasyondan 3 tekrar hazırlanmıştır. Hazırlanan 2 petriye pens ve bistüri yardımıyla kesilen 4'er adet 5x5 mm boyutlarında kotiledon, 1 petriye 6 adet 5 mm boyutunda hipokotil yerleştirilmiştir (Şekil 4.3). Kullanılan pens ve bistüriler her eksplanttan sonra değiştirilmiş ve sterilizasyonu için boncuk sterilizatör kullanılmıştır. Hazırlanan petrilerin kapakları streç film ile sarılarak, 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyotta 26°C'de iklim dolabına sürgün oluşumu için kaldırılmıştır.



Şekil 4.3. Hazırlanan örnek bir set

#### 4.2.7. Farklı BBD konsantrasyonu içeren besiyerleri

Çizelge 4.2. Sürgün, kök ve kallus gelişimi için IAA'nın TDZ, Zeatin, BAP ve Kinetin BBD'leriyle farklı konsantrasyonlarda kombinasyonları

Sıra no	IAA mg/L	TDZ mg/L	ZEATİN mg/L	BAP mg/L	KİNETİN mg/L
1		0	0	0	0
2		0,5	0,5	0,5	0,5
3	0	1	1	1	1
4		2	2	2	2
5		3	3	3	3
6		0	0	0	0
7		0,5	0,5	0,5	0,5
8	0,5	1	1	1	1
9		2	2	2	2
10		3	3	3	3
11		0	0	0	0
12		0,5	0,5	0,5	0,5
13	1	1	1	1	1
14		2	2	2	2
15		3	3	3	3
16		0	0	0	0
17		0,5	0,5	0,5	0,5
18	2	1	1	1	1
19		2	2	2	2
20		3	3	3	3
21				0	0
22				0,5	0,5
23	3	-	-	1	1
24				2	2
25				3	3

Çizelge 4.3. Sürgün, kök ve kallus gelişimi için NAA'nın BAP ve Kinetin BBD'leriyle farklı konsantrasyonlarda kombinasyonları

Sıra no	NAA mg/L	BAP mg/L	KİNETİN mg/L
1		0	0
2		0,5	0,5
3	0	1	1
4		2	2
5		3	3
6		0	0
7		0,5	0,5
8	0,5	1	1
9		2	2
10		3	3
11		0	0
12		0,5	0,5
13	1	1	1
14		2	2
15		3	3
16		0	0
17		0,5	0,5
18	2	1	1
19		2	2
20		3	3
21		0	0
22		0,5	0,5
23	3	1	1
24		2	2
25		3	3

Çizelge 4.4. Sürgün, kök ve kallus gelişimi için 24-epibrassinolid bitki büyüme düzenleyicisinin farklı konsantrasyonlarda denemesi

Sıra no	24- EpiBL mg/L
1	5
2	10
3	15
4	20
5	25
6	30
7	100

Yapılan tüm denemelerde, kullanılan bütün bitki büyüme düzenleyicisi konsantrasyon ve kombinasyonları 3 tekrar olacak şekilde hazırlanmıştır.

#### **4.2.8. Sürgün oluşturan besi ortamlarının alt kültüre alınması**

Düzenli kontrolleri yapılan ortamlardan sürgün oluşturanlar 20 gün sonunda aynı BBD konsantrasyonunu içeren taze ortamlara aktarılmışlardır. Sürgün oluşturan eksplantlar pens yardımıyla yeni ortamlarına alınmıştır. Hazırlanan yeni petrilere streç film sarılarak, sürgünlerin gelişiminin devamı için tekrar 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyotta 26°C’de iklim dolabına kaldırılmıştır.

#### **4.2.9. Sürgünlerin köklendirme ortamına aktarımı**

Büyüyüp gelişen sürgünler kesilerek köklendirme ortamını içeren kavanozlara dikey olarak yerleştirilmiştir. Köklendirme ortamı olarak 1 litrelik cam kavanozlara 0,1 mg IAA içeren MS besiyeri hazırlanmıştır. Aynı konsantrasyondaki sürgünler farklı kavanozlara yerleştirilmiştir. Kavanozun üzerine ortam içeriği ve önceki BBD konsantrasyonu yazılmıştır. Hazırlanan kavanozların ağzı streç film ile sarılarak, köklenip rejener olmaları için 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyotta 26°C’de iklim dolabına kaldırılmıştır.

#### **4.2.10. Saksıya alım ve iklime alıştırma**

Köklendirme ortamında yeterince büyüyen domates bitkileri kontrollü ve dikkatli bir şekilde saksıya alınmıştır. Bu işlem için önceden gerekli olan saksı ve torf malzemeleri hazırlanmıştır. Kavanoz içerisinde çıkarılan domates bitkisinin kökleri akan çeşme suyu altında MS'den arındırılmıştır. Temizlenen bitki saksıya dikkatli bir şekilde dikilmiştir. 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyotta 26<sup>0</sup>C'de iklim odasına kaldırılmıştır.



## 5. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu zamana kadar, domates için birçok doku kültürü optimizasyon protokolü kurulmuştur. Fakat doku kültürü protokolü genotipe bağlı olarak değişmektedir. Bundan dolayı tüm çeşitler için geçerli bir protokol hazırlanması gerekmektedir. Bu sebeple, SC-2121 domates çeşidi için laboratuvarımızda doku kültürü optimizasyon protokolü hazırlanmıştır.

