

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYASAL MUTAGEN (ETİL METANSÜLFONAT) UYGULAMASIYLA
PATATESTE (*Solanum tuberosum* L.) VARYASYONUN
OLUŞTURULMASI VE MOLEKÜLER MARKIRLARLA TANIMLANMASI**

Nüket ALTINDAL

**Danışman
Prof. Dr. Tahsin KARADOĞAN**

**DOKTORA TEZİ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
ISPARTA – 2014**

© 2014 [Nüket ALTINDAL]

TEZ ONAYI

Nüket ALTINDAL tarafından hazırlanan “Kimyasal Mutagen (Etil Metansülfonat) Uygulamasıyla Patateste (*Solanum tuberosum* L.) Varyasyonun Oluşturulması ve Moleküler Markırlarla Tanımlanması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman:

Prof. Dr. Tahsin KARADOĞAN
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi:

Prof. Dr. Faik KANTAR
Akdeniz Üniversitesi



Jüri Üyesi:

Prof. Dr. İlknur AKGÜN
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi:

Prof. Dr. Hasan BAYDAR
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi:

Prof. Dr. Zekeriya AKMAN
Süleyman Demirel Üniversitesi



Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Ahmet ŞAHİNER



TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Nüket ALTINDAL

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1.GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1. Materyal.....	20
3.2. Yöntem.....	21
3.2.1. <i>In Vitro</i> ile İlgili Çalışmalar.....	21
3.2.1.1.Çalışmada kullanılan alet, ekipman ve malzemelerin sterilizasyonu.....	21
3.2.1.2. Çalışmada kullanılan besi ortamlarının hazırlanması.....	21
3.2.1.3. Yumruların sterilizasyonu ve sürgünlerin kesimi.....	23
3.2.1.4. Eksplantların sterilizasyonu.....	23
3.2.1.5. Patates sürgün uçlarına EMS uygulaması ve rejenerasyon ortamında inkübe edilmesi.....	23
3.2.1.6. Sürgün uçlarından elde edilen bitkiciklerin dış ortama aktarılması.....	24
3.2.1.7. <i>In vitro</i> koşullarda incelenen morfolojik gözlemler.....	24
3.2.2. Dış Koşullar ile İlgili Çalışmalar.....	25
3.2.2.1. Patates yumru gözlerine EMS uygulaması.....	25
3.2.2.2. Tarla koşullarında incelenen morfolojik gözlemler.....	27
3.2.3. Moleküler belirleyicilere ilişkin yöntemler.....	28
3.2.3.1. Genomik DNA izolasyonu.....	29
3.2.3.2. ISSR primerleri.....	29
3.2.3.3. PCR (Polimeraz Chain Reaction) karışımı.....	30
3.2.3.4. PCR döngü koşulları.....	30
3.2.3.5. Elektroferaz koşulları ve DNA bantlarının görüntülenmesi.....	31
3.3. Verilerin Değerlendirilmesi.....	31
3.3.1. <i>In vitro</i> da morfolojik özelliklerin değerlendirilmesi.....	31
3.3.2. Tarla koşullarında morfolojik özelliklerin değerlendirilmesi.....	32
3.3.3. Moleküler belirleyici verilerin değerlendirilmesi.....	32
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	33
4.1. <i>In Vitro</i> ile İlgili Çalışmalar.....	33
4.1.1. EMS uygulanan sürgün uçlarından oluşan bitkiciklerde incelenen morfolojik özellikler.....	33
4.1.1.1. Bitkicik boyu (cm).....	36
4.1.1.2. Boğum sayısı (adet).....	39
4.1.1.3. Sap sayısı (adet).....	43
4.1.1.4. Yan dal sayısı (adet).....	46

4.1.1.5. Yaprakçık sayısı (adet).....	48
4.1.1.6. Kök sayısı (adet).....	52
4.1.2. EMS uygulanan sürgün uçlarından elde edilen bitkiciklerin dış ortama aktarılması.....	55
4.2. Dış koşullar ile İlgili Çalışmalar.....	56
4.2.1. EMS uygulanan klonlardan elde edilen bitkilerin çıkış ve canlılık oranları (%).....	56
4.2.2. Patates klonlarına ait bitkilerin dış görünüşleri.....	58
4.2.3. Tarla koşullarında incelenen morfolojik özellikler.....	62
4.2.3.1. Bitki boyu (cm).....	62
4.2.3.2. Bitki başına sap sayısı (adet).....	65
4.2.3.3. Ocak başına küçük yumru sayısı (adet).....	66
4.2.3.4. Ocak başına orta yumru sayısı (adet).....	68
4.2.3.5. Ocak başına büyük yumru sayısı (adet).....	69
4.2.3.6. Ocak başına toplam yumru sayısı (adet).....	71
4.2.3.7. Ocak başına küçük yumru verimi (g).....	72
4.2.3.8. Ocak başına orta yumru verimi (g).....	74
4.2.3.9. Ocak başına büyük yumru verimi (g).....	75
4.2.3.10. Ocak başına toplam yumru verimi (g).....	77
4.2.4. Tarla koşullarında klonlarda incelenen morfolojik özellikler.....	79
4.2.4.1. Bitki boyu (cm).....	79
4.2.4.2. Bitki başına sap sayısı (adet).....	81
4.2.4.3. Ocak başına küçük yumru sayısı (adet).....	82
4.2.4.4. Ocak başına orta yumru sayısı (adet).....	84
4.2.4.5. Ocak başına büyük yumru sayısı (adet).....	85
4.2.4.6. Ocak başına toplam yumru sayısı (adet).....	87
4.2.4.7. Ocak başına küçük yumru verimi (g).....	89
4.2.4.8. Ocak başına orta yumru verimi (g).....	90
4.2.4.9. Ocak başına büyük yumru verimi (g).....	92
4.2.4.10. Ocak başına toplam yumru verimi (g).....	93
4.3. Moleküler ile İlgili Çalışmalar.....	95
4.3.1. EMS uygulanan sürgün uçlarından rejenere olan bitkiciklerin bant görüntüleri ve özellikleri.....	95
4.3.2. Sürgün uçlarına EMS uygulamalarının kümeleme analizi sonuçları.....	105
4.3.3. Sürgün uçlarına EMS uygulamalarının temel bileşenler analizi sonuçları.....	109
4.3.4. Yumru gözlerine EMS uygulamalarının bant görüntüleri ve özellikleri.....	110
4.3.5. Yumru gözlerine EMS uygulamalarının kümeleme analizi sonuçları.....	117
4.3.6. Yumru gözlerine EMS uygulamalarının temel bileşenler analizi sonuçları.....	120
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	122
KAYNAKLAR.....	129
ÖZGEÇMİŞ.....	138

ÖZET

Doktora Tezi

KİMYASAL MUTAGEN (ETİL METANSÜLFONAT) UYGULAMASIYLA PATATESTE (*Solanum tuberosum* L.) VARYASYONUN OLUŞTURULMASI VE MOLEKÜLER MARKIRLARLA TANIMLANMASI

Nüket ALTINDAL

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Tahsin KARADOĞAN

Bu çalışmada, 3 adet patates çeşidi (Agria, Marfona ve Lady Olimpia) kullanılmıştır. Araştırmada etil metansülfonat (EMS) uygulamaları iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada, patates çeşitlerine ait sürgün uçlarına 3 farklı süre (30, 60 ve 90 dk) ve 4 farklı dozda (0, 100, 200 ve 300 mM) EMS uygulanmış ve bu sürgünler *in vitro*da bitki rejenerasyonu için modifiye edilmiş MS ortamında 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlıkta 22±2 °C sıcaklık ve 2000-3000 lüks ışık altında inkübe edilmiştir. EMS uygulanan sürgün uçlarından rejenere olan bitkiciklerin morfolojik gözlemleri 1 ay sonra alınmış ve dış ortama aktarımı yapılmıştır. Araştırmanın bir diğer aşamasında patates çeşitlerine ait yumru gözlerine % 0.0 (kontrol), 0.2, 0.4 ve 0.6'lık EMS daldırma ve 3 saatlik süre ile uygulanmış, daha sonra viyollere aktarılan gözlerden çıkan fideler tarlaya şaşırtılmış ve morfolojik özellikleri incelenmiştir. Ayrıca, çalışmanın her iki aşamasında da genetik farklılıkları belirlemek için ISSR DNA moleküler işaretleyici tekniği kullanılmıştır.

Araştırmada *in vitro*da incelenen morfolojik gözlemler ele alındığında bitkicik boyu 3.01-5.02 cm, boğum sayısı 6.56-12.17 adet, sap sayısı 1.00-1.44 adet, yan dal sayısı 0.78-1.56 adet, yaprakçık sayısı 6.00-14.06 adet ve kök sayısı 0.50-2.33 adet arasında, tarla koşullarda ise bitki boyu 29.10-54.20 cm, bitki başına sap sayısı 1.0-1.1 adet, ocak başına küçük yumru sayısı 1.1-4.0 adet, ocak başına küçük yumru verimi 18.13-176.16 g, ocak başına orta yumru sayısı 0.0-2.0 adet, ocak başına orta yumru verimi 0.0-171.33 g, ocak başına büyük yumru sayısı 0.0-2.1 adet, ocak başına büyük yumru verimi 0.0-425.94 g, ocak başına toplam yumru sayısı 2.5-7.0 adet ve ocak başına toplam yumru verimi 98.46-773.39 g arasında değişiklik göstermiştir. *In vitro* koşullarda sürgün ucuna EMS uygulamasında bitkicik boyu, boğum sayısı, yaprakçık sayısı, kök sayısı ve yan dal sayısı bakımından en iyi tepki Lady Olimpia çeşidinde belirlenmiştir. Araştırmada olumlu yönde en etkili dozun 100 mM EMS olduğu gözlenmiştir. Uygulanan EMS sürelerinde ise morfolojik özelliklere etkisi bakımından 30 dk uygulama süresinin daha etkili olduğu ortaya konulmuştur. Eksplantların EMS solusyonunda 90 dk bekletilmesi incelenen özelliklerde olumsuz sonuçların elde edilmesine neden olmuştur. Yumru gözlerine artan dozlarda EMS

uygulamasý genellikle bitki gelişiminde gerilemeye neden olmuştur. EMS'nin uygulama süresinin bitki gelişimine etkisi birçok incelenen özellikte önemli olmamakla birlikte değişkenlik göstermiştir. Araştırmada EMS'nin 3 saat uygulamasında bitki boyunda artış, ocak başına orta yumru veriminde ise azalmalar gözlenmiştir. Morfolojik zellikler bakımından yumru gözlerine EMS uygulamaları çeşitlere göre tüm klonlarda varyasyonlara neden olmuştur. En yüksek toplam yumru verimi Agria eřidinde % 0.2 EMS + daldırmada elde edilmiştir. Marfona eřidinde EMS uygulamaları toplam yumru verimini düşürmüş, en yüksek verim % 0.6 EMS+ daldırma uygulamasında gözlenmiştir. Lady Olimpia eřidinde 6 klon normal değerin çok üzerinde yumru verimini oluşturmuş, % 0.6 EMS + daldırma, % 0.2 ve 0.4 EMS + 3 saat uygulamaları toplam yumru veriminde artışa neden olmuştur.

İncelenen morfolojik gözlemler yanında moleküler belirleyicilere de araştırmada yer verilmiştir. ISSR-PCR analizinde 24 adet primer kullanılmış bunlardan sadece sürgün uçlarına EMS uygulamalarında 11 adet, yumru gözlerine EMS uygulamalarında ise 9 adet primer polimorfizm göstermiştir. Araştırmada, EMS uygulanan çeşitlere göre polimorfizm oranları değişmiş, en yüksek polimorfizm Agria eşidinde belirlenmiştir. UPGMA ve PCA analizinde EMS uygulanan çeşitlerin bir kısmı ile kontrol çeşitlerinin farklı gruplarda yer aldığı belirlenmiştir. Aynı zamanda, EMS uygulanan patates çeşitlerinde ortak bir ataya sahip olanların aynı grupta yer aldığı bunun aksine bazılarının da farklı grupları oluşturduğu gözlenmiştir. Benzerlik matriksi bakımından, *in vitro*da çeşitlerin sürgün uçlarına EMS uygulamalarının kontrol gruplarına en düşük benzerlik oranları; Agria'da 200 mM EMS + 60 dk (% 42), Marfona'da 200 ve 300 mM EMS + 60 dk (% 75) ve Lady Olimpia eşidinde ise 100 mM EMS + 90 dk (% 75) uygulamalarında tespit edilmiştir. Yumru gözlerine EMS uygulamalarının kontrol gruplarına en düşük benzerlik oranı ise Agria'da % 0.4 EMS + 3 saat (% 50), Marfona'da % 0.2 ve 0.4 EMS + daldırma (% 39) ve Lady Olimpia eşidinde % 0.2 EMS + daldırma (% 47) uygulamalarında belirlenmiştir.

Sonuç olarak, farklı doz ve sürelerde farklı eksplantlara EMS uygulaması incelenen karakterleri etkilemiştir. Araştırmada morfolojik gözlemlerden ve ISSR yönteminden elde edilen veriler; mutasyon ışlahı çalışmalarında varyasyon yaratmada yararlı olabilecektir. EMS'nin uygun doz ve uygulama süresi dikkate alınarak yapılan mutasyon ışlahı çalışmalarında, patates bitkilerinde genetik varyasyonun oluşturulması ve bu bitkilerin bitki ışlahında ana olarak kullanılması mümkün olabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Patates, *in vitro*, somaklonal varyasyon, kimyasal mutagen, mutasyon, etil metansülfonat, ISSR, polimorfizm, genetik uzaklık

2014, 140 sayfa

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

INDUCTION OF VARIATION USING CHEMICAL MUTAGENE (ETHYL METHANESULFONATE) TREATMENT AND CHARACTERIZATION BY MOLECULAR MARKERS IN POTATO (*Solanum tuberosum* L.).

Nüket ALTINDAL

Suleyman Demirel University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. Tahsin KARADOĞAN

In this study, three potato cultivars (Agria, Marfona and Lady Olimpia) were used. In this study, ethyl methanesulfonate (EMS) applications consist of two stage. In first stage, shoot tips of potato cultivars were treated with four doses (0, 100, 200 and 300 mM) and time periods (30, 60 and 90 min) of ethyl methanesulfonate. To produce plant regeneration, these shoot tips were incubated on a modified MS medium at the temperature of 22 ± 2 °C and 16/8 h day/night photoperiod under light conditions that were 2000-3000 lux. After one month, the morphological observations of the regenerated plantlets from the shoot tips that received EMS treatment were recorted. In the other stage of the study, tuber eyes of patato cultivars were treated with 0.0, 0.1, 0.2, 0.4 ve 0.6 % doses and 60, 120, 150 and 180 min time periods of EMS. Then, seedlings from shoot primordia planted into viols were transfered to field and morphological observations were recorted. In addition to, genetic diversities were investigated using ISSR DNA molecular marker technique in the both stage of the study.