Domates bitkisinde, eksplant kaynağı olarak, en yaygın hipokotil ve kotiledon kullanılmaktadır. Eksplant türünün rejenerasyon frekansı üzerindeki etkisi, domateslerin genotiplerine bağlı olarak değişmektedir. Rejenerasyon frekansını ölçmek için eksplant kaynağı olarak hipokotil ve kotiledon kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki farklı BBD'lerin hipokotil ve kotiledonlarda gösterdiği rejenerasyon frekansı çizelgelerle aşağıda açıklanmıştır.

### 5.1. Farklı BBD Konsantrasyonlarının Sürgün Oluşumuna Etkisi

Çizelge 5.1. Farklı konsantrasyonlarda kullanılan IAA / Kinetin kombinasyonunun sürgün gelişiminde rejenerasyon frekansına etkisi

IAA (mg/L)	Kinetin (mg/L)	Rejenerasyon Frekansı (%)	
		Hipokotil	Kotiledon
0,5	0,5	30	41
0,5	1	33	46
0,5	2	45	52
0,5	3	78	82
1	0,5	25	53
1	1	19	53
1	2	10	48
1	3	5	45
2	0,5	0	11
2	1	0	17
2	2	6	11
2	3	0	11
3	0,5	0	11
3	1	6	11
3	2	0	6
3	3	0	6

Çizelge 5.1 IAA ve Kinetin kombinasyonlarının SC-2121 domates çeşidinde hipokotil ve kotiledonda sürgün oluşumu üzerindeki etkilerini göstermektedir. Kotiledon ve hipokotil, rejenerasyon frekansında maksimum yüzdelerine 0,5 mg/L IAA + 3 mg/L Kinetin içeren ortamda ulaşmışlardır (kotiledon %82, hipokotil %78). IAA'nın 2 ve 3 mg/L konsantrasyonunun Kinetin kombinasyonunda hipokotilde sürgün oluşumu gözlenmez iken; kotiledon RF yüzdesi ise 0,5 ve 1 mg/L konsantrasyonlarına göre oldukça düşük kalmıştır.

Çizelge 5.2. Farklı konsantrasyonlarda kullanılan IAA / BAP kombinasyonunun sürgün gelişiminde rejenerasyon frekansına etkisi

IAA (mg/L)	BAP (mg/L)	Rejenerasyon Frekansı (%)	
		Hipokotil	Kotiledon
0,5	0,5	49	65
0,5	1	37	56
0,5	2	70	47
0,5	3	51	36
1	0,5	28	28
1	1	31	45
1	2	38	45
1	3	45	50
2	0,5	20	22
2	1	16	16
2	2	9	12
2	3	5	5
3	0,5	0	0
3	1	0	0
3	2	0	0
3	3	0	0

Çizelge 5.2 IAA ve BAP kombinasyonlarının SC-2121 domates çeşidinde hipokotil ve kotiledonda sürgün oluşumu üzerindeki etkilerini göstermektedir. Kotiledon rejenerasyon frekansı 0.5 mg/L IAA + 0.5 mg/L BAP kombinasyonunda maksimum yüzdesine (%65) ulaşmıştır, bu kombinasyonda hipokotil RF'si %49 olmuştur. Hipokotil rejenerasyon frekansı ise maksimum yüzdesine %70 ile 0,5 mg/L IAA + 2 mg/L BAP kombinasyonunda ulaşmıştır, bu kombinasyonda kotiledon RF'si %47 olmuştur. IAA'nın 3 mg/L konsantrasyonu BAP ile birleştiğinde, hipokotil ve kotiledonda sürgün oluşumu gözlenmemiştir.

Çizelge 5.3. Farklı konsantrasyonlarda kullanılan TDZ / IAA kombinasyonunun sürgün gelişiminde rejenerasyon frekansına etkisi

TDZ (mg/L)	IAA (mg/L)	Rejenerasyon Frekansı (%)	
		Hipokotil	Kotiledon
0,5	0,5	34	50
0,5	1	45	56
0,5	2	45	72
1	0,5	50	66
1	1	61	66
1	2	39	72
2	0,5	55	61
2	1	70	75
2	2	61	66

Çizelge 5.3 TDZ ve IAA kombinasyonlarının SC-2121 domates çeşidinde hipokotil ve kotiledonda sürgün oluşumu üzerindeki etkilerini göstermektedir. Hipokotil ve kotiledon RF maksimum yüzdelerine 2 mg/L TDZ + 1 mg/L IAA kombinasyonunda ulaşmışlardır (hipokotil; %70, kotiledon; %75). En düşük RF yüzdesi 0,5 mg/L TDZ + 0,5 mg/L IAA kombinasyonunda gözlemlenmiştir (hipokotil %34, kotiledon %50).