In the study, according to observed morphological observations *in vitro*, the plantlet height (cm), the number of internode, stem, sub branch, flake and root were 3.01-5.02, 6.56-12.17, 1.00-1.44, 0.78-1.56, 6.00-14.06 and 0.50-2.33, respectively. In field conditions, the plant height (cm), the number of stem per plant, the number of sub branch per plant, the number and yield (g) of small tuber per hole, the number and yield (g) of middle tuber per hole, the number and yield (g) of great tuber per hole, the number and yield (g) of total tuber per hole were 29.10-54.20, 1.0-1.1, 1.0-4.8, 1.1-4.0, 18.13-176.16, 0.0-2.0, 0.0-171.33, 0.0-2.1, 0.0-425.94, 2.5-7.0 and 98.46-773.39, respectively. The reaction of Lady Olimpia cultivar *in vitro* was the best in plantlets from shoot tips in terms of the plantlet height, the number of internode, leaf, root and sub branch. The most possitive effective of EMS dose and time period was 100 mM and 30 min respectively in the morphological observations *in vitro* soaking explants in EMS solution for 90 min negative affected the

morphological characteristics. Generally, treatment of increasing EMS doses on tuber eyes led to declining plant growth. The effect to plant growth in relation to time period of EMS treatment wasn't significantly different in the morphological characteristics. In the study, the plant height increased and the yield of middle tuber per hole decreased with treatment for 3 hours. In terms of the morphological characteristics, EMS treatments to tuber eyes led to variation in all clones according to cultivars. The total tuber yield in Agria cultivar was the highest in 0.2 % EMS + dipping treatment. EMS applications in Marfona cultivar decreased the total tuber yield, the highest tuber yield was recorded in 0.6 % EMS + dipping application. In Lady Olimpia cultivar, 6 clones produced the tuber yield higher than normal data and 0.6 % EMS + dipping, 0.2 and 0.4 % + 3 hours treatments increased total tuber yield.

In this research, in addition to morphological observations, the molecular markers were also used. In ISSR-PCR analysis, 24 primer were used. Primer numbers identified polymorphism were 11 and 9 (in EMS- treated shoot tips and tuber eyes, respectively). In research, polymorphism ratios altered in used cultivars and the highest polymorphism was found in Agria cultivar. Some of EMS applied cultivars with control cultivars were in different groups. In EMS-applied potato cultivars, cultivars belonging share parent were in same group or visa versa. In terms of similarity metric, the lowest similarity ratio (50 %) of calli of Agria cultivar to control group was determined in 0.1 % EMS + 120 min application. The lowest similarity ratios to control groups of potato cultivars obtained from shoot tips and in Agria (42 %), Marfona (75 %) and Lady Olimpia (75 %) were obtained in the treatments of 200 mM EMS + 60 min, 200 and 300 mM + 60 dk and 100 mM EMS + 90 min, respectively. Additionally, this ratios in cultivars obtained from tuber eyes *in vivo* conditions were in the applications of 0.4 % EMS + 3 hours in Agria (50 %), 0.2 and 0.4 % EMS + dipping (39 %) in Marfona and 0.2 % EMS + dipping (47 %) in Lady Olimpia cultivar.

In conclusion, EMS applications in different doses and time periods affected the plant variables investigated. characters. In this study, data obtained of the morphological observations and ISSR method can be beneficial in creating variation in mutation breeding studies. In mutation studies executed according to eligible treatment doses and time period of EMS, induction of genetic variation in potato plants and using as rootstock of these plants in plant breeding can be possible.

Keywords: Potato, *in vitro*, somaclonal variation, chemical mutagen, mutation, ethyl methanesulfonate, ISSR, polymorphism, genetic diversity

2014, 140 pages

TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni yönlendiren ve büyük yardımlarını gördüğüm değerli danışman hocam Prof. Dr. Tahsin KARADOĞAN'a ve çalışmanın yürütülmesinde Tarla Bitkileri Bölümü imkanlarını sağlayan Tarla Bitkileri Bölüm Başkanı Prof. Dr. Hasan BAYDAR'a, ayrıca Akdeniz Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden emekli Prof. Dr. Bülent SAMANCI'ya teşekkür ederim.

Araştırmanın moleküler çalışmalar aşamasında büyük yardımlarını gördüğüm, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü öğretim üyelerinden Doç. Dr. Muhammet TONGUÇ'a teşekkürlerimi sunarım.

1819-D-09 No'lu proje ile tezimi maddi olarak destekleyip, gerçekleşmesini sağlayan Süleyman Demirel Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Ayrıca bugüne kadar maddi ve manevi yönden desteklerini gördüğüm sevgili aileme teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Nüket ALTINDAL
ISPARTA, 2014

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. İnkübasyon aşamasında bitkicik gelişim odası.....	24
Şekil 3.2. EMS uygulanan yumru gözlerinden fide oluşumu.....	26
Şekil 3.3. EMS uygulanan yumru gözlerinden oluşan bitkilerin tarladaki genel görünümü.....	26
Şekil 3.4. Moleküler çalışmalardan görünüm.....	28
Şekil 4.1. Agria çeşidinde 100 mM EMS uygulaması.....	33
Şekil 4.2. Agria çeşidinde 200 mM EMS uygulaması.....	33
Şekil 4.3. Agria çeşidinde 300 mM EMS uygulaması.....	34
Şekil 4.4. Morfona çeşidinde 100 mM EMS uygulaması.....	34
Şekil 4.5. Morfona çeşidinde 200 mM EMS uygulaması.....	34
Şekil 4.6. Morfona çeşidinde 300 mM EMS uygulaması.....	35
Şekil 4.7. Lady Olimpia çeşidinde 100 mM EMS uygulaması.....	35
Şekil 4.8. Lady Olimpia çeşidinde 200 mM EMS uygulaması.....	35
Şekil 4.9. Lady Olimpia çeşidinde 300 mM EMS uygulaması.....	36
Şekil 4.10. Bitkicik boyuna çeşit x uygulama dozu interaksyonunun etkisi.....	38
Şekil 4.11. Bitkicik boyuna çeşit x uygulama süresi interaksyonunun etkisi....	38
Şekil 4.12. Bitkicik boyuna uygulama dozu x uygulama süresi interaksyonunun etkisi.....	39
Şekil 4.13. Boğum sayısına çeşit x uygulama dozu interaksyonunun etkisi.....	41
Şekil 4.14. Boğum sayısına çeşit x uygulama süresi interaksyonunun etkisi...	42
Şekil 4.15. Boğum sayısına uygulama dozu x uygulama süresi interaksyonunun etkisi.....	43
Şekil 4.16. Sap sayısına çeşit x uygulama dozu interaksyonunun etkisi.....	45
Şekil 4.17. Sap sayısına çeşit x uygulama süresi interaksyonunun etkisi.....	45
Şekil 4.18. Sap sayısına uygulama dozu x uygulama süresi interaksyonunun etkisi.....	46
Şekil 4.19. Yan dal sayısına uygulama dozu x uygulama süresi interaksyonunun etkisi.....	48
Şekil 4.20. Yaprakçık sayısına çeşit x uygulama dozu interaksyonunun etkisi.	50
Şekil 4.21. Yaprakçık sayısına çeşit x uygulama süresi interaksyonunun etkisi.....	51
Şekil 4.22. Yaprakçık sayısına uygulama dozu x uygulama süresi interaksyonunun etkisi.....	51
Şekil 4.23. Kök sayısına çeşit x uygulama dozu interaksyonunun etkisi.....	54
Şekil 4.24. Kök sayısına çeşit x uygulama süresi interaksyonunun etkisi.....	54
Şekil 4.25. Kök sayısına uygulama dozu x uygulama süresi interaksyonunun etkisi.....	55
Şekil 4.26. <i>In vitro</i> koşullarda elde edilen bitkiciklerin dış ortama aktarılması.	56
Şekil 4.27. Agria klonlarından oluşan bitkilerin genel görünümü.....	59
Şekil 4.28. Marfona klonlarından oluşan bitkilerin genel görünümü.....	60
Şekil 4.29. Lady Olimpia klonlarından oluşan bitkilerin genel görünümü.....	61
Şekil 4.30. Bitki boyuna çeşit x uygulama dozu interaksyonunun etkisi.....	64
Şekil 4.31. Bitki boyuna çeşit x uygulama süresi interaksyonunun etkisi.....	64

Şekil 4.32. Bitki boyuna uygulama dozu x uygulama süresi interaksyonunun etkisi.....	65
Şekil 4.33. Büyük yumru sayısına çeşit x uygulama dozu interaksyonunun etkisi.....	71
Şekil 4.34. Küçük yumru verimine çeşit x uygulama dozu interaksyonunun etkisi.....	74
Şekil 4.35. Büyük yumru verimine çeşit x uygulama dozu interaksyonunun etkisi.....	77
Şekil 4.36. Toplam yumru verimine çeşit x uygulama dozu interaksyonunun etkisi.....	79
Şekil 4.37. Agria çeşidi klonlarının bitki boyları.....	80
Şekil 4.38. Marfona çeşidi klonlarının bitki boyları.....	80
Şekil 4.39. Lady Olimpia çeşidi klonlarının bitki boyları.....	81
Şekil 4.40. Agria çeşidi klonlarının bitki başına sap sayıları.....	81
Şekil 4.41. Marfona çeşidi klonlarının bitki başına sap sayıları.....	82
Şekil 4.42. Lady Olimpia çeşidi klonlarının bitki başına sap sayıları.....	82
Şekil 4.43. Agria çeşidi klonlarının ocak başına küçük yumru sayıları.....	83
Şekil 4.44. Marfona çeşidi klonlarının ocak başına küçük yumru sayıları.....	83
Şekil 4.45. Lady Olimpia çeşidi klonlarının ocak başına küçük yumru sayıları..	84
Şekil 4.46. Agria çeşidi klonlarının ocak başına orta yumru sayıları.....	84
Şekil 4.47. Marfona çeşidi klonlarının ocak başına orta yumru sayıları.....	85
Şekil 4.48. Lady Olimpia çeşidi klonlarının ocak başına orta yumru sayıları.....	85
Şekil 4.49. Agria çeşidi klonlarının ocak başına büyük yumru sayıları.....	86
Şekil 4.50. Marfona çeşidi klonlarının ocak başına büyük yumru sayıları.....	86
Şekil 4.51. Lady Olimpia çeşidi klonlarının ocak başına büyük yumru sayıları..	87
Şekil 4.52. Agria çeşidi klonlarının ocak başına toplam yumru sayıları.....	87
Şekil 4.53. Marfona çeşidi klonlarının ocak başına toplam yumru sayıları.....	88
Şekil 4.54. Lady Olimpia çeşidi klonlarının ocak başına toplam yumru sayıları	88
Şekil 4.55. Agria çeşidi klonlarının ocak başına küçük yumru verimleri.....	89
Şekil 4.56. Marfona çeşidi klonlarının ocak başına küçük yumru verimleri.....	90
Şekil 4.57. Lady Olimpia çeşidi klonlarının ocak başına küçük yumru verimleri.....	90
Şekil 4.58. Agria çeşidi klonlarının ocak başına orta yumru verimleri.....	91
Şekil 4.59. Marfona çeşidi klonlarının ocak başına orta yumru verimleri.....	91
Şekil 4.60. Lady Olimpia çeşidi klonlarının ocak başına orta yumru verimleri..	92
Şekil 4.61. Agria çeşidi klonlarının ocak başına büyük yumru verimleri.....	92
Şekil 4.62. Marfona çeşidi klonlarının ocak başına büyük yumru verimleri.....	93
Şekil 4.63. Lady Olimpia çeşidi klonlarının ocak başına büyük yumru verimleri.....	93
Şekil 4.64. Agria çeşidi klonlarının ocak başına toplam yumru verimleri.....	94
Şekil 4.65. Marfona çeşidi klonlarının ocak başına toplam yumru verimleri....	94
Şekil 4.66. Lady Olimpia çeşidi klonlarının ocak başına toplam yumru verimleri.....	95
Şekil 4.67. Bitkiciklerde LOL-8 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	97
Şekil 4.68. Bitkiciklerde LOL-9 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	97

Şekil 4.69. Bitkiciklerde LOL-10 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	97
Şekil 4.70. Bitkiciklerde PHV-3 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	98
Şekil 4.71. Bitkiciklerde PHV-5 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	98
Şekil 4.72. Bitkiciklerde PHV-6 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	98
Şekil 4.73. Bitkiciklerde PHV-7 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	99
Şekil 4.74. Bitkiciklerde UBC-807 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	99
Şekil 4.75. Bitkiciklerde UBC-812 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	99
Şekil 4.76. Bitkiciklerde UBC-814 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	100
Şekil 4.77. Bitkiciklerde UBC-854 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	100
Şekil 4.78. UPGMA metoduyla oluşturulan sürgün uçlarına EMS uygulanan patates bitkicikleri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren fenogram...	108
Şekil 4.79. Sürgün uçlarına EMS uygulanan patates bitkiciklerinde PCA analiz yönteminin sonuçları.....	109
Şekil 4.80. Klonlarda LOL-9 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	111
Şekil 4.81. Klonlarda LOL-10 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	111
Şekil 4.82. Klonlarda PHV-3 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	112
Şekil 4.83. Klonlarda PHV-5 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	112
Şekil 4.84. Klonlarda PHV-6 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	112
Şekil 4.85. Klonlarda PHV-7 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	113
Şekil 4.86. Klonlarda UBC-807 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	113
Şekil 4.87. Klonlarda UBC-812 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	113
Şekil 4.88. Klonlarda UBC-826 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	114
Şekil 4.89. UPGMA metoduyla oluşturulan yumru gözlerine EMS uygulanan patates bitkileri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren fenogram.....	119
Şekil 4.90. Yumru gözlerine EMS uygulanan patates bitkilerinde PCA analiz yönteminin sonuçları.....	120