Çizelge 5.4. Farklı konsantrasyonlarda kullanılan Zeatin / IAA kombinasyonunun sürgün gelişiminde rejenerasyon frekansına etkisi

Zeatin (mg/L)	IAA (mg/L)	Rejenerasyon Frekansı (%)	
		Hipokotil	Kotiledon
0,5	0,5	66	80
0,5	1	39	61
0,5	2	50	78
1	0,5	39	74
1	1	28	72
1	2	55	72
2	0,5	33	60
2	1	61	77
2	2	50	66

Çizelge 5.4 Zeatin ve IAA kombinasyonlarının SC-2121 domates çeşidinde hipokotil ve kotiledonda sürgün oluşumu üzerindeki etkilerini göstermektedir. Hipokotil ve kotiledon RF maksimum yüzdelere 0,5 mg/L Zeatin + 1 mg/L IAA kombinasyonunda ulaşmışlardır (hipokotil; %66, kotiledon; %80). En düşük RF yüzdesi hipokotil için (%28) 1 mg/L Zeatin + 1 mg/L IAA kombinasyonunda gözlemlenmiştir. Bu kombinasyonda kotiledon RF'si %72 olmuştur. Kotiledon için en düşük RF yüzdesi (%60) 2 mg/L Zeatin + 0,5 mg/L IAA kombinasyonunda gözlemlenmiştir. Bu kombinasyonda hipokotil RF'si %33 olmuştur.

Çizelge 5.1 ve Çizelge 5.2'de verilen BBD konsantrasyon ve kombinleri NAA/BAP ve NAA/Kinetin için de denenmiştir fakat bu kombinasyonlar SC-2121 domates çeşidinde sürgün oluşumunda etkili olmamıştır.

Çizelge 5.5. BBD'lerin tekli konsantrasyonlarının sürgün gelişiminde rejenerasyon frekansına % etkisi

BBD Adı	BBD konst.	Rejenerasyon Frekansı (%)	
		Hipokotil	Kotiledon
IAA (mg/L)	0,5	0	0
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
NAA (mg/L)	0,5	0	0
	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
BAP (mg/L)	0,5	0	20
	1	0	24
	2	15	30
	3	15	30
KN (mg/L)	0,5	35	37
	1	41	23
	2	40	44
	3	48	50
TDZ (mg/L)	0,5	31	26
	1	33	52
	2	51	55
ZEA (mg/L)	0,5	30	35
	1	44	40
	2	37	35

Çizelge 5.5 BBD'lerin tekli konsantrasyonlarının hipokotil ve kotiledonda sürgün oluşumuna etkisini göstermektedir. Tekli konsantrasyon denemelerinde IAA ve NAA'nın sürgün oluşumuna etkisi olmadığı gözlemlenmiştir. BAP'ın 0,5 ve 1 mg/L konsantrasyonları hipokotilde sürgün oluşturmaz iken; kotiledonda %25 civarında sürgün oluşturmuştur. Tekli konsantrasyonda en yüksek RF yüzdesi hipokotilde %51, kotiledonda %55 oranıyla TDZ'nin 2 mg/L konsantrasyonu olduğu gözlemlenmiştir.

## 5.2. Farklı BBD Konsantrasyonlarının Kök Oluşumuna Etkisi

Çizelge 5.6. Farklı konsantrasyonlarda kullanılan IAA / BAP kombinasyonunun kök gelişimine etkisi

IAA (mg/L)	BAP (mg/L)	Kök Oluşumu (%)	
		Hipokotil	Kotiledon
0,5	0,5	33	33
0,5	1	28	33
0,5	2	16	12
0,5	3	0	0
1	0,5	0	6
1	1	22	28
1	2	0	0
1	3	0	0
2	0,5	28	38
2	1	22	0
2	2	0	0
2	3	0	0
3	0,5	11	22
3	1	0	0
3	2	0	22
3	3	0	0

Çizelge 5.6 IAA ve BAP kombinasyonlarının hipokotil ve kotiledonda kök gelişimi üzerindeki etkilerini göstermektedir. En yüksek kök oluşum yüzdesi hipokotil için (%33) 0,5 mg/L IAA + 0,5 mg/L BAP kombinasyonunda gözlemlenmiştir. Bu kombinasyonda kotiledon kök oluşum yüzdesi %33 olarak gözlemlenmiştir. Kotiledon için en yüksek kök oluşum yüzdesi ise 2 mg/L IAA + 0,5 mg/L BAP kombinasyonunda %38 olarak gözlemlenmiştir. Bu kombinasyonda hipokotil kök oluşum yüzdesi %28 olarak gözlemlenmiştir.

Çizelge 5.7. Farklı konsantrasyonlarda kullanılan IAA / Kinetin kombinasyonunun kök gelişimine etkisi

IAA (mg/L)	Kinetin(mg/L)	Kök Oluşumu (%)	
		Hipokotil	Kotiledon
0,5	0,5	88	88
0,5	1	88	88
0,5	2	50	50
0,5	3	44	33
1	0,5	55	83
1	1	38	61
1	2	44	28
1	3	44	28
2	0,5	94	94
2	1	61	50
2	2	55	48
2	3	66	88
3	0,5	44	83
3	1	72	77
3	2	44	66
3	3	38	22

Çizelge 5.7 IAA ve Kinetin kombinasyonlarının hipokotil ve kotiledonda kök gelişimi üzerindeki etkilerini göstermektedir. Hipokotil ve kotiledonda en yüksek kök oluşum yüzdesine %94 oranıyla 2 mg/L IAA + 0,5 mg/L Kinetin kombinasyonunda ulaşılmıştır. En düşük kök oluşum yüzdesi ise 3 mg/L IAA + 3 mg/L Kinetin kombinasyonunda gözlemlenmiştir (hipokotil %38, kotiledon %22)

Çizelge 5.8 NAA ve Kinetin kombinasyonlarının hipokotil ve kotiledonda kök gelişimi üzerindeki etkilerini göstermektedir. Hipokotil ve kotiledonda en yüksek kök oluşum yüzdesi %80 oranıyla 0,5 mg/L NAA + 0,5 mg/L Kinetin kombinasyonunda ulaşılmıştır. NAA'nın 1,2 ve 3 mg/L konsantrasyonunun Kinetin ile kombinasyonunda hipokotilde kök oluşumu gözlenmemiştir.