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1. Temel MS besisi ortamının içeriği.....	22
Çizelge 3.2. EMS uygulanan sürgün uçlarından bitki rejenerasyonu için kullanılan besisi ortamları ve büyüme düzenleyicileri.....	22
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan ISSR primerlerinin baz dizilimleri ve Tm dereceleri.....	30
Çizelge 4.1. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin boyuna ait varyans analiz sonuçları.....	36
Çizelge 4.2. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin boyları (cm).....	37
Çizelge 4.3. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin boğum sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	40
Çizelge 4.4. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin boğum sayıları (adet).....	41
Çizelge 4.5. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin sap sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	43
Çizelge 4.6. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin sap sayıları (adet).....	44
Çizelge 4.7. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin yan dal sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	46
Çizelge 4.8. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin yan dal sayıları (adet).....	47
Çizelge 4.9. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin yaprakçık sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	49
Çizelge 4.10. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin yaprakçık sayıları (adet)...	49
Çizelge 4.11. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin kök sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	52
Çizelge 4.12. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin kök sayıları (adet).....	53
Çizelge 4.13. EMS uygulanan patates çeşitleri klonlarından bitki çıkış oranları (%).....	57
Çizelge 4.14. EMS uygulanan patates çeşitleri klonlarının canlı bitki oranları (%).....	57
Çizelge 4.15. Yumru gözlerine EMS uygulanan patates çeşitlerine ait bitkilerin dış görünüşleri.....	58
Çizelge 4.16. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin boyuna ait varyans	

analiz sonuçları.....	63
Çizelge 4.17. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin boyları (cm).....	63
Çizelge 4.18. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin sap sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	66
Çizelge 4.19. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin sap sayıları (adet).....	66
Çizelge 4.20. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına küçük yumru sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	67
Çizelge 4.21. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına küçük yumru sayıları (adet).....	67
Çizelge 4.22. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına orta yumru sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	68
Çizelge 4.23. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına orta yumru sayıları (adet).....	69
Çizelge 4.24. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına büyük yumru sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	69
Çizelge 4.25. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına büyük yumru sayıları (adet).....	70
Çizelge 4.26. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına toplam yumru sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	71
Çizelge 4.27. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına toplam yumru sayıları (adet).....	72
Çizelge 4.28. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına küçük yumru verimine ait varyans analiz sonuçları.....	72
Çizelge 4.29. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına küçük yumru verimleri (g).....	73
Çizelge 4.30. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına orta yumru verimine ait varyans analiz sonuçları.....	74
Çizelge 4.31. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına orta yumru verimleri (g).....	75
Çizelge 4.32. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına büyük yumru verimine ait varyans analiz sonuçları.....	76

Çizelge 4.33. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına büyük yumru verimleri (g).....	76
Çizelge 4.34. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına toplam yumru verimine ait varyans analiz sonuçları.....	77
Çizelge 4.35. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına toplam yumru verimleri (g).....	78
Çizelge 4.36. Sürgün uçlarına EMS uygulanan patates çeşitlerine ait bant desenlerinin etiket numaraları.....	96
Çizelge 4.37. Sürgün uçlarına EMS uygulanan patates çeşitlerinde fenogram çiziminde kullanılan bant matriksleri.....	102
Çizelge 4.38. Sürgün uçlarına EMS uygulanan patates çeşitlerinde ISSR-PCR reaksiyonlarından elde edilen bant özellikleri.....	104
Çizelge 4.39. ISSR analizi sonuçlarına göre sürgün uçlarına EMS uygulanan patates bitkicikleri arasındaki genetik benzerlik matriksi.....	107
Çizelge 4.40. EMS uygulanan patates çeşitlerine ait yumru gözlerinden gelişen bitkilerin etiket numaraları.....	110
Çizelge 4.41. Yumru gözlerine EMS uygulanan patates çeşitlerinde fenogram çiziminde kullanılan polimorfik bant matriksleri.....	115
Çizelge 4.42. Yumru gözlerine EMS uygulanan patates çeşitlerinde ISSR-PCR reaksiyonlarından elde edilen bant özellikleri.....	116
Çizelge 4.43. ISSR analizi sonuçlarına göre yumru gözlerine EMS uygulanan patates bitkileri arasındaki genetik benzerlik matriksi.....	118

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	Adenin
AFLP	Amplified fragment length polymorphism (=Çoğaltılmış fragment uzunluk polimorfizmi)
BAP	Benzil amino purin
bç	Baz çifti
C	Sitozin
CTAB	Setil trimetil amonyum bromür
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
EMS	Etil metansülfonat
ENU	N-nitroza-N'-etil üre
F	İstatistiki F değeri
G	Guanin
GA ₃	Giberelik asit
Gy	Gray
IAA	Indol asetik asit
ISSR	Inter simple sequence repeat (=basit dizi tekrar arası)
KCl	Potasyum klorid
KN	Kinetin
LSD	Asgari önemli fark
M	Molar
MgCl ₂	Magnezyum klorid
MH	Maleik hidrazid
mM	Milimolar
MS	Murashige ve Skoog besi ortamı
NAA	Naftalin asetik asit
ng	Nanogram
nm	Nanometre
NTSYS	Numerical taxonomy and multivariate system
PCA	Principal component analysis (= temel bileşenler analizi)
PCR	Polimeraz chain reaction (= polimeraz zincir reaksiyonu)
pH	Hidrojenin gücü
R	Pürin (A, G)
RAPD	Randomly amplified polymorphic DNAs (=Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA)
RFLP	Restriction fragment length polymorphism (=kesilmiş parça uzunluk polimorfizmi)
RNA	Ribonükleik asit
rpm	Rotation per minute (=Dakikadaki devir)
SAS	Statistical analysis software (=İstatistik analiz yazılımı)
SHAN	Sequantial, Agglomerative, Hierachical, and Nested clustering
SSR	Simple Sequence Repeats (= basit dizi tekrarları)
T	Timin
Taq	Thermus aquaticus bakterisinden elde edilen enzim

TBE	Tris-orat-EDTA
TE	Transposable elements
TE buffer	Tris-EDTA
T _m	Melting temperature (= erime sıcaklığı)
UPGMA	Unweighted pair group method with arithmetic mean (=aritmetik ortalamayı kullanılan ağırlıksız çift grup metodu)
UV	Ultraviyole
VK	Varyasyon kaynağı değeri
2,4 D	Diklorofenoksiasetik asit
μl	Mikrolitre

1. GİRİŞ

Anavatanı Güney Amerika olan patates bitkisi Amerika kıtasının keşfinden sonra Avrupa'ya getirilmiştir. Önce İspanya'ya buradan İtalya ve Fransa'ya götürülmesi 18. yüzyıldan önce olmuştur. Bazı kaynaklara göre, ülkemizde patates yetiştiriciliğine 19. asrın sonlarında Erzurum ovasında ve Sakarya yöresinde başlanmıştır. Yaklaşık olarak 140 yıl önce ülkemize girdiği belirtilen patates bitkisinin (Er ve Uranbey, 1998) günümüzde birçok ilimizde tarımı yapılmaktadır.

Patates, tüm dünyada beslenme bakımından buğday, çeltik ve mısırdan sonra 4. sırada yer almakta ve veriminin fazla olması, ucuzluğu, geniş alanlarda kullanılması, besin değerinin yüksek oluşu, sindiriminin kolaylığı ve geniş adaptasyonu nedeniyle üretilmekte ve tüketilmektedir (Altındal, 2005).

Patates dünyadaki besin maddeleri özellikle karbonhidrat kaynakları arasında ilk sıralarda yer alan önemli bir üründür. Patates beslenme değerinin yüksek ve kullanım alanlarının geniş olması nedeniyle geri kalmış ve yetersiz beslenen ülkelerde giderek büyüyen açlık sorununa cevap verebilecek en önemli gıda maddelerinin başında gelmektedir. Beslenme değeri bakımından, diğer gıdalarla mukayese edildiğinde patatesin protein oranının düşük olmasına rağmen (% 1-3), biyolojik değeri yüksektir. Ayrıca birim alandan soyadan sonra en fazla protein sağlaması itibarıyla insan beslenmesinde önemli bir protein kaynağıdır. Yumruları yaklaşık olarak % 11-25 arasında nişasta içermekte olup, nişastasının hazmolabilme derecesinin yüksekliği patatesin iyi bir diyet ve enerji kaynağı olmasını sağlamaktadır. Yaklaşık olarak bir limonun içerdiği kadar C vitamini içeren patates, özellikle turuncgillerin yetişmediği ülkelerde önemli bir C vitamini kaynağıdır. Ayrıca B₁, B₂, B₃ ve B₆ vitaminleri ile P, K, Mg, Cl içeriği de yüksektir. Beslenme için gerekli günlük enerji miktarının % 3'ü, C vitamini ihtiyacının % 14.4'ü, B vitaminleri ihtiyacının % 5-10'u, mineral maddelerin ise % 2.4-24'ü patatesten karşılanmaktadır (Karadoğan ve Özer, 1997).

Patatesin dünyadaki dikim alanı 19,2 milyon ha ve üretimi 365 milyon ton'dur. Türkiye'de ise dikim alanı 174 bin ha ve üretim 4,8 milyon ton'dur. Ülkemiz patates dikim alanı ile dünyada 19. sırada yer alırken, dekara verim (2.771 kg/da) bakımından ise 28. sırada olduğu görülmektedir (FAO, 2014).

Verim ve kaliteyi arttırmanın yolu hastalıksız tohumluk ve uygun üretim teknikleri kullanmanın yanında üstün verimli çeşitlerin geliştirilmesidir. Ülkemizde yetiştirilen çeşitler genelde yabancı orijinli olup, kendi çeşidimiz parmakla sayılacak kadar az sayıdadır. Avrupa Birliği'ne giriş sürecinde ıslahçı hakları ve patent hakkının gündeme gelmesi nedeniyle ülkemizde yeni çeşitlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Yeni çeşit geliştirmenin yolu klasik ıslah yöntemleri ile varyasyon yaratarak seleksiyon yapmanın yanında, *in vitro* da varyasyon yaratarak çeşit geliştirmekte söz konusu olabilmektedir.

Bitki ıslahında doğal varyasyonun daraldığı veya varyasyon meydana getirmenin zor olduğu durumlarda avantajlı olarak değerlendirilen somaklonal varyasyon yeni bir kaynak olarak görülmektedir. Somaklonallardan elde edilen çeşitlerin sayısı sınırlıdır. Somaklonal varyasyonun kontrolsüz ve tesadüfi olması sınırlayıcı bir faktör olmakla birlikte gelecek için ümitvar görülmektedir.

Somaklonal varyasyon; somatik doku kökenli kallus, hücre ve protoplast kültürlerinden rejenere olan bitkiler arasında ortaya çıkan genetik kökenli değişkenliktir (Yıldırım, 2002) ya da varyasyonu tetikleyen doku veya kültür olarak da tanımlanmaktadır (Kaeppeler vd., 2000). *In vitro* da rejenere olan bitkilerde meydana gelen kalıtsal olmayan değişikliklere "epigenetik varyasyonlar" denilmektedir (Karp, 1994).

Somaklonal varyasyonun birçok sebepleri ve tipi vardır ve türden türe değişmektedir. Ortaya çıkan varyasyonun genetiğini belirlemek zordur (Maraschin vd., 2002). Bu varyasyonun sebepleri kromozom yapısı ve sayısındaki değişimler, nokta mutasyonları, kromozomlardaki yapısal değişimlerin sonucu olarak gen ifadesindeki değişimler, kromatin kaybı, DNA'nın çoğalması ve

stoplazmik DNA'sında yapısal değişimler olarak sayılabilir (Rao vd., 1992). Kromozomlarda kümeleşmeler, kırılmalar, kromozom artıkları, kromatin köprüleri gibi oluşumlar fiziksel ve kimyasal mutagenlerden kaynaklanmaktadır (Kumar ve Singh, 2004).

Yapılan bir çalışmada somaklonal varyasyonla hastalıklara dayanıklılık, başaklanma ve olgunlaşma tarihi, tane verimi, protein içeriği ve tane kalitesi gibi agronomik özelliklerde olumlu yönde değişmeler elde edilmiştir (Bürün, 2002). Bitkilerde ortaya çıkan bu değişkenlikler morfolojik, tarımsal ve fizyolojik özelliklerdir (Karp, 1990). Somaklonal varyasyona hücre organizasyonunda düzensiz büyüme, eksplant kaynağı, hücre bölünmesindeki anormallikler, genotip (Karp, 1994), nükleik asit öncüllerinin kaybı, kültür ortamı bileşimi, kültür koşulları, besi ortamı bileşimi (George, 1993), kültür süresi (Lewis-Smith vd., 1990) ve stres (De Klerk, 1990) etki etmektedir.

Somaklonal varyasyon sitolojik, fenotipik ve moleküler düzeyde incelemelerle ortaya konulmaktadır (De Klerk, 1990). Moleküler seviyede somaklonal varyasyonun belirlenmesi ilk defa patatesten ilk oluşan klonlarda yapılmıştır. Protoplastlardan rejenere olmuş bitkilerden türetilen 12 adet bitkinin 2'sinde 25 adet S ribozomal RNA genlerinde % 70 azalma olduğu görülmüştür (Landsmann ve Uhrig, 1985)

*In vitro*da kültür boyunca meydana gelen somaklonal varyasyonların frekansı kimyasal ve fiziksel mutagen uygulamalarıyla elde edilen mutasyonlardan daha yüksektir. Mutasyonlar genellikle dominanttan resesife doğru olmaktadır. Mutagen uygulamaları ile elde edilen mutasyonlarda dominantların frekansı düşüktür. Fakat somaklonlar arasında dominant mutasyonların oranı daha yüksektir. Somaklonal varyasyonun hücre düzeyinde seleksiyonu da avantajlı olmaktadır (Van Den Bulk, 1991). Bu olumlu özelliklerinin yanı sıra varyasyonun çeşide bağlı olması, değişim frekansının çok farklı ve değişmelerin kararsız olması, değişimlerin çoğunluğunun istenmeyen özelliklere sahip olması gibi olumsuz özellikleri de bulunmaktadır (Semal ve Lepoivre, 1990).

Spontan mutasyonların oluşma olasılığı oldukça dūřuktur. Bu nedenle son yıllarda özellikle vejetatif çoğalan bitkilerde fiziksel ve kimyasal mutagenlerden yararlanılarak mutasyon yaratma yöntemi ışlahlar arasında tercih edilmektedir.

Son zamanlarda *in vitro*da varyasyon oluşturmada kimyasal mutagenlerden yararlanılmaktadır. Kimyasal mutagenler mikro mutasyon meydana getirdiklerinden dolayı tercih edilmektedir. Ancak bu mutagenlerin *in vivo* sistemde meristematik dokulara işleme gücü zayıf olduğundan, vejetatif olarak üretilen bitkilerde etkinliği dūřuktur. Dormant gözler kimyasal solusyonlarla muamele edildiğinde, mutagenin tomurcuk meristemine ulaşamadığı Rathjen ve Robinson (1992) tarafından bildirilmiştir.

Patateste virüs ve benzeri patajonlere dayanıklılık durumunda, dayanıklılık geni taşıyan farklı türler ve cinsler arasında melezlemeler zor olmaktadır. Bu nedenle patates ışlahında genetik çeşitlilik oluşturmada somaklonal varyasyondan yararlanılmaktadır (Lee ve Phillips, 1988).

Patates ışlahında da diğer bitkilerde olduğu gibi öncelikle genetik varyasyon yaratılmakta, daha sonra seleksiyon kriterleri belirlenerek amaca uygun bitkiler seçilmekte ve bu bitkilerden çoğaltılan klonlar yetiştirilerek tarımsal ve kalite özellikleri bakımından değerlendirmeler yapılmaktadır. Melezleme yöntemi ile varyasyonlar oluşturmanın yetersiz olduğu durumlarda mutasyon yönteminden faydalanılmaktadır.