Çizelge 5.8. Farklı konsantrasyonlarda kullanılan NAA / Kinetin kombinasyonunun kök gelişimine etkisi

NAA (mg/L)	Kinetin(mg/L)	Kök Oluşumu (%)	
		Hipokotil	Kotiledon
0,5	0,5	80	80
0,5	1	61	78
0,5	2	61	77
0,5	3	55	61
1	0,5	0	55
1	1	0	33
1	2	0	33
1	3	0	28
2	0,5	0	11
2	1	0	16
2	2	0	6
2	3	0	16
3	0,5	0	6
3	1	0	16
3	2	0	11
3	3	0	11

Çizelge 5.6, 5.7 ve 5.8’de verilen BBD konsantrasyon ve kombinleri NAA/BAP, TDZ/IAA ve Zeatin/IAA içinde denenmiştir. Fakat bu kombinasyonlar, SC-2121 domates çeşidinde kök oluşumunda etkili olmamıştır.

Tekli BBD konsantrasyonlarında kök oluşumu sadece Kinetinin 0,5 ve 1 mg/L konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. 0,5 mg/L Kinetin konsantrasyonunda hipokotilde %52, kotiledonda %46; 1 mg/L Kinetin konsantrasyonunda ise hipokotilde %80, kotiledonda %73 kök oluşumu gözlemlenmiştir.

### 5.3. Farklı BBD Konsantrasyonlarının Kallus Oluşumuna Etkisi

Farklı konsantrasyonlarda denenilen IAA/BAP, IAA/Kinetin, NAA/Kinetin, TDZ/IAA ve Zeatin/IAA kombinasyonlarının etkisinde, SC-2121 domates çeşidinde hipokotil ve kotiledonda kallus oluşum yüzdesi %95-%100 arasında gözlemlenmiştir.

NAA/BAP kombinasyonunda NAA’nın 0,5 ve 1 mg/L konsantrasyonunun BAP ile kombinasyonunda hipokotil ve kotiledonda kallus oluşum yüzdesi %70-%85 arasında gözlemlenmiştir. Fakat NAA’nın 2 ve 3 mg/L konsantrasyonunun BAP ile kombinasyonunda hipokotilde kallus oluşumu gözlemlenmemiştir.

Farklı konsantrasyonlarda denenen 24-epiBL bitki büyüme düzenleyicisi SC-2121 domates çeşidinde sürgün ve kallus oluşumu sağlamamıştır. 24-epiBL'nin 10, 15, 20, 30 ve 100 mg/L konsantrasyonlarında kök oluşumu gözlemlenir iken; 15 mg/L konsantrasyonunda direkt organogenesis gözlemlenmiştir.

Çizelge 5. 9. BBD'lerin tekli konsantrasyonlarının kallus gelişimine etkisi

BBD Adı	BBD konst.	Kallus oluşumu (%)	
		Hipokotil	Kotiledon
IAA (mg/L)	0,5	70	75
	1	78	86
	2	75	79
	3	78	79
NAA (mg/L)	0,5	71	75
	1	75	75
	2	76	81
	3	78	81
BAP (mg/L)	0,5	72	78
	1	100	88
	2	83	100
	3	67	76
KN (mg/L)	0,5	100	92
	1	65	64
	2	94	95
	3	71	100
TDZ (mg/L)	0,5	100	100
	1	100	100
	2	100	100
ZEA (mg/L)	0,5	100	100
	1	100	100
	2	100	100

Çizelge 5.9 BBD'lerin tekli konsantrasyonlarında SC-2121 domates çeşidinin hipokotil ve kotiledonunda kallus oluşumuna etkilerini göstermektedir. IAA ve NAA'nın tekli konsantrasyonları kallus oluşumu üzerine etkili olmamıştır.

Yapılan optimizasyon çalışmasının sonucunda SC-2121 domates çeşidi için en uygun doku kültürü optimizasyon parametreleri elde edilmiştir. Bunun sonucunda kök ve sürgün oluşumu için en iyi BBD kombinasyonları bulunmuştur.

Sürgün oluşumu için en iyi BBD kombinasyonları;

- 0,5 mg/L IAA + 3 mg/L Kinetin (hipokotil %78, kotiledon %82)
- 2 mg/L TDZ + 1 mg/L IAA (hipokotil %70, kotiledon %75)
- 0,5 mg/L IAA + 2 mg/L BAP (hipokotil %70, kotiledon %47)
- 0,5 mg/L Zeatin + 1 mg/L IAA (hipokotil %66, kotiledon %80)
- 0,5 mg/L IAA + 0,5 mg/L BAP (hipokotil %49, kotiledon %65)

Kök oluşumu için en iyi BBD kombinasyonları;

- 2 mg/L IAA + 0,5 mg/L Kinetin (hipokotil ve kotiledon %94)
- 0,5 mg/L IAA + 0,5 mg/L Kinetin (hipokotil ve kotiledon %88)
- 0,5 mg/L IAA + 1 mg/L Kinetin (hipokotil ve kotiledon %88)
- 0,5 mg/L NAA + 1 mg/L Kinetin (hipokotil %61, kotiledon %88)
- 0,5 mg/L NAA + 0,5 mg/L Kinetin (hipokotil ve kotiledon %80)
- 0,5 mg/L NAA + 2 mg/L Kinetin (hipokotil %61, kotiledon %77)



Şekil 5.1. 0,5 mg/L IAA + 3 mg/L Kinetin sürgün oluşumu



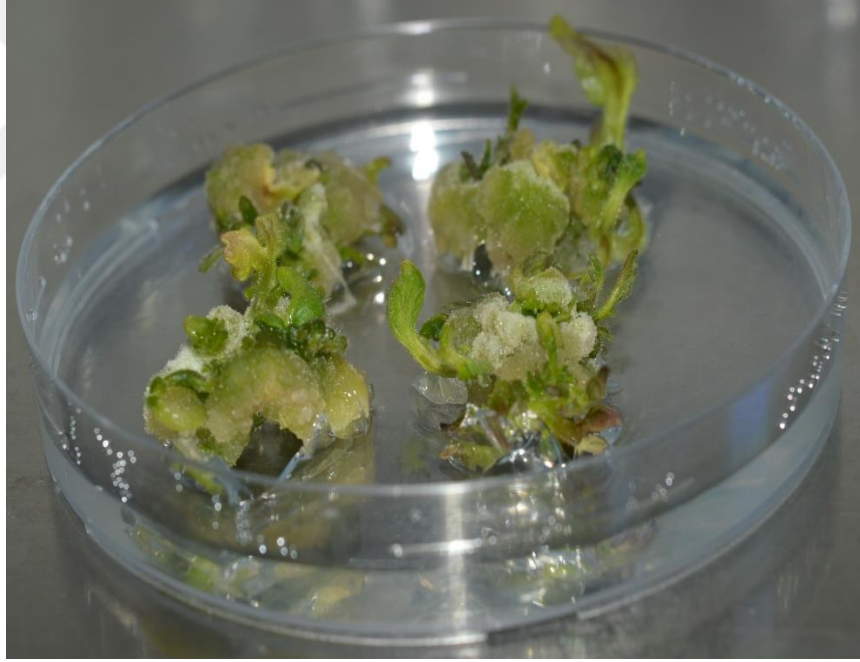
Şekil 5.2. 0,5 mg/L IAA + 3 mg/L Kinetin sürgün oluşumu



Şekil 5.3. 0,5 mg/L IAA + 2 mg/L BAP sürgün oluşumu



Şekil 5.4. 2 mg/L TDZ + 1 mg/L IAA sürgün oluşumu



Şekil 5.5. 0,5 mg/L Zeatin + 1 mg/L IAA sürgün oluşumu



Şekil 5.6. 0,5 mg/L Zeatin + 1 mg/L IAA sürgün oluşumu



Şekil 5.7. Köklendirme ortamında köklenmeye başlayan sürgün



Şekil 5.8. Büyüyen domates bitkisinin köklendirme ortamında tepeden görünümü



Şekil 5.9. Domates köklerinin MS'den arındırılması



Şekil 5.10. Saksıya alınan domates bitkisi



Şekil 5.11. İklim odasında büyütülen domates bitkileri

## 6. SONUÇ

Domates bitkisi dünyada yetiştiriciliği en fazla yapılan tarım ürünüdür. Yetiştiriciliğinin fazla olmasının yanı sıra, domates laboratuvar çalışmaları için de model bir bitkidir. Laboratuvarımızda domates üzerine yapılacak diğer çalışmalara alt yapı olması için SC 2121 domates çeşidi için doku kültürü optimizasyonu yapılmıştır. Tek bir protokol bütün genotipleri kapsamadığından dolayı, doku kültürü optimizasyonunun her genotip için ayrı olarak yapılması gerekmektedir. Her genotipin doku kültürüne verdiği cevap değişmektedir. Optimizasyon çalışması için öncelikle domates tohumları steril edilerek çimlendirilmiştir. Çimlenen domates bitkilerinden kotiledon ve hipokotiller IAA, NAA, BAP, KN, ZEA, TDZ ve 24-epiBL bitki büyüme düzenleyicileriyle desteklenen MS ortamına alınmıştır. Ekplantlar kök, kallus ve sürgün oluşumları için takip edilmiştir. Sürgün oluşturan eksplantlar alt kültüre alınarak büyütülmüştür. Yeterli düzeye ulaşan sürgünler köklendirme ortamına alınmıştır. Köklenme ortamında büyüüp, gelişen domatesler saksılara alınarak yeni bitkicikler elde edilmiştir.

Yapılan optimizasyon çalışmasında kök, kallus ve sürgün verileri tespit edilerek yüzde olarak hesaplanmıştır. Bunun sonucunda sürgün oluşumu için en iyi BBD kombinasyonunu içeren ortamın, 0,5 mg/L IAA + 3 mg/L Kinetin (hipokotil %78, kotiledon %82); kök oluşumu için en iyi BBD kombinasyonunu içeren ortamın ise, 2 mg/L IAA + 0,5 mg/L Kinetin (hipokotil ve kotiledon %94) olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan hesaplamalar sonunda en iyi ortamlar tespit edilerek SC 2121 domates çeşidi için doku kültürü optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. İlerleyen dönemlerde laboratuvarımızda domates üzerine yapılacak olan çalışmalar, özellikle de gen transferi çalışmaları için, domates doku kültürü protokolü hazır hale gelmiştir.