Yapılan araştırmalar sonucunda, patateste varyasyon kaynaklarının eksplant, X işınları (Van Harten vd., 1981), kallus kültürü (Albani ve Wilkinson, 1998; Ehsanpour vd., 2007), genotip (Bordallo vd., 2004; Thieme ve Griess, 2005), embriyo kültürü (Rietveld vd., 1993; Sharma vd., 2007), protoplast kültürü (Arihara vd., 1995), gamma işınları (Rodrguez vd., 2007) ve etil metansülfonat (Afrasiab, 2006) olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada, *in vitro*da ve dış koşullarda patates çeşitlerine (Agria, Marfona ve Lady Olimpia) ait eksplantlara farklı EMS (Etil metansülfonat) dozları farklı sürelerde uygulanarak varyasyon oluşturulmaya çalışılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bitki ıslahında faydalanılan somaklonal varyasyon, bitki metabolizmasında çoğunlukla engelleyici bir olgu olarak düşünölmekte, çalışmanın amacına göre ya çeşitliliği artırmada bir avantaj, ya da hücre hatlarının stabilitesinin kaybı bakımından ise dezavantaj olarak değerlendirilmektedir (Hadi ve Bridgen, 1996).

Mutasyonu teşvik eden materyaller mutagen olarak adlandırılmakta; fiziksel mutagen ve kimyasal mutagen olarak iki gruba ayrılmaktadır (Lestari, 2012). Varyasyon kaynağı oluşturmada kullanılan fiziksel ve kimyasal mutagenler gende, kromozomda ve stoplazmik DNA'da değişimleri (mutasyonları) teşvik eden, genetik varyasyonu meydana getiren ve artıran araçlardır. Kimyasal mutagenler ucuz ve kolaylıkla erişilebilir fakat, kullanımları tehlikelidir. Kimyasal mutagenler etil metansülfonat, etil etan sülfonat, dietil sülfat, iperit, nitro asit (N-etil-N-nitrozo üre, N-metil-N-nitrozo üre vs.), hidroksilamin, iminler, sodyum azid ve potasyum azid içerirken, fiziksel mutagenler UV, X ışınları (röntgen ışınları), gama ışınları vs. içermektedir (Jain vd., 1998).

En yaygın olarak kullanılan kimyasal mutagenler, DNA ile etkileşerek bazların kimyasal yapısını değiştiren, EMS (Etil metansülfonat) gibi toksik kimyasallardır. DNA'daki bazlara alkil grupları ekleyerek şekillerini ve baz eşleşme özelliklerini değiştiren EMS, gelişen hücrelerin mutasyonunda kullanılır (Balık ve Akat, 2012).

Kimyasal mutagenler arasında EMS (Etil metansülfonat), en etkili mutagen olarak kabul edilmektedir (Minocha ve Arnason, 1962). Yüksek gen mutasyonlarına ve düşük kromozom anormalliklerine sebep olduğundan, bitki ıslahında yaygın olarak kullanılan alkali gruplu kimyasal bir maddedir (Van Harten, 1998). Bitkilerde kullanılan EMS genellikle nokta mutasyonlarına ve bir kromozom parçasının kaybına neden olabilmektedir (Okagaki vd., 1991).

Etil metansülfonat'ın (EMS) moleküler formülü $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{C}_2\text{H}_5$ molar kütle ağırlığı 124.16 g/mol, yoğunluğu 1.1452 g/cm³ (22 °C), erime noktası < 25 °C ve kaynama noktası 213-213.5 °C'dir (Anonymous, 2014a).

EMS, farklı türlerin *in vitro* eksplantlarına uygulanabilmektedir (Duron, 1992). Bitki doku hücrelerinde mutagenik etkisi mümkün olabilmekte ve bu hücrelere üniform olarak muamele edilebilmektedir. Kimyasal mutagenler fiziksel mutagenlerle karşılaştırıldığında; kimyasal mutagenlerin sipesifik ve olası mutasyon oluşturma kabiliyetleri daha fazladır. EMS, bazı küçük DNA bölgelerinde kaybolmaya ve diğer kromozomlarda yeniden oluşumlara neden olurken, DNA'yı alkillerek guaninin sitozin yerine timin ile baz çifti oluşturmaya sebep olmakta, sonuçta G:C baz çifti A:T'ye dönüşerek mutasyonu meydana getirmektedir (Vogel ve Natarajan, 1995; Greene vd., 2003)

Mutasyon ıslahında kullanılan mutagenler, bitkide oksin seviyesinde azalmaya (Girija ve Dhanavel, 2009), oksin sentezinin engellenmesine (Skoog, 1935) ve kromozom anormalliklerinin oluşmasına (Sparrow, 1961) neden olmaktadır

Yapılan araştırmalarda bitkilerde mutagenik uygulamaların çimlenme metabolizmasını (Avery ve Jain, 1996), fide gelişimini, ATP ve DNA sentezini geciktirdiği (Kumar ve Kumar Rai, 2007), enzim aktivitesini değiştirebildiği ifade edilmiştir (Kurobane vd., 1979).

Patates üzerine somaklonal varyasyon ile ilgili araştırmalar ilk defa 1990'lı yıllarda yayınlanmıştır (Cassells vd., 1991; Taylor vd., 1993; Jelenic vd., 2001).

Kullanılan bitki türleri somaklonal varyasyonda farklı tepkiler gösterebilmektedir (Ryan vd., 1987). Bazı bitkilerde mutasyonun görülmesi çok düşük iken, bazılarında yüksek olmaktadır. Yapılan araştırmalarda patates çok kolay bir şekilde mutasyona uğramaktadır (McCoy vd., 1979).

Bitki genotipi özellikle patatestte, somaklonal rejenerasyon ve frekansı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Yapılan araştırmalarda belirli koşullarda farklı çeşitlerin rejenere sayısında önemli farklılıklar gözlenmiştir (Gunn ve Shepard., 1981).

Patatestte doku kültürü ile ortaya çıkarılan varyasyonlarda, bitki morfolojisi, yumru karakterleri, hastalıklara dayanıklılık, yumru proteinleri ve kromozom sayısı ve yapısı gibi çok sayıda karakter gözlenmiştir (Jelenic vd., 2001; Thieme ve Griess, 2005).

Patatestte somaklonal varyasyon en çok kallus ve süspansiyon kültürlerinden elde edilirken, meristem gibi organize olmuş bitki parçalarından somaklonal varyasyon frekansı düşük kalmıştır (Afrasiab, 2006). Besi ortamının katı ve sıvı olması da varyasyon oluşumunu etkilemektedir. (Singh ve Harvey, 1975).

Berljak (1991), protoplastlar, sap ve yumru dokusunun kallus kültürlerinden rejenere olmuş patates bitkileri arasında somaklonal varyasyonu incelemiş, ilk rejenerantların birçoğunun Bintje çeşidine ait donör bitkilerden farklı olduğunu gözlemlemiştir. Genellikle bu farklılıkların görünüm, boy, yaprak büyüklüğü ve şekli, yumruların kabuk rengi, şekli, büyüklüğü ve sayısı olduğu ifade edilmiştir. Yapılan araştırmada oluşan yumruların kabukları genelde beyaz, bir kısmı da yeşil ve mor renkli olmuştur.

Farklı patates çeşitleri üzerinde yapılan bir çalışmada *in vitro*da sap ve yaprak eksplantlarından somaklonallar üretilmiş, daha sonra yaklaşık olarak 13000 adet somaklonal bitki sera ve araziye şaşırtılmıştır. Araştırmada bitkiler arasında agronomik özellikler bakımından önemli varyasyonlar meydana geldiği, bu varyasyonların çeşitler arasında önemli farklılıklar oluşturduğu belirtilmiştir. Ayrıca bitkiler *in vitro*da % 20, serada % 13 ve arazide % 5 oranında seleksiyon ile kolayca elimine edilmiştir (Thieme ve Griess, 1996).

Yine üç patates çeşidi (Spunta, Diamant ve Desiree) üzerine yapılan bir çalışmada, yaprakçık, yumru gözleri, nod ve kalluslar somaklonal varyasyon için

kullanılmıştır. Araştırmada çeşitlerin eksplant kaynaklarına tepkilerinin farklı olduğu belirtilmiştir. Yumru gözleri ve kallusların kullanımı yaprakçık ya da nodların kullanımına göre fazla sayıda yaprak meydana getirmiştir. Nod veya kallus kültürlerinden rejenere olan bitkiler diğer eksplantlardan rejenere olanlara göre daha yüksek sayıda mikro yumru oluşturmuştur. Sitolojik çalışmalar incelendiğinde, yumru gözlerinin kullanıldığı Diamant çeşidinde metafaz safhasında anormallikler gözlenmiştir. Tüm patates çeşitlerinde de telofaz safhasında kromozomal anormallikler belirlenmiştir (Alphonse vd., 1999).

Jelenic vd. (2001), Bintje patates çeşidinin farklı bitki kısımlarından (sap ve yumru) elde edilen 9 somaklonların hepsinde morfolojik ve sitolojik kimeraların meydana geldiğini gözlemiş ve bu kimeralar genellikle dış görünüş, yaprak morfolojisi ve yumru karakterlerinde ortaya çıkmıştır.

Patates çeşitleri (Nif ve Granola) ve klonlarının (106 ve 122) kullanıldığı bir araştırmada, somaklonal varyasyon oluşumu incelenmiştir. Meristem kültüründen elde edilen bitkiciklerin nodları kallus ve rejenerasyon ortamlarında çoğaltılmış, elde edilen bu bitkicikler saksılara ve sonra fide yataklarına aktarılmıştır. Bitki boyu, sap sayısı, dal sayısı ve yaprak sayısı bakımından değerlendirme yapılmıştır. Dikkate değer somaklonal varyasyon, yumru verimi bakımından Nif ve Granola çeşidinde ve Clon 122’de; yumru sayısı bakımından Nif çeşidi ve Clon 106’da; sap sayısı bakımından Nif ve Granola çeşidinde, Clon 106; yaprak sayısı bakımından ise Granola ve Clon 106’da gözlenmiştir (Yıldırım vd., 2003).

Ayçiçeğinde genetik varyabilite oluşturmak amacıyla ZI-809 ve ZI-95 hatlarının 9-10 günlük ve 14-15 günlük olgun embriyolarına 16 saat süreyle % 0.02 dozunda EMS uygulanmış ve bu tohumlar *in vitro*da bitkicik oluşumuna kadar kültüre alınmıştır. Araştırma sonucunda genel olarak EMS uygulaması M₁ generasyonunda canlı kalma oranını azaltmıştır. Genç embriyolardan (9-10 günlük) gelişen bitkilerin canlı kalma oranı daha düşük olmuş ve bitkiler araziye şaşırtılmadan önce ölmüştür. Bitkilerde meydana gelen mutasyon tipleri klorofil

eksikliği, zarar görmüş kotiledon, anormal yaprak, yapraklarda gelişme sezonunun sonunda sarımsı yeşil lekeler, dallanmış ve yatık gövde, çiçek durumunda ise anormal çiçek parçaları ve generatif organlar, tohum kabuğunda kahverengi-kırmızı renk oluşumu olarak ortaya çıkmış ve fizyolojik mutasyonlarda ise erken ve geç çiçeklenme gözlenmiştir (Soroka ve Lyakh, 2009).

Hastalıklara dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi bitki ıslahında önemli olmaktadır. Ancak bu özelliğin elde edilmesi uzun zaman almakta ve ayrıca istenmeyen karakterler ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle, somaklonal varyasyon zamanı kısaltma açısından özel bir öneme sahiptir. Somaklonal varyasyonlardan yararlanılarak şeker pancarında *Helminthosporium sacchari*'ye (Larkin ve Scowcroft, 1983), yoncada *Fusarium oxysporum*'a (Hartman vd., 1984), patatesten *Phytophthora infestans*'a (Behnke, 1980) ve yulafta *Helminthosporium victoriae*'ye (Rines ve Luke, 1985) dayanıklı bitkiler geliştirilmiştir.

Soya fasulyesinde, somatik embriyogenik süspansiyon kültürlerine 0, 1, 3, 10 ve 30 mM'lık farklı dozlarda EMS uygulanmış, kullanılan konsantrasyona bağlı olarak ortalama hayatta kalan embriyonik kültür oranı % 43-73 arasında değişmiştir. Kültürlerin hayatta kalma oranı 30 mM'lık EMS uygulaması ile azalmıştır (Nicolle vd., 2003).

Aromatik bitki olarak bilinen tefarik (*Pogostemon patchouli* Pellet.) bitkisinde gelişme, verim ve yağ kompozisyonu üzerinde EMS'nin etkileri incelenmiş, *in vitro*da geliştirilen kalluslar % 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 dozlarında EMS solusyonunda 1 saat süreyle bekletilmiştir. Muamele yapılan kalluslardan elde edilen bitkiler yetiştirilmek üzere kontrollerle birlikte arazi koşullarına aktarılmıştır. Araştırma sonucunda gelişme parametreleri incelendiğinde; % 0.3 EMS solusyonunda bekletilmiş kalluslardan gelişen bitkiler, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında bitki boyu, dal sayısı ve yaprak alanında azalma olmuştur. EMS'nin maksimum konsantrasyonunda hayatta kalma oranı % 50 olarak belirlenmiştir. Ele alınan verim parametreleri incelendiğinde; drog verimi artan

EMS konsantrasyonlarında azalmış, yağ içeriği ve verimi ise artmıştır (Ramachandra vd., 2008).

Wang vd. (2009), Glayöl (*Gladiolus hybridus*) bitkisinde EMS kullanarak M₁ generasyonunda mutasyon oluşturmaya çalıştıkları araştırmalarında, soğan tomurcuklarına % 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1.0 dozlarında EMS uygulamışlar, araştırma sonucunda, doz artışıyla birlikte varyasyonlarda ilk olarak artış görülmüş daha sonra azalmıştır. Denemede RAPD analizlerine göre en yüksek varyasyon, % 0.6 EMS uygulamasında elde edilmiştir.

Gong vd. (2010), *Gladiolus hybridus* (Hort) bitkisinde yaptıkları bir araştırmada, tomurcuklara 5 farklı dozda EMS (% 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1.0) uygulamışlar ve M₁ generasyonunda EMS'nin mutagenik etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, % 1.0 EMS dozunda en fazla mutagenik varyasyonun meydana geldiği bildirilmiştir.

Roychowdhury vd (2012), maş fasulyesinde (*Vigna radiata* L. Wilczek) EMS'nin etkilerinin incelendiği bir araştırmada, maş fasulyesinin saf hatlarının tohumlarına % 0.2, 0.4, 0.6 ve 0.8 dozunda EMS uygulamışlar ve kontrollerle birlikte araziye ekimini yapmışlardır. Araştırmada genetik parametrelerle ilişkili çeşitlilik EMS uygulamalarında kontrol grubundan daha yüksek olmuş; yine fenotipik ve genotipik varyasyon katsayısı değerleri, kalıtım ve beklenen genetik ilerleme kontrole göre EMS uygulanan popülasyonda artmıştır.