## KAYNAKLAR

- Abushita, A.A., Daood, H.G. and Biacs, P.A. 2000. Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48:2075-2081.
- Akpınar, I. (2014). Thiramin domates (*Lycopersicon esculentum* Miller) bitkisi üzerine fizyolojik etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, 87, İstanbul.
- Anderson, M. 2011. A closer look at plant reproduction, growth, and ecology. *Britannica Educational Publishing*, 41-42.
- Anonim (2011). <http://digitalbotanicgarden.blogspot.com.tr/search/label/Tomato> (Erişim tarihi: 24.07.2017)
- Anonim (2011). <https://bonnieplants.com/library/the-importance-of-roots/> (Erişim tarihi: 24.07.2017)
- Anonim (2013). <http://faq.gardenweb.com/discussions/2766770/are-there-different-types-of-tomato-leaves> (Erişim tarihi: 24.07.2017)
- Anonim (2014). <http://www.fao.org> (Erişim tarihi: 11.07.2017)
- Anonim (2017a). [https://www.harvesttotable.com/tomato\\_seed\\_saving/truss-of-tomato-flowers/](https://www.harvesttotable.com/tomato_seed_saving/truss-of-tomato-flowers/) (Erişim tarihi: 24.07.2017)
- Anonim (2017b). <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim tarihi: 11.07.2017)
- Anuradha, S. and Rao, S.S.R. 2001. Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.), *Plant Growth Regulation*, 33(2), 151-153.
- Augustine, A.C. and D'Souza, L. 1997. Somatic embryogenesis in *Gentium ula* Brogn. (*Gentium edule*) (Willd) Blume. *Plant Cell Rep* 16:354 – 357.
- Arora, R. 2010. *Medicinal Plant Biotechnology*, USA: CAB International, 94-95.
- Arora, P., Bhardwaj, R. and Kanwar, M.K. 2010. 24-epibrassinolide induced antioxidative defense system of *Brassica juncea* L. under Zn metal stress, *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 16, 285-293.
- Ashraf, M., Akram, N.A., Arteca, R.N. and Foolad, M.R. 2010. The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 29, 162-190.
- Ayabe, M. and Sumi, S. 2001. A novel and efficient tissue culture method- “stem-disc dome culture”- for producing virus-free garlic (*Allium sativum* L.) *Plant Cell Rep* 20:503 – 507.

- Ayan, H. (2010). Güneşte ve yapay kurutucuda kurutulmuş domates (*Lycopersitcum esculentum*) üretimi ve proses sırasındaki değişimlerin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 109, Ankara.
- Aybak, H.Ç. ve Kaygısız, H. 2007. *Domates Yetiştiriciliği*. Hasad Yayınları.
- Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan, S. 2001. *Bitki biyoteknolojisi doku kültürü ve uygulamaları*. Selçuk Üniversitesi Basımevi. Konya, 367 s.
- Balestrieri, M.L., De Prisco, R., Nicolaus, B., Pari, P., Schiano Moriello, V., Strazzullo, G., Lorio, E.L., Servillo, L. and Balastrieri, C. 2004. Lycopene in association with X-tocopherol or tomato lipophilic extracts enhances acyl-platelet-activating factor biosynthesis in endothelial cells during oxidative stress, *Free Radical Biology and Medicine*, 36:1058-1067
- Bidlack, J.E. and Jansky, S.H. 2011. "Stern's Introductory Plant Biology", *McGraw-Hill*, New York, USA, 191-195.
- Bigot, C. 1987. "In vitro Manipulation of Higher Plants: Some Achievements, Problems and Perspectives", IAPTC French-British Meeting, *Cell Culture Techniques Applied to Plant Production and Plant Breeding*, IAPTC, 5-17, Angers, France, 8-9 October.
- Bramley, P.M. 2000. *Is Lycopene Beneficial to Human Health*. *Phytochemistry*. 54(3): 233-236.
- Brown, J.T. 1990. *The Initiation and Maintenance of Callus Cultures*, In: Pollard, J.W., Walker, J.M., *Plant Cell and Tissue Culture*, The Humana Press, 57.
- Brown, G.R., Kwiatkowski, S., Martin, M.W. and Thomas, P.E. 1988. Eradication of PVS from potato clones through excision of meristems from in vitro heat-treated shoot tips. *Am Pot J* 65:633 – 638.
- Callow, J.A., Ford-Lloyd, B.V. and Newbury, H.J. 1997. *Biotechnology and Plant Genetic Resources: Conservation and Use*, CAB International, 49.
- Cleland, R.E. 1999. "Introduction: Nature, occurrence and functioning of plant hormones", "In: *Biochemistry and Molecular Biology of Plant Hormones*", Elsevier Science B.V., Amsterdam, Netherlands, 33, 3-4.
- Çapanoğlu E. ve Boyacıoğlu D. 2010. *Domatesin Gelişimi Sırasında Antioksidan Bileşiklerinde Meydana Gelen Değişimler*, *Akademik Gıda*, 8(1): 44-48.
- Davis, P.H. 1978. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. 6: 444. Edinburg University Press. Edinburg.