Mısırda 6 farklı hattın (CM-135, CM-136, CM-137, CM-138, CM-142 ve CM-213) tohumlarına 3 farklı sürede (3, 5 ve 7 saat) ve % 5'lik dozda EMS'nin uygulandığı bir çalışmada; çok sayıda kromozom anormallikleri, erken hareketlilik, yapışma, univalent köprüler gibi değişiklikler gözlenmiş, bütün mısır hatlarında 7 saat EMS uygulamasında yüksek oranda kromozom anormallikleri ortaya çıkmıştır. Morfolojik karakterlerden çimlenme oranı, uygulama süresi attıkça sürekli azalma eğiliminde olmuş, CM-136 mısır hattında kontrol grubunda % 91.2 iken 7 saatlik uygulama sonunda % 79.9'a kadar azalmıştır. Bitki boyu bakımından yine uzun

sürelerde EMS uygulaması olumsuz etki yaparken bazı bitkilerde ise hafif oranlarda bitki boyunda artışa neden olmuştur (Kumar ve Kumar Rai, 2007).

Luan vd. (2007), tatlı patatesten *in vitro*da oluşan kalluslara % 0.5 konsantrasyonunda 0, 1, 1.5, 2, 2.5 ve 3 saat süreyle EMS uygulamışlardır. Çalışmada EMS uygulama sürelerinin bitkicik gelişimini önemle derecede etkilediği belirtilmiştir.

Farklı muz çeşitlerinde mutasyon elde etmek amacıyla EMS, 3 farklı doz (150, 200 ve 250 mM) ve sürelerde (30 ve 60 dk) sürgün uçlarına uygulanmıştır. Varyans analiz sonuçlarına göre, eksplant başına ortalama sürgün sayısı ve taze ağırlık özellikleri EMS dozlarından etkilenmiş ve uygulama zamanı önemli farklılıkların oluşmasına neden olmuştur. Rejenere olmamış eksplant oranı en yüksek Rastali çeşidinde 30 dk ve 200 mM EMS uygulamasında, Berangan Intan ve Berangan çeşidinde ise 60 dk-250 mM ve 30 dk-200 mM EMS uygulamasında ortaya çıkmıştır. Kültürden 3 ay sonra fenotipik varyasyon oranı, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (60 dk-200 mM ve 30 dk-250 mM EMS uygulanan sürgün uçlarında) % 10-14 artmıştır (Bidabadi vd., 2012).

Jabeen ve Mirza (2002), *Capsicum annum*'da EMS'nin farklı dozlarının etkisini inceledikleri araştırmada; biber tohumlarına % 0.01, 0.1 ve 0.5 dozunda 3 ve 6 saat süreyle EMS uygulanmışlar, sonuçta 6 saatlik % 0.5 EMS uygulamasının yüksek oranda toksik etki yaptığı ve çimlenmeyi olumsuz etkilediği ortaya konulmuştur. Ayrıca kontrole göre uygulama dozları ve süreler attıkça çimlenme oranında düşüşler görülmüştür. Yine klorofil içeriği, çiçeklenme ve meyve bağlama gün sayısı özelliklerinde maksimum varyasyon % 0.5, minimum varyasyon ise % 0.1 ve 3 saatlik EMS uygulanmalarından elde edilmiştir.

Sabetta vd. (2011), ayçiçeği üzerinde yaptıkları çalışmada, EMS'nin çimlenme üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışmada GV342 kendilenmiş hatlarından elde edilen tohumlara % 0.5, 0.7, 1 ve 1.5 dozunda 3 ve 6 saat sürelerde EMS uygulanmıştır. Çalışmada, sadece 3 saat'lik % 0.5 ve 0.7 EMS uygulaması kontrole

göre çimlenme oranında önemsiz sayılabilecek farklılıklara sebep olmuştur. EMS'nin yüksek dozunda çimlenme oranında önemli seviyede azalma meydana gelmiştir.

Svetleva ve Crino (2005), fasulye'de mutagen uygulamalarının etkilerini araştırmak üzere petiollere $2.5 \cdot 10^{-2}$ M EMS (Etil metansülfonat) ve $6.2 \cdot 10^{-3}$ M ENU (N-nitroza-N'-etil üre) mutagenlerini 15, 30, 60 ve 90 dk süreyle uygulamışlardır. Uygulama sürelerinin kallus gelişimi üzerine önemli etkilerinin olduğu 60 ve 90 dk EMS ve ENU uygulamalarının kallus gelişimini engellediği, 30 dk EMS ve ENU uygulamalarının ise teşvik ettiği, 15 dakikalık EMS ve ENU uygulamalarının ise kallus oluşumunu tetiklediği ortaya konulmuştur. Genel olarak bakıldığında, kallus gelişmesi üzerine en çok ENU mutageni engelleyici rol oynamıştır.

Muz bitkisinin sürgün uçlarına 30 ve 60 dakika süreyle uygulanan farklı EMS (100, 200 ve 300 mM), NaN_3 (1.1, 2.3 ve 4.6 mM) ve DES (10, 20, 25 mM) dozlarının etkilerinin incelendiği bir araştırmada, genel olarak artan EMS dozlarının yaş ağırlıkta düşüslere neden olduğu belirlenmiştir. Yine uygulama sürelerinin artışı ile sürgün canlılığında azalma olduğu ortaya konulmuştur (Bhagwat ve Duncan, 1998).

Karanfil bitkisinde farklı dozlarda tohum ve yaprağa uygulanan kimyasal mutagenlerin etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada; tohumlara 2 farklı zamanda (4 ve 6 saat) ve dozlarda (% 0.5 ve % 1.0) kolçisin ve EMS; yapraklara da spreyleme şeklinde % 0.1, 0.4 ve 0.7 dozlarında kolçisin, EMS ve Maleik hidrazid (MH) solusyonları püskürtülmüştür. Araştırma sonucunda yapraktan uygulama tohum uygulamalarından daha iyi sonuçlar vermiş ve kolçisinin özellikle % 0.4 konsantrasyonunda yapraklardan uygulanması çiçek sayısını artırmıştır. Kolçisinin bu etkisi EMS uygulamasında tersine sonuç vermiştir. Kolçisin ve EMS uygulaması için benzer sonuçlar çiçek sayısı, petal uzunluğu ve tohum ağırlığı bakımından ortaya çıkmış, MH uygulaması ise bu özellikler bakımından olumsuz etkide bulunmuştur. Diğer yandan tohum uygulamalarında farklı konsantrasyon ve

sürelerde sadece EMS'nin etkisi görülmüş ve en iyi sonuçlar 4 saat % 1.0 EMS ve 6 saat % 0.5 EMS uygulamalarından elde edilmiştir (Roychowdhury ve Tah, 2011).

Tıbbi bitkiler grubuna giren saparna bitkisi (*Hemidesmus indicus*) üzerinde mutagenlerin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada *in vitro*da yaprak eksplantından elde edilen 21 günlük kalluslara 0, 0.5, 1.0, 2.0 ve 3.0 krad gama ışınları uygulanmış ve MS+2 mg/l NAA, 0.5 mg/l KN içeren katı besi ortamına transfer edilmiştir. Kimyasal mutagen uygulamaları için MS sıvı besi ortamına 2 mg/l NAA, 0.5 mg/l KN hormon ve mutagen olarak EMS ve sodyum azid (% 0, 0.05, 0.10, 0.25 ve 0.50), ayrıca kolçisin (% 0, 0.10, 0.15, 0.20 ve 0.25) eklenmiş ve kalluslar modifiye edilmiş besi ortamında 2 saat süreyle çalkalanarak (100 rpm) mutagenlerle muamele edilmiştir. Uygulama yapılan kalluslar distile su ile sterilize edilmiş ve MS+2 mg/l NAA ve 0.5 mg/l KN içeren besi ortamında 3 hafta süreyle kültüre alınmıştır. Araştırmada EMS'nin % 0.10'dan % 0.50'ye kadar değişen konsantrasyonlarında kallus gelişimi azalmıştır. Kolçisinin % 0.10'dan % 0.20'ye kadar değişen dozlarında kallus gelişimi üzerine artırıcı etkisi, % 0.25 dozunda ise zarar verici etkisi gözlenmiştir. Sodyum azidin düşük konsantrasyonlarda (% 0.05 ve 0.10) kallus gelişmesini teşvik ettiği, fakat yüksek konsantrasyonlarda ise (% 0.25 ve 0.50) gelişme indeksinin kontrolden daha az olduğu ortaya konulmuştur (Misra ve Mehrotra, 2006).

Soya fasulyesi populasyonlarına uygulanan gama ışınları ve EMS'nin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, CO1 ve CO2 soya fasulyesi çeşitlerine ait tohumlara 5 farklı dozda gamma ışınları (20, 30, 40, 50 ve 60 kR) ve EMS (5, 10, 15, 20 ve 25 mM) uygulanmıştır. Her iki genotipte de artan dozlarda mutasyon uygulamaları ile birlikte çimlenme ve hayatta kalma kriterlerinde azalma gözlenmiştir. M₁ generasyonunda dikimden 30 gün sonra her iki çeşitte de artan mutagen dozlarında bitki boyu ortalamaları, bitkide boğum sayısı, bakla sayısı, tohum sayısı, 100 tohum ağırlığı, polen ve tohum kısırlığında azalma meydana gelmiştir (Karthika ve Subba Lakshmi, 2006).

Kavithamani vd. (2008), soya fasulyesinde (*Glycine max* (L.) Merrill) mutajenik

etkinlik üzerine gama ışınlarının ve EMS'nin etkilerini inceledikleri araştırmalarında; Himso 1563 ve TS 82 çeşitlerinin üniform tohumlarına 10, 20, 30, 40 ve 50 kR dozunda gama ışınlarını ve 5, 10, 15, 20 ve 25 mM dozunda EMS'yi uygulamışlardır. M₂ generasyonunda biyolojik parametrelerde önemli farklılık ortaya çıkmış, polen fertilitite oranı artan dozlarda azalma göstermiş, en düşük polen fertilitesi TS 82 çeşidinde 50 kR gama ışını uygulamasında (% 33.86), yine en düşük tohum fertilitesi Himso 1563 çeşidinde 25 mM EMS dozunda (% 43.60) elde edilmiştir. En yüksek mutagenik etkinlik her iki çeşitte de 50 kR gama ışını uygulamasında görülmüştür. Çalışmada, klorofil mutantları oluşumunda gama ışınları daha etkili olmuştur. Uygulamaların çoğunda mutagenik etkinlik artan dozlarda artış göstermiş, her iki mutagende de doz artışı bitkide kısırlık oranını artırmıştır.

Börülce bitkisinde (*Vigna unguiculata* L. Walp) gama ışınları, EMS ve her iki mutagenin kombinasyonlarının mutajenik etkilerinin incelendiği bir çalışmada, 300 adet tohuma 5-10-15-20 ve 25 mM EMS, 15-20-25-30 ve 35 kR dozlarında gama ışınları ve her iki mutagenin kombinasyonlarında ise yine 300 adet tohumun her birine aynı gama ışınları ve ardından sadece EMS'nin 15 mM dozu uygulanmıştır. Mutasyon frekansı, kombine uygulamalarında tek olarak gama ve EMS uygulamalarına göre daha etkili olmuştur. Ölüm oranında en yüksek mutajenik etkinlik 15 mM EMS (7.43) ve en düşük 35 kR gama ışınlarında (1.73); zarar üzerinde maksimum mutajenik etkinlik yine 15 mM EMS (10.52), minimum ise 35 kR gama ışınlarında ortaya çıkmıştır. Yapılan araştırmada bitki boyundaki uzun ve cüce mutasyonlar maksimum 25 kR gama ışını uygulamasında, yaprak mutantları maksimum 20 kR gama ışını + 15 mM EMS kombine uygulamasında, bitkide uzun bakla, tek tohumlu gibi bakla mutantları en yüksek 25 kR + 15 mM kombine uygulamasında, kahverengi ve beyaz renkli tohum mutantları tüm mutajenik uygulamalarda, erken ve geç olgunlaşma gibi fizyolojik mutantlar maksimum 15 mM EMS dozunda ortaya çıkmıştır (Girija ve Dhanavel, 2009).

Maş fasulyesi çeşitlerinde (K-851 ve PS-16) mutasyon oluşturmak amacıyla EMS ve gama ışınlarının kullanıldığı bir diğer çalışmada, tohumlar 6 saat süreyle % 0.1

ve 0.2 EMS ve 20 ve 40 kR gama ışınlarına maruz bırakılmıştır. Araştırma sonunda; M_1 ve M_2 generasyonunda her iki çeşitte de artan dozda gama ışınları uygulaması tohum çimlenmesinde, EMS uygulaması ise polen fertilitesinde engelleyici etkide bulunmuştur. Ayrıca M_2 generasyonuna doğru ilerledikçe mutagen etkilerinde azalmalar görülmüştür. M_4 ve M_5 generasyonlarında yapılan incelemelerde; bitki başına dal sayısı, bakla sayısı ve tohum verimi bakımından çeşitler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; K-851 çeşidinde her iki EMS dozunda ve 40 kR gama ışınları, PS-16 çeşidinde ise % 0.1 EMS ve 20 kR gama ışınları uygulamalarında önemli seviyede artış ortaya çıkmıştır (Khan ve Goyal, 2009).

Vigna mungo (L.) bitkisinde mutagenik etkinliğin araştırıldığı bir diğer çalışmada; Vamban-1 çeşidinin tohumlarına fiziksel ve kimyasal mutagen olarak gama ışınlarının (20, 40, 60, 80, 100 kR) ve EMS'nin (5, 10, 15, 20 ve 25 mM) 5 farklı dozu 6 saat süreyle uygulanmıştır. Biyolojik zarar olarak M_1 ve M_2 generasyonlarında fide zararı ve öldürücü özellikler değerlendirilmiştir. Genel olarak, mutasyon frekansı her iki mutagen uygulamasında M_1 'de M_2 'den daha yüksek olmuştur. Her iki generasyonda klorofil mutantları ve yaşayabilir mutant tipler (cüce, uzun, zayıf yaprak, yayılan ve çalimsı tip) ortaya çıkmıştır. Çalışmada, EMS uygulamaları düşük biyolojik zarar ve yüksek mutasyon oluşumunda daha etkili olmuştur. Klorofil mutasyonları her iki mutagen uygulamalarının tüm dozlarında da ortaya çıkmış ve frekansı 20-60 kR gama ışınlarında ve 5-15 mM EMS uygulamalarında M_1 ve M_2 de artış göstermiştir (Thilagavathi ve Mullainathan, 2009).

Kavithamani vd. (2010), soya fasulyesinde protein ve lif içeriği üzerine mutagenlerin etkilerini incelemişler ve araştırmada Himso 1563 ve TS 82 çeşitlerinin tohumlarına gama ışınlarının 10, 20, 30, 40 ve 50 kR ve EMS'nin 5, 10, 15, 20 ve 25 mM dozlarını 6 saat süreyle uygulamışlardır. Araştırma sonucunda; mutagen etkilerinin çeşide ve doza bağlı olarak değiştiği, protein içeriği hariç diğer parametreler (bitki boyu, bitkide bakla sayısı, bakla uzunluğu, bitkide tohum sayısı ve verimi gibi) bakımından kontrole göre uygulamaların olumsuz etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Soya fasulyesinde gama ışınları, EMS ve kombinasyonlarının etkilerinin incelendiği bir diğer araştırmada, iki çeşit soya fasulyesinin (Pusa-16 ve PK-1042) tohumları 3 farklı dozda (% 0.1, 0.2 ve 0.3) EMS solusyonuna ve yine 3 farklı konsantrasyonda (15, 30 ve 45 Kr) gama ışınlarına maruz bırakılmıştır. Ayrıca yönteme ek olarak, gama ışınları uygulanmış 100 adet tohuma ayrıca 8 saat süreyle % 0.2 oranında EMS uygulanmıştır. Genel olarak klorofil mutasyon frekansı gama ışınları ve kombine (gama ışınları + EMS) uygulamalarında yüksek oranda ortaya çıkmıştır. Çalışmada, en yüksek mutagenik etkinlik gama ışınlarından daha çok EMS uygulamalarında belirlenmiştir (Khan ve Tyagi, 2010).

Yine mutasyon elde etmek için ayçiçeğinde yapılan çalışmada, çok sayıda inbred hat kullanılmıştır. Her bir hat için fiziksel mutagen olarak 50 tohuma 100-200-300-400-500 Gy dozunda kobalt 60, diğer 50 tohuma ise 10-20-30-40 Gy dozunda nötron ve kimyasal mutagen olarak ise her bir hattın 25 tohuma 3.5 saat süreyle % 0.5-1-1.5-2-2.5 dozlarında EMS uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre 1000-tane ağırlığını gama ışını, nötron ve EMS olumlu yönde; tohum büyüklüğünü EMS olumlu ve önemli ($r=0.38^*$), gama ve nötron uygulaması ise olumsuz etkilemiştir. Yağ içeriği bakımından gama ışını önemli derecede olumsuz ($r=-0.69^{**}$), yine diğer nötron ve EMS uygulaması önemli derece olumsuz (sırasıyla $r=-0.37^*$; $r=-0.39^*$), bitki boyu EMS uygulamasında olumlu korelasyon belirlenmiştir. Bitki boyu gama ışını uygulamasında olumsuz, önemli ($r=-0.39^*$) ve nötron uygulaması arasında ise olumsuz ilişki ($r=-0.20$) belirlenmiştir. Çiçeklenme (gün) nötron ve EMS uygulaması arasında olumsuz ve gama ışınları uygulamasında ise önemli ve olumsuz korelasyon ($r=0.41^*$) saptanmıştır. Bu sonuçlara göre mutagenik etkiden dolayı radyasyon zararı genotipler arasında farklılık göstermiştir. Tohum büyüklüğü arttıkça, tohumun EMS uygulamasına dayanıklılığı gama ve nötron uygulamasına göre daha fazla olmuştur. Elde edilen sonuçlarda mutasyon zararı, çeşidin biyolojik özelliklerine göre değişim göstermiştir (Cvejić vd., 2011).

Somaklonal varyasyon fenotip, kromozom sayısı ve yapısı, proteinler veya bitkilerin direk DNA'larının değerlendirilmesiyle incelenebilmektedir (De Klerk,

1990). Elde edilen varyasyon tipleri türden türe farklılık gösterebilmekte ve genetik yapısını belirlemek zor olmaktadır (Saunders vd., 1992). Bu nedenle fenotipik ve sitolojik/moleküler seviyedeki değişimler arasındaki ilişki göz önüne alınmalıdır (De Klerk, 1990).

Somaklonal varyantlar bitkide morfolojik gözlemler (Rietveld vd., 1993; Arihara vd., 1995), mikrosatellit markırları (Albani ve Wilkinson, 1998), RAPD yöntemi (Bordallo vd., 2004; Ehsanpour vd., 2007), kromozom sayımı ve AFLP yöntemi (Sharma vd., 2007) ile belirlenebilmektedir.

Mutant bireylerin moleküler düzeyde belirlenmesinde, biyokimyasal markırlar ve DNA markırları yaygın olarak kullanılmaktadır. DNA markır sisteminin seçimi; amaca göre, çalışılan bitki türüne, analiz için gerekli zamana ve maliyete bağlı olarak değişmektedir. Bitki türlerinde genetik varyasyonu ortaya çıkarmada uygun moleküler DNA tekniklerinden; polimorfizm bakımından SSR ve AFLP teknikleri, maliyet bakımından RAPD ve ISSR teknikleri, tekrarlanabilirlik bakımından RFLP, SSR, ISSR ve AFLP DNA tekniklerinin avantajlı oldukları (Powell vd., 1996), ayrıca RAPD ve ISSR yöntemlerinin radyoaktif madde kullanımının olmadığı ve koşulların sınırlı olduğu laboratuvarlarda rahatlıkla kullanılabileceği bildirilmiştir (Powell vd.,1996).

RAPD markırlarının az sayıda polimorfizm üretmesi, AFLP markırlarının gerek jel üzerinde çok sayıda bant verebilmesi, yüksek maliyeti ve primer sentezlenebilmesi için sekans bilgisini gerektirmesi, SSR markırlarının ise birçok çalışmada önemli kısıtlamalar oluşturması nedeniyle kullanımında sorunlar yaşanmaktadır. Ancak, ISSR markırları bu kısıtlamaların birçoğunun üstesinden gelmesi nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Zietkiewicz vd., 1994).

Ehsanpour vd. (2007), tarafından patates kalluslarına UV-C radyasyonu uygulanarak elde edilen somaklonal varyasyonun belirlenmesi amacıyla 28 adet RAPD ve 4 adet ISSR primeri kullanılmıştır. Araştırma sonucunda, ISSR tekniğinde

polimorfizm oranı yüksek olup, bu yöntemin somaklonal varyasyonu belirlemede etkili bir metot olduğu bildirilmiştir.

RAPD ve ISSR tekniği kullanarak genetik çeşitliğinin belirlendiği bir çalışmada, mısır hattı ve kalluslardan rejenere olmuş somaklonal mısırdaki 38 RAPD ve 10 ISSR primerleri kullanılarak, orijinal ve diğer mısır hatlarında somaklonalların belirlenebileceği bildirilmiştir (Osipova vd., 2003).

Wendt vd. (2001), tarafından yapılan bir çalışmada patatesteki internod ve yapraklara 0, 500, 1000, 1500 ve 2000 cGy'lık gamma radyasyonları uygulanmış ve bu eksplantlar farklı hormon içeren 2 adet MS ortamında kültüre alınmıştır. Moleküler analiz için 10 RAPD primeri kullanılmıştır. Bu primerler % 24 oranında polimorfik gösteren 70 fragment üretmiş ve 500 cGy uygulaması genetik ayırmada en yüksek varyasyonu ortaya koymuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırmada, tarla denemesi 2012 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi arazisinde sulanabilen koşullarda kurulmuştur. Laboratuvar çalışmaları ise 2009-2014 yıllarında Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'ne ait doku kültürü laboratuvarında ve Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü'ne ait moleküler ve genetik laboratuvarında yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Çalışmada Agria, Marfona ve Lady Olimpia patates çeşitleri kullanılmıştır.

Araştırmada kullanılan patates çeşitlerine ait bilgiler aşağıda verilmiştir.

Agria: Pedigri Quarta x Semlo olan Agria çeşidi (Anonymous, 2014b), orta-geçici bir çeşit olup, kuru madde oranı orta ve verimi çok yüksektir. Hızlı ve dikine gelişir. Pişirildikten sonra renk değişikliği görülmez ve cips üretimine uygun bir çeşittir. Bitki sapı oldukça az, kalın ve diktir. Yapraklar iri, sarkık ve rengi koyu yeşildir. Ana yapraklar enli, yüzeysel damarlıdır. Çiçekler beyaz renkli, iri ve boldur. Yumru şekli uzun-oval, tümüyle pürüzsüz ve kabuğu sarı renktedir. Yumru üzerindeki gözler yüzlek, et rengi sarıdır (Er ve Uranbey, 1998). A virüsüne ve Yⁿ virüsüne dirençli, yaprak mantarlarına orta derecede ve yumru mantarlarına az hassas, X virüsüne bağışıklıdır (Anonim, 2014a).

Marfona: Primura x (Craigs Bounty x Profij) = Konst pedigri bilgisine sahip olan (Anonymous, 2014c) Marfona, orta erkenci bir çeşit olup, kuru madde oranı düşük, verimi çok yüksektir. İlk gelişimi hızlı, kurağa dayanıklılığı iyidir. Pişirildikten sonra renk değişikliği görülmez. Oldukça sıkı bünyelidir. Bitki sapı oldukça kalın, az sayıda ve hafif yatıktır. Yaprakları iri, rengi koyu yeşildir. Ana yaprakçıklar oval ve iri, derin damarlıdır. Beyaz çiçek rengine sahiptir. Yumru şekli kısa ve oval, orta derin gözlü, kabuk pürüzsüz ve açık sarı, et rengi de açık sarıdır. Bu patates çeşidi siğile bağışıklık

özelliğine sahip olup, yaprak ve yumru mantarlarına hassas, A virüsüne dayanıklı, Yⁿ virüsüne ise tam dayanıklıdır (Er ve Uranbey, 1998).

Lady Olimpia: Avrupa soy kütüklerine kayıtlı ve Agria x KW 78-34-470 pedigrilidir (Anonymous, 2014d). Çok geçci bir çeşittir. Bitki boyu çok uzun ve büyüme şekli yarı dik, çiçek rengi beyazdır. Yumru kabuk rengi ve et rengi sarı, yumru şekli oval, göz derinliği çok yüzeyseldir. Pişirme sonrası renk açık sarı olup, parmak patatese uygundur (Anonim, 2014a). Homojen yumrulu ve yüksek verimli bir çeşittir. En önemli özelliklerinden birisi de düşük sıcaklıkta uzun süre depolanmasıdır. X ve Y-virüsüne dayanımı yüksek, patates yaprak kıvrıcılığı virüsüne ise duyarlıdır (Anonim, 2014b).

3.2.Yöntem

3.2.1. *In Vitro* ile İlgili Çalışmalar

3.2.1.1. Çalışmada kullanılan alet, ekipman ve malzemelerin sterilizasyonu

Çalışmaya başlamadan önce yumrulardan alınan eksplantların dikim yapıldığı ve besi ortamlarının konulduğu cam kavanozlar ve besi ortamlarının hazırlanmasında kullanılan saf su ayrıca petri kapları, bisturi, pens ve diğer malzemeler alüminyum folyaya sarılarak 121 °C'de ve 1.2 atmosfer basınç altında 15 dakika tutulmak suretiyle otoklavda sterilize edilmiştir. Dikime başlamadan önce steril çalışma kabini (laminar kabin) % 70'lik etil alkol ile silinmiş ve dikimden 30 dakika önce steril kabine ait UV ışınları ortam sterilizasyonu için çalıştırılmıştır.

3.2.1.2. Çalışmada kullanılan besi ortamlarının hazırlanması

Araştırmada EMS uygulanan sürgün uçlarından bitki rejenerasyonu oluşturabilmek için temel MS ortamının (Çizelge 3.1) mikro ve makro elementlerinin stok solusyonları kullanılarak besi ortamları hazırlanmıştır. Karbon kaynağı olarak 30 g/L sakkaroz, katılaştırıcı madde olarak 6 g/L agar besi ortamına ilave edilmiş (Uranbey,

2010) ve pH 5.8'e ayarlanmış, hazırlanan besi ortamları 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. EMS uygulanmış sürgün uçlarından bitki rejenerasyonu oluşumu için temel MS ortamına ek olarak Çizelge 3.2' de ki hormonlar kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Temel MS (Murashige ve Skoog, 1962) besi ortamının içeriği

Ortamda Bulunan Besin Maddeleri	Konsantrasyonu (mg/L)
Makro Elementler	
Amonyum Nitrat (NH_4NO_3)	1650.00
Potasyum Nitrat (KNO_3)	1900.00
Kalsiyum Klorür ($\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	440.00
Magnezyum Sülfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	370.00
Potasyum Dihidrojen Fosfat (KH_2PO_4)	170.00
Mikro Elementler	
Potasyum İyodür (KI)	0.83
Borik Asit (H_3BO_3)	6.20
Mangan Sülfat ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	2.30
Çinko Sülfat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	8.60
Sodyum Molibdat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.25
Bakır Sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.025
Kobalt Klorür ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0.025
Demir Sülfat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	27.85
Sodyum-EDTA ($\text{Na}_2\text{-EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	37.25
Organik Bileşikler	
Myo-İnositol	100.00
Glisin	2.00
Nikotinik asit	0.50
Tiamin-HCl (B_1 Vitamini)	0.10
Pridoksin-HCl (B_6 Vitamini)	0.50
L-Glutamin *	0.1 g/L

Çizelge 3.2. EMS uygulanan sürgün uçlarından bitki rejenerasyonu için kullanılan besi ortamları ve büyüme düzenleyicileri (Badoni ve Chauhan, 2010)

Besi Ortamı	Hormonlar	Miktar (mg/L)
MS + Vitaminler	GA ₃	0.1
	NAA	0.01
	Kinetin	0.01

3.2.1.3. Yumruların sterilizasyonu ve sürgünlerin kesimi

Yumrular 15-20 gün ışıktaki bekletilerek sürgün oluşturmaları sağlanmış ardından sürgün oluşturan yumrular yumuşak fırçalamadan sonra, toprak ve kirleri uzaklaştırmak için yıkanmış daha sonra 2-3 damla Tween-20 ile % 0.5 sodyum hipoklorit içeren solusyonda 15 dakika bekletildikten sonra su ile yıkanmıştır. Yaklaşık 10-25 mm uzunluğa ulaşmış olan sürgünler eksplant olarak kullanmak için bistüri yardımıyla alınıp, saf su içine konulmuştur.

3.2.1.4. Eksplantların sterilizasyonu

Yumru gözlerinden izole edilen sürgünlerin uçları 1-2 mm uzunluğunda kesilerek yüzey sterilizasyonu için steril kabin içerisinde % 15'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde (1-2 damla % 1'lik Tween-20 ilave edilmiş) 10 dakika süre ile sterilize edilmiş, daha sonra eksplantlar 5 kez steril su içinde yıkanarak, sürgün ucu kültürü için hazır hale getirilmiştir.

3.2.1.5. Patates sürgün uçlarına EMS uygulaması ve rejenerasyon ortamında inkübe edilmesi

Steril edilen 1-2 mm uzunluğundaki sürgün uçları 0, 100, 200 ve 300 mM EMS [Etil metansülfonat (SIGMA-moleküler ağırlık: 124.16; yoğunluk: 1.206)] solusyonunda 30, 60 ve 90 dakika süreyle bekletilmiş, ardından 3-5 kez steril saf su ile mutagen uygulanmış sürgünler durulanmış, daha sonra bu sürgünler bitki rejenerasyonu için litreye 6 g agar, 30 g süzkroz, 0.1 mg GA₃, 0.01 mg NAA, 0.01 mg kinetin ve 0.1 g glutamin eklenmiş, MS ortamında 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlıkta 22±2 °C sıcaklık ve 2000-3000 lüks ışık altında inkübe edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. İnkübasyon aşamasında bitkicik gelişim odası

3.2.1.6. Sürgün uçlarından elde edilen bitkiciklerin dış ortama aktarılması

Rejenerasyon ortamında 4-5 cm boya ulaşan bitkicikler içinde 1:1 oranında toprak ve torf bulunan saksılara şaşırtılarak dış koşullara uyumu sağlanmış ve daha sonra hasat zamanında morfolojik gözlemlerin yapılması (Yıldırım, 2002) için dış ortama aktarımları yapılmıştır.