- Dixon, R.A. 1987. Isolation and Maintenance of Callus and Cell Suspension Cultures. *Plant Cell Culture – A Practical Approach*, Oxford Uni. Press, New York, USA, 1-20.
- Er, C. ve Canpolat, N. 1992. *Bitki ıslahında doku kültürleri*, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Yayın Dairesi Başkanlığı Matbaası, Ankara.
- Foolad, M.R. 2007. Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International Journal of Plant Genomics*, Article ID 64358, 52 pp.
- Gamborg, O.L., Miller, R.A., Ojima, K. 1968. “Nutrition Requirements of Suspension Cultures of Soybean Root Cells”, *Exp. Cell. Res.*, 50: 151-159.
- Gaspar, T., Kevers, C., Penei, C., Greppin, H., Reid, D.M. and Thorpe, T.A. 1996. Plant Hormones and Plant Growth Regulators in Plant Tissue Culture. *In vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 32:272-289.
- Gönülşen, N. 1987. *Bitki Doku Kültürü Yöntemleri ve Uygulama Alanları*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir.
- Güneysu, E. 2004. Çanakkale İlindeki Sanayii Kuruluşu Atık Sularının Ekonomik Öneme Sahip Bitki Türleri Üzerinde Enzimatik ve Genetiksel Değişimlerinin İzlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye.
- Haberer, G. and Kieber, J.J. 2002. Cytokinins. New Insights into a Classic Phytohormone. *Plant Physiology*, Vol. 128, pp. 354–362.
- Harisha, S. 2007. Biotechnology Procedures and Experiments Handbook, *Infinity Science Press LLC*, 485-497.
- Hartman, H.T., Kester, D.E. 1975. Plant propagation – Principles and Practices. Prentice-Hall. Inc., New Jersey.
- Haubrick, L.L. and Assmann, S.M. 2006. Brassinosteroids and plant function: some clues, more puzzles, *Plant Cell Environment*, 29, 446–57.
- Heiser, C.B. and Anderson, G. 1999. Perspectives on new crops and new uses: “New” solanums pp. 379-384, Virginia.
- Heldt, H.W. 2005. *Plant Biochemistry*, Elsevier Academic Press, USA, 469-476.
- Jones, J.B. 2007. ‘Tomato Plant Culture: In the Field, Greenhouse and Home Garden’.CRC Press (ISSN: 0849373956).
- Kartal, G., Temel, A., Arican, E., ve Gözükırmızı, N. 2009. Effects of brassinosteroids on barley root growth, antioxidant system and cell division, *Plant Growth Regulation* 58 (3), 261-267.

- Kartha, K.K. and Gamborg, O.L. 1975. Elimination of cassava mosaic disease by meristem culture. *Phytopathology* 65:826 – 828.
- Katekar, G.F. 1999. Structure-activity relationships of plant growth regulators. In: “Biochemistry and Molecular Biology of Plant Hormones”, Elsevier Science B.V., Amsterdam, Netherlands, 33, 93-100.
- Kocaçalışkan, Ş. 2002. *Bitki doku kültürleri (Organ, Doku ve Hücre)*, DPÜ, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kütahya, (ISBN:978-975-8201-47-6).
- Kung, S.D. 1993. Introduction: from green revolution to gene revolution, *Transgenic Plants Vol. 2. Present Status and Social and Economic Impacts*, Academic Press., 146-147.
- Küçüker, O. 1994. *Tıbbi Biyologlar için Botanik Ders Kitabı*. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İstanbul. 183-184.
- Linsmaier, E.M., Skoog, F. 1965. “Organic Growth Factor Requirements of Tobacco Tissue Cultures” *Physiol. Plant*, 18: 100-127.
- Liu, D., Jiang, W., Gao, X. 2003. “Effects of Cadmium on Root Growth, Cell Division and Nucleoli in Root Tip Cells of Garlic”, *Biologia Plantarum*, 47 79-83.
- Machakova, I., Zazimalova, E. and George, E.F. 2008. Plant Growth Regulators I: Introduction; Auxins, their Analogues and Inhibitors”, In: “*Plant Propagation by Tissue Culture*”, Springer, AA Dordrecht, Netherlands, 3:175.
- Malikova, J., Swaczynova, J., Kolar, Z. and Strnad, M. 2008. Anticancer and antiproliferative activity of natural brassinosteroids, *Phytochemistry*, 69, 418-426.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A Revised Medium for Growth and Bioassays with Tobacco Cultures, *Physiol Plant*, 15, 473:497.
- Muratore, G., Rizzo, V., Licciardello, F. and Maccarone, E. 2008. Partial dehydration of cherry tomato at different temperature and nutritional quality of the products. Sezione Tecnologie Agroalimentari, Dipartimento di OrtFloro-Arbicoltura e Tecnologie Agroalimentari (DOFATA), University of Catania, Via S. Sofia, 98- 95123 Catania, Italy. *Food Chemistry*, 111 (2008) 887-891.
- Neumann, K.H., Kumar, A. and Imani, J. 2009. “*Plant Cell and Tissue Culture - A Tool in Biotechnology*”, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1-7.
- Offord, E.A. 1998. *Nutritional and Health Benefits of Tomato Product*. In: Proc of Tomato and Health Seminar, Pamplona, Spain. 25-28 May, 5-11.