3.2.1.7. *In vitro* koşullarda incelenen morfolojik gözlemler

*In vitro*da farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan sürgün uçlarından gelişen bitkiciklerin morfolojik gözlemleri 1 ay sonra alınmıştır

Bitkicik boyu (cm): *In vitro*da gelişen bitkiciklerin kök boğazından en üst tepe noktasına kadar olan mesafe cetvel yardımıyla cm birimiyle ölçülmek suretiyle belirlenmiştir.

Boğum sayısı (adet): Her bir besi ortamından çıkarılan bitkicikler üzerindeki boğumlar sayılarak bitkicik başına boğum sayısı adet olarak tespit edilmiştir.

Sap sayısı (adet): Besi ortamından çıkarılan bitkiciklerin sap sayıları adet olarak saptanmıştır.

Yan dal sayısı (adet): *In vitro*da gelişen bitkiciklerin yan dal sayıları adet olarak belirlenmiştir.

Yaprakçık sayısı (adet): Her bir besi ortamından çıkarılan bitkicikler üzerinde teşekkül etmiş olan yaprakçıklar sayılarak bitkicik başına yaprakçık sayısı adet olarak belirlenmiştir.

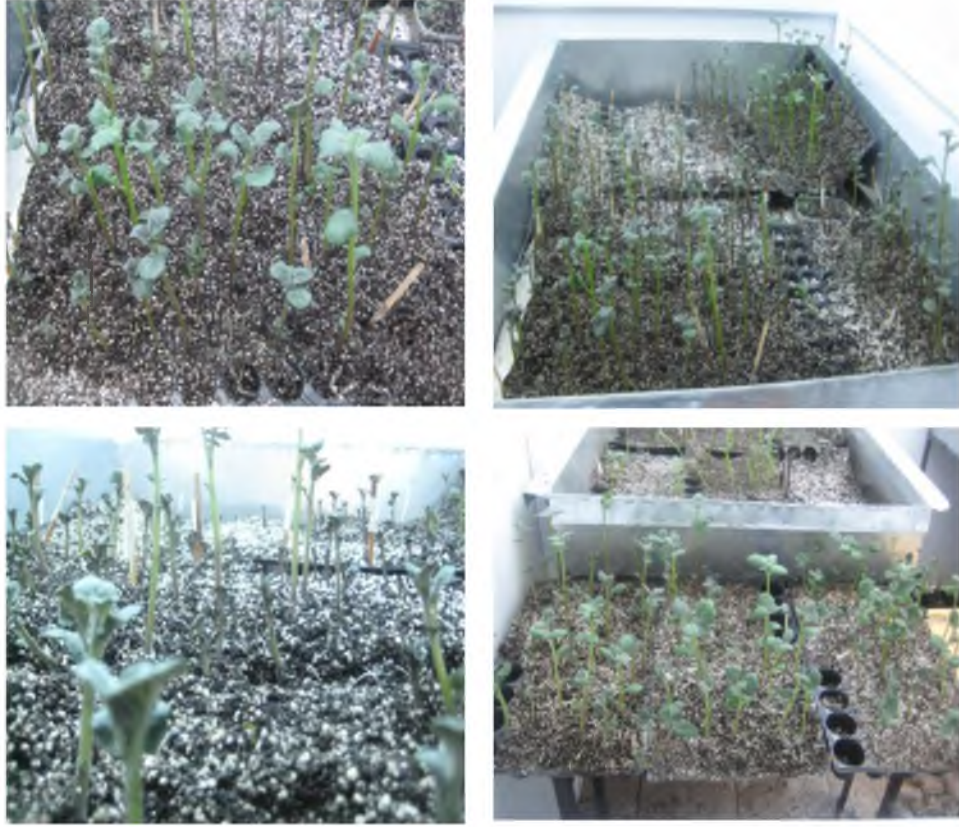
Kök sayısı (adet): *In vitro*da kök oluşumu sağlanmış olan bitkiciklerde kökler sayılarak bitkicik başına kök sayısı adet olarak saptanmıştır.

3.2.2. Dış Koşullar ile İlgili Çalışmalar

Araştırmada, tarla çalışması bir yıl yürütülmüştür.

3.2.2.1. Patates yumru gözlerine EMS uygulaması

Üç farklı patates çeşidine (Agria, Marfona ve Lady Olimpia) ait sağlıklı yumrunun bir gözü 3.5 g olacak şekilde bıçakla kesilmiştir. Her bir göz 4 farklı doz (% 0, % 0.2, % 0.4 ve % 0.6) ve 2 farklı sürede (daldırma ve 3 saat) 8 tekerrürlü olarak EMS solusyonu içinde çalkalayıcıda çalkalanmış, ardından musluk suyunda 3-5 defa durulanmış ve içinde hazır toprak bulunan viyollere dikilmiştir (Şekil 3.2). Yaklaşık 1.5 ay sonra gözlerden çıkan ve belirli bir boya ulaşan fideler araziye şaşırtılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.2. EMS uygulanan yumru gözlerinden fide oluşumu



Şekil 3.3. EMS uygulanan yumru gözlerinden oluşan bitkilerin tarladaki genel görünümü

3.2.2.2. Tarla koşullarında incelenen morfolojik gözlemler

Bitki boyu (cm): Tarla şartlarında tek bir gözden gelişen bitkilerin kök boğazından en üst tepe noktasına kadar olan mesafe metre yardımıyla ölçülmüştür.

Bitki başına sap sayısı (adet): Tarla şartlarında tek bir gözden gelişen bitkilerin sap sayıları boğaz doldurmadan önce adet olarak sayılmıştır.

Ocak başına küçük yumru sayısı (adet): Tarla şartlarında tek bir gözden gelişen bitkinin 30 mm'den küçük olan yumruları küçük yumru olarak ele alınmış ve sayıları adet olarak belirlenmiştir.

Ocak başına orta yumru sayısı (adet): Tarla şartlarında tek bir gözden gelişen bitkinin 30-50 mm arası olan yumruları orta boy yumru olarak değerlendirilmiş ve sayıları adet olarak saptanmıştır.

Ocak başına büyük yumru sayısı (adet): Tarla şartlarında tek bir gözden gelişen bitkinin 50 mm'den daha büyük olan yumruları büyük yumru olarak ele alınmış ve sayıları adet olarak kaydedilmiştir.

Ocak başına toplam yumru sayısı (adet): Tarla şartlarında tek bir gözden gelişen bitkinin toplam yumru sayıları adet olarak belirlenmiştir.

Ocak başına küçük yumru verimi (g): Tarla şartlarında tek bir gözden gelişen bitkilerin küçük yumru verimleri g olarak tespit edilmiştir.

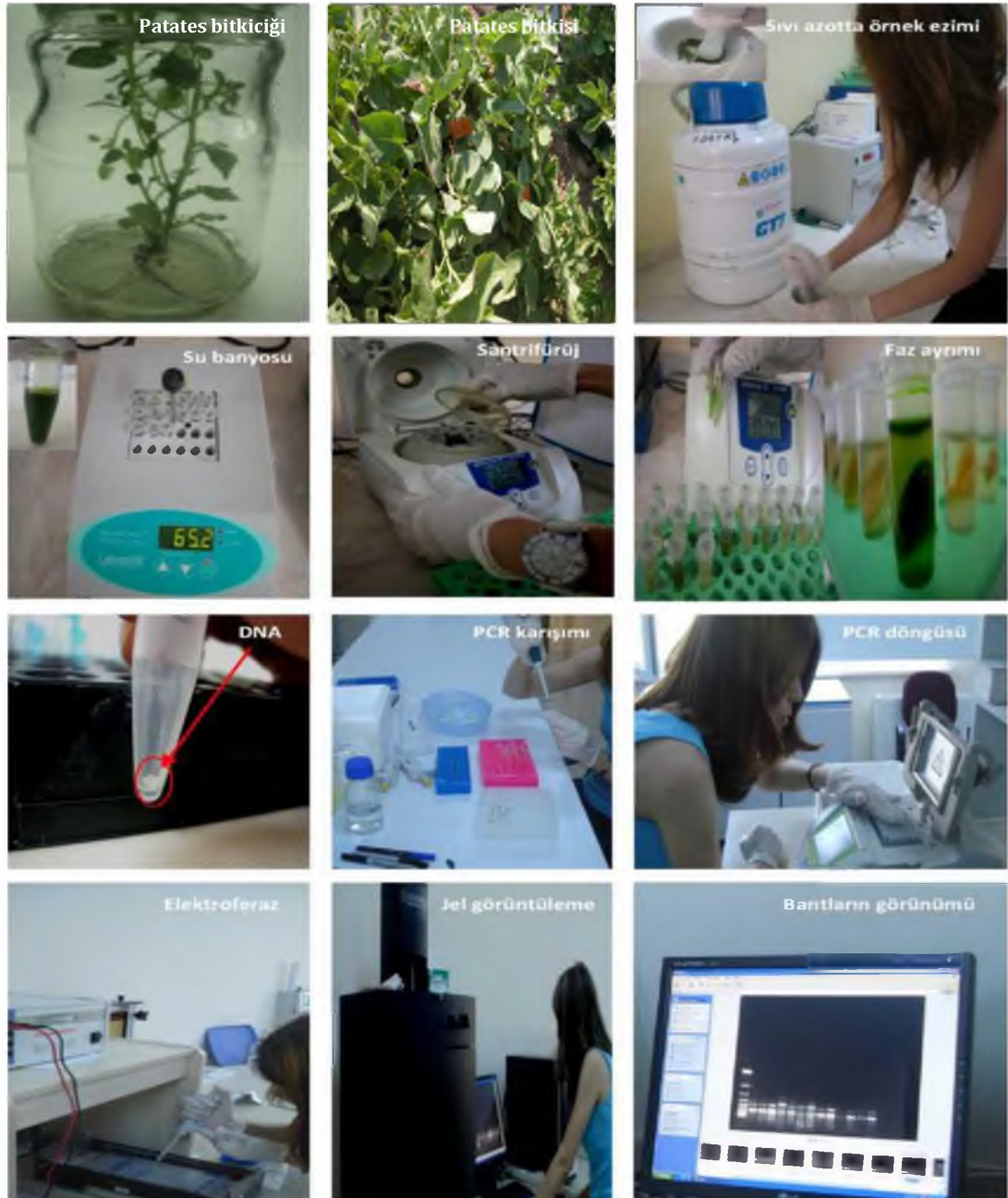
Ocak başına orta yumru verimi (g): Tarla şartlarında tek bir gözden gelişen bitkilerin orta boy yumru verimleri g olarak belirlenmiştir.

Ocak başına büyük yumru verimi (g): Tarla şartlarında tek bir gözden gelişen bitkilerin büyük yumru verimleri g olarak saptanmıştır.

Ocak başına toplam yumru verimi (g): Tarla şartlarında tek bir gözden gelişen bitkilerin toplam yumru verimleri belirlenmiştir.

3.2.3. Moleküler belirleyicilere ilişkin yöntemler

Araştırmada moleküler çalışmalarının tüm aşamaları Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü'ne ait Moleküler Genetik Laboratuvarı'nda yürütülmüştür (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Moleküler çalışmalardan görünüm

3.2.3.1. Genomik DNA izolasyonu

Farklı doz ve sürelerde EMS uygulanmış sürgün uçları ve yumru gözlerinden elde edilen bitkiler kontrol grupları ile birlikte genetik benzerliği moleküler belirleyicilerle saptamak amacıyla DNA izolasyon (Doyle ve Doyle, 1987) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde yaklaşık 0.1 g sıvı azotta ezilmiş örnekler (-80 °C'de saklanan) porselen havanda 0.7 ml (700 µl) CTAB ve 2.5 µl β-merkaptpetanol eklenerek tekrar ezilmiştir. Ezilen örnekler eppendorf tüpe konulmuş ve hafifce karıştırılmış daha sonra 60-65 °C'de 45 dk su banyosuna konulmuştur. Su banyosundan alınan örneklerin üzerine 0.7 ml kloroform: izoamilalkol (24:1) ilave edilmiş ve örnekler santrifüjde 14000 rpm'de 10 dk çöktürülmüştür. Santrifüj tamamlandığında tüplerin üst kısmındaki sıvı kısım, steril pipet aracılığıyla 400 µl alınarak yeni tüplere aktarılmış ve üzerine 32 µl amonyumasetat ve 233.28 µl izopropanol eklenmiş, hafifce karıştırıldıktan sonra -20 °C'de 30-40 dk bekletilmiştir. Buradan alınan tüpler 3.5 dk santrifüjlenmiş ve içerisindeki sıvı yavaşça dökülmüştür. Daha sonra üzerine 0.7 ml %70'lik alkol konulmuş ve 1.5 dk santrifüjlenmiştir. Tekrar % 90'lık alkolde yıkamak için sıvı yavaşça dökülmüş, üzerine % 90'lık alkol 0.7 ml ilave edilmiş ve 1.5 dk santrifüjlenmiştir. Ardından eppendorf tüpün içerisindeki sıvı dikkatli bir şekilde döküldükten sonra 24 saat boyunca tüplerin ağzı açık şekilde kurumaya bırakılmıştır. Kurumuş örneklerin üzerine 60 µl TE (Tris-EDTA) konulmuş, 1-2 saat oda sıcaklığında bekletilmiş ve elde edilen DNA örnekleri araştırmada kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır.