- Oğuz, A. (2010). Bazı yerel domates genotiplerinde farklı yöntemler kullanarak, domates lekeli solgunluk virüsü (tomato spotted wilt virus=tswv)'ne dayanıklılığın ve genetik varyasyonun araştırılması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 166, Ankara.
- Peralta, I. E. and Spooner, D. M. 2005. *Morphological characterization and relationships of wild tomatoes. (Solanum L. section Lycopersicon )*. Monograph Syst Bot Missouri Bot Gard. 104:227-257
- Peralta, I.E., Knaap, S. and Spooner, D. M. 2005. *New Species of wild Tomatoes (Solanum Section Lycopersicon: Solanaceae) from Northern Peru. Systematic Botany*, 30 (2), 424-434.
- Rao, A.V., Waseem Z. and Agarwal S. 1998. Lycopene content of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene, *Food Research International*, 31:737-741.
- Rick, C.M. 1973. Potential genetic resources in tomato species: Clues from observation in native habitats. *Genes, Enzymes, and Populations*, Plenum, New York, pp. 255-269.
- Rick, C.M. and Holle, M. 1990. Andean *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*: Genetic variation and its evolutionary significance. *Econ. Bot.* 44, 69-78
- Roselló, S., Diez, M.J. and Nuez, F. 1996. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. I. The tomato spotted wilt virus- a review. *Scientia Horticulturae*, 67, 117-150.
- Sahlin, E., Savage, G.P. and Lister, C.E. 2004. Investigation of the antioxidant properties of tomatoes after processing, *Journal of Food Composition and Analysis*, 17:635-647.
- Sarıbay, M.U. 2004. Domates salçasının raf ömrünün belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 4-5.
- Saydam, Ş. (2011). Domatesin (*Lycopersicon esculentum* L.) beslenme durumlarının uzaktan algılama teknik ve teknolojileri ile belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı, 196, Antalya.
- Scowcroft, W.R. 1984. Genetic Variability in Tissue Culture: Impact on Germplasm Conservation and Utilization, IBPGR – Rome.
- Slavikova, B., Kohout, L., Budesgnsky, M., Swaczynova, J. and Kasal, A. 2008. Brassinosteroids, synthesis and activity of some fluoro analogues, *Journal of Medicinal Chemistry*, 51, 3979-3984.
- Steigerova, J., Rarova, L., Oklest'kova, J., Krgzova, K., Levkova, M., Svachova, M., Kolar, Z. and Strnad, M. 2012. Mechanisms of natural brassinosteroid-

induced apoptosis of prostate cancer cells, *Food Chemistry and Toxicology*, 50, 4068-4076.

- Stewart, C.N. 2008. *Bitki Biyoteknolojisi ve Genetik*. (Çev. H.A. Öktem & M. Yücel). Nobel Yayınevi. 113-132, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara.
- Sun, Y., Fan, X.Y., Cao, D.M., Tang, W., He, K., Zhu, J.Y., He, J.X., Bai, M.Y., Zhu, S., Oh, E., Patil, S., Kim, T.W., Ji, H., Wong, W.H., Rhee, S.Y. and Wang, Z.Y. 2010. Integration of brassinosteroid signal transduction with the transcription network for plant growth regulation in Arabidopsis, *Developmental Cell*, 19, 765-777.
- Tapiero, H., Townsend, D.M. and Tew, K.D. 2004. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies, *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 58:100-110.
- Taylor, J.B. 1986. Biosystematic of the tomato in J. G. Atherton and J. Rudich (eds.) *The tomato crop: A scientific basis for improvement*, pp. 1-34. Chapman and Hall. London.
- Uylaşer, V. 1996. Salça üretim aşamalarına göre bakteri ve maya florasındaki değişim. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2-8, Bursa.
- White, P.R. 1963. "Neoplastic growth in plants", *Q. Rev. Biol.*, 26, 1-16.
- Willcox, J.K., Catignani, G.L. and Lazarus, S. 2003. Tomatoes and cardiovascular health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 43;1-18.
- Vanková, R. 2011. Plant Hormone Functions in Abiotic and Biotic Stress Responses. In: "Handbook of Plant and Crop Stress", CRC Press, USA, 191-204.
- Vardhini, B.V., RAO, S.S.R. and RAO, K.V.N. 2008. Effect of brassinolide on growth, yield, metabolite content and enzyme activities of tomato *Lycopersicon esculentum* Mill," in *Recent Advances in Plant Biotechnology and its Applications*, eds S. K. Ashwani Kumar and I. K. Sopory (New Delhi: International Publishing House Ltd.), 133-139.
- Yang, C.J., Zhang, C., Lu, Y.N., Jin, J.Q. and Wang, X.L. 2011. The mechanisms of brassinosteroids' action: From signal transduction to plant development, *Molecular Plant*, 4, 588-600.
- Young, T.E., Meeley, R.B. and Gallie, D.R. 2004. ACC Synthase Expression Regulates Leaf Performance and Drought Tolerance in Maize. *Plant Journal*, 40, 813-825.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Derya SANCAK  
Doğum Yeri : Trabzon  
Doğum Tarihi : 18.09.1991  
Yabancı Dili : İngilizce

### Eğitim Durumu

Lise : Köprübaşı Çok Programlı Lisesi (2006)  
Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü (2010 - 2014)  
Yüksek Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı (2014 - 2017)

### Konferans Sunumu

SANCAK, D., SEÇGİN, Z. ve KAVAS, M. 2017. In Vitro Optimization of Tissue Culture Parameters and Plant Regeneration in Tomato (*Lycopersicon Esculentum* Mill.), 04/2017, Kırşehir (Uluslararası).