3.2.3.2. ISSR primerleri

ISSR-PCR sırasında daha önceki çalışmalarda kullanılan ISSR4 (Ehsanpour vd., 2007), LOL, PHV ve UBC (Pasqualone vd., 2000; Pharmawati vd., 2005; Marotti vd., 2007; Wakui vd., 2009) olmak üzere toplam 24 adet primer ön denemeye alınmıştır. Bunlardan, EMS uygulanan patates çeşitlerinin sürgün ucunda 11 adet ve yumru gözlerinde 9 adet primer polimorfik bant üretmesi nedeniyle çalışmamızda kullanılmıştır. Bu primerlerin baz dizimleri ve Tm dereceleri Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan ISSR primerlerinin baz dizilimleri ve Tm dereceleri

No	Primer	Nükleotid sekansı (5'-3')	Tm (°C)
1	ISSR4	GAT AGA TAG ATA GAT A	38.9
2	LOL1	(CT) ₈ AC	54.0
3	LOL2	(CT) ₈ GC	56.0
4	LOL3	(CA) ₆ AC	41.0
5	LOL4	(CA) ₆ GT	41.0
6	LOL5	(GA) ₆ GG	44.0
7	LOL6	(GT) ₆ GG	44.0
8	LOL7	(GA) ₆ CC	44.0
9	LOL8	(GT) ₆ CC	44.0
10	LOL9	(CAC) ₃ GC	38.0
11	LOL10	(GAG) ₃ GC	38.0
12	LOL11	(CTC) ₃ GC	38.0
13	PHV3	GCC(CT) ₈	59.0
14	PHV4	GGC(GT) ₈	59.0
15	PHV5	ACG(CA) ₈	57.0
16	PHV6	CCA(CT) ₈	57.0
17	PHV7	GTG(GT) ₈	57.0
18	UBC-807	(AG) ₈ T	50.0
19	UBC-810	(GA) ₈ T	50.0
20	UBC-811	(GA) ₈ C	52.0
21	UBC-812	(GA) ₈ A	50.0
22	UBC-814	(CT) ₈ A	54.0
23	UBC-826	(AC) ₈ C	52.0
24	UBC-854	(CT) ₈ RG	55.0

3.2.3.3. PCR (Polimeraz Chain Reaction) karışımı

24 µl'lik optimum PCR karışımı için stok olarak 20 ng DNA, 25 mM MgCl₂, 50 mM 10X buffer, 20 µM primer, 1.25 mM dNTP ve 5U/ µl Taq DNA polimeraz kullanılmıştır. Her bir 24 µl'lik optimum PCR karışımında 0.5 µl Taq DNA polimeraz, 2.5 µl Taq Buffer, 1.25 µl dNTP, 3.0 µl MgCl₂, 14.75 ddH₂O, 1.0 µl primer ve 1 µl DNA kullanılmıştır.

3.2.3.4. PCR döngü koşulları

Bu çalışmadaki en uygun döngü koşulu aşağıdaki gibidir (Wakui vd., 2009).

<u>İşlem</u>	<u>Sıcaklık</u>	<u>Süre</u>	
Ön denatürasyon	94 °C	3 dakika	
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	} 35 döngü
Bağlanma	38-59 °C	45 saniye	
Uzama	72 °C	1 dakika	
Son uzama	72 °C	10 dakika	
Sonlandırma	4 °C	∞	

Not: Her bir primere ait bağlanma sıcaklığı Çizelge 3.3’de gösterilmiştir.

Çalışmada, BIO-RAD Cycler Thermal PCR cihazı kullanılmıştır.

3.2.3.5. Elektroferaz koşulları ve DNA bantlarının görüntülenmesi

PCR’de çoğaltılan DNA örnekleri, % 2’lik agaroz jelde yürütülmüştür. Hazırlanan agaroz jele 2 µl Etidyum Bromit (4 mg/ml) solüsyonu ilave edilmiştir. Elektroforezde 1X TBE tamponu (100 mM Tris, 100 mM borik asit ve 2 mM EDTA (pH 8.3) karışımı distile su ile 1 litreye tamamlanmıştır) ve markır olarak 100 bç DNA Ladder kullanılmıştır. Elektroforez 90 dk ve 100 V sabit voltaj uygulanarak gerçekleştirilmiş ve Kodak Gel Logic 1500 Imaging System jel görüntüleme sistemi ile görüntülenmiştir.

3.3. Verilerin Değerlendirilmesi

3.3.1. *In vitro* da morfolojik özelliklerin değerlendirilmesi

Araştırma, tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme planına göre 6 tekerrürlü olarak düzenlenmiştir. Morfolojik gözlemler sonucu elde edilen veriler SAS paket programında analiz edilmiştir. Önemli bulunan farklılıkların MSTAT programında LSD ve Duncan çoklu karşılaştırma testi ile kontrolü yapılmıştır.

3.3.2. Tarla koşullarında morfolojik özelliklerin değerlendirilmesi

Araştırma, eksik müşadeli tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme planına göre (tekerrür sayısı= 8) düzenlenmiştir. EMS uygulama dozu ve süresinin etkisini belirlemek için morfolojik gözlemlerden elde edilen veriler SAS paket programında analiz edilmiştir. Önemli bulunan farklılıkların MSTAT programında LSD ve Duncan çoklu karşılaştırma testi ile kontrolü yapılmıştır. Ayrıca her bir yumru gözüne farklı uygulamalardan elde edilen bitkiler klon olarak değerlendirilmiş ve çeşitlere ait kontrol gruplarının ortalama varyansı, standart sapma güven sınırlarına göre belirlenmiştir.

3.3.3. Moleküler belirleyici verilerin değerlendirilmesi

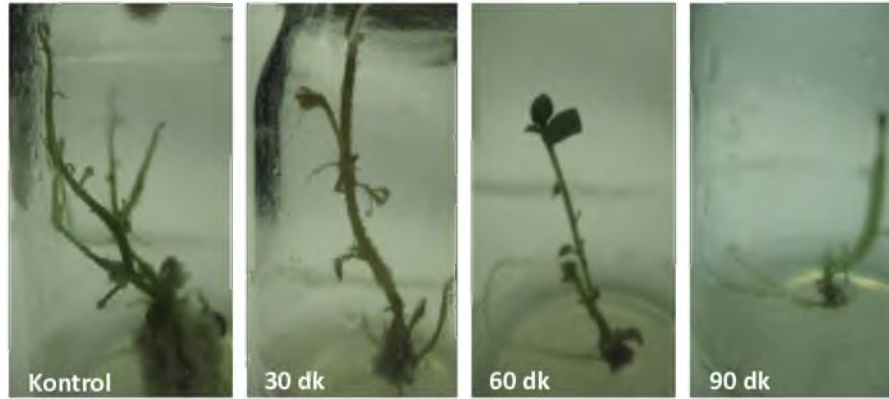
ISSR Primerleri, *in vitro* ve dış koşullarda EMS uygulanmış eksplantlardan elde edilen 3 adet patates genotipine (Agria, Marfona ve Lady Olimpia) ait DNA'lara uygulanmıştır. Tek lokustaki açılımın belirlenmesinde; var olan bir bant için "1", aynı bandın bulunmaması durumunda ise "0" kullanılırken, bir hat boyunca hiç bandın bulunmaması durumunda ise eksik veri "9" kullanılmıştır. Oluşturulan veri matrisi Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System (NTSYS-pc ver. 2.2) programı (Rohlf, 1991) kullanılarak incelenmiştir. Benzerlik matrisi SIMQUAL alt programı ve Jaccard's $[a/(a+b+c)]$ benzerlik koefficient katsayısı kullanılarak hesaplanmıştır. Formülde a = x ve y sıra no (patates eksplantlarına EMS uygulamaları) arasındaki ortak bant sayısı, b = x sıra no'sunda olan fakat y sıra no'sunda olmayan bantların sayısı ve c = y sıra no'sunda olan fakat x sıra no'sunda olmayan bantların sayısıdır. Gruplandırma SAHN alt programı ve unweighted paired group method using arithmetic averages (UPGMA) metodu kullanılarak yapılmıştır. Moleküler verilere ait principal component analizi (PCA) için ORDINATION alt programından eigen değerleri ve vektör değerleri hesaplanmıştır. UPGMA metodu ile oluşturulan gruplandırmanın benzerlik matrisi ile olan uyumluluk derecesini tespit etmek için Mantel's z test değerleri NTSYS-pc programı içindeki MX COMP alt programı kullanılarak hesaplanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

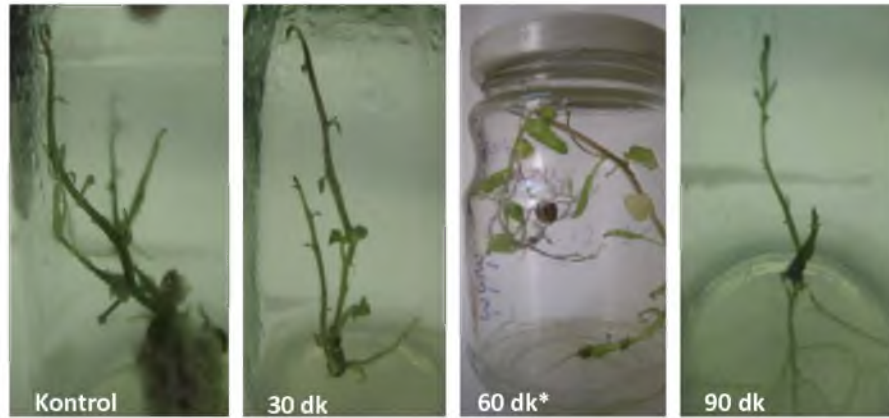
4.1. *In Vitro* ile İlgili Çalışmalar

4.1.1. EMS uygulanan sürgün uçlarından oluşan bitkiciklerde incelenen morfolojik özellikler

Üç patates çeşidine ait yumru gözlerinden çıkan sürgünlere belirli doz ve sürelerde EMS uygulandıktan sonra bu sürgünler rejenere ortamına aktarılmıştır. *In vitro*da rejenere ortamında 1 ay kalan bitkiciklerde her üç çeşitte de (Agria (Şekil 4.1, 4.2, 4.3), Marfona (Şekil 4.4, 4.5 ve 4.6) ve Lady Olimpia (Şekil 4.7, 4.8 ve 4.9)) bitkicik boyu (cm), boğum sayısı (adet), sap sayısı (adet), yan dal sayısı (adet), yaprakçık sayısı (adet) ve kök sayısı (adet) belirlenmiştir.

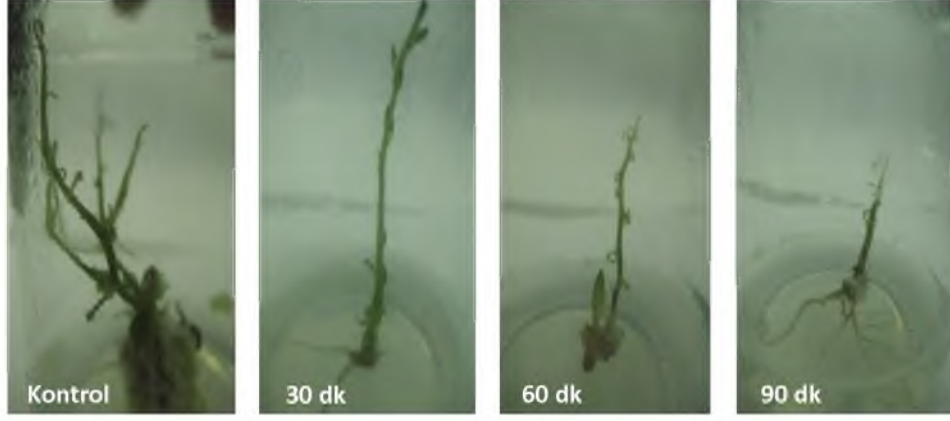


Şekil 4.1. Agria çeşidinde 100 mM EMS uygulaması

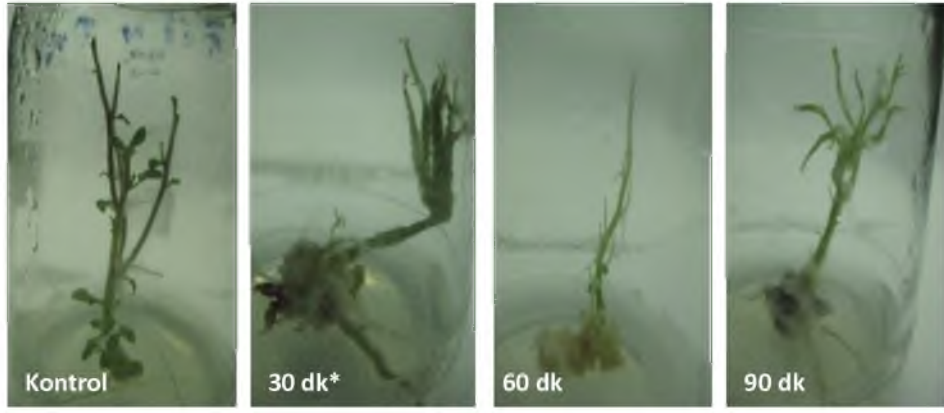


*Mikro yumru oluşumu

Şekil 4.2. Agria çeşidinde 200 mM EMS uygulaması

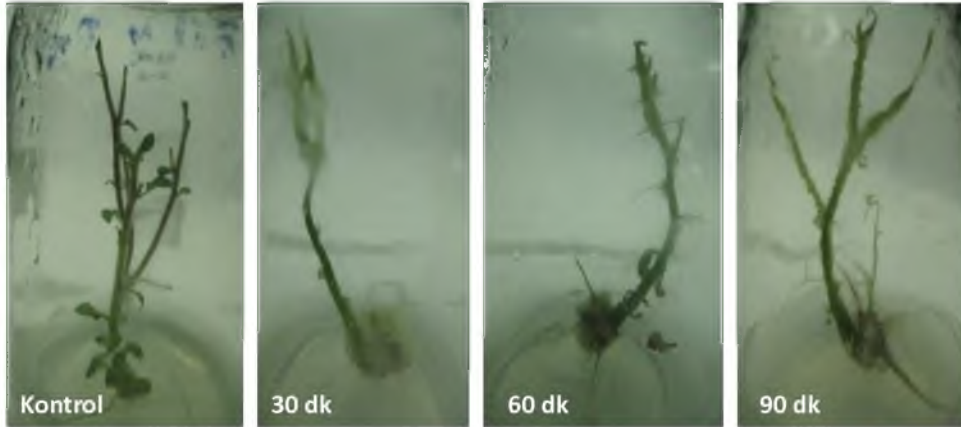


Şekil 4.3. Agria çeşidinde 300 mM EMS uygulaması

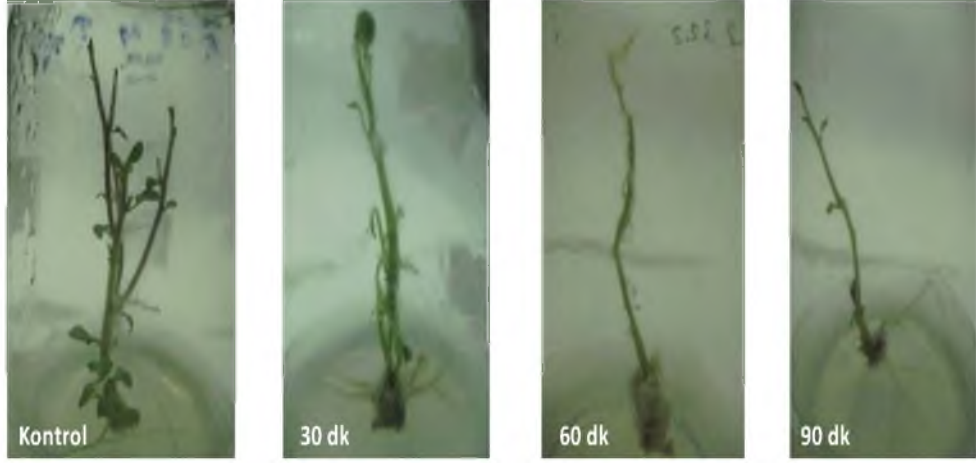


*: Koltuk oluşumu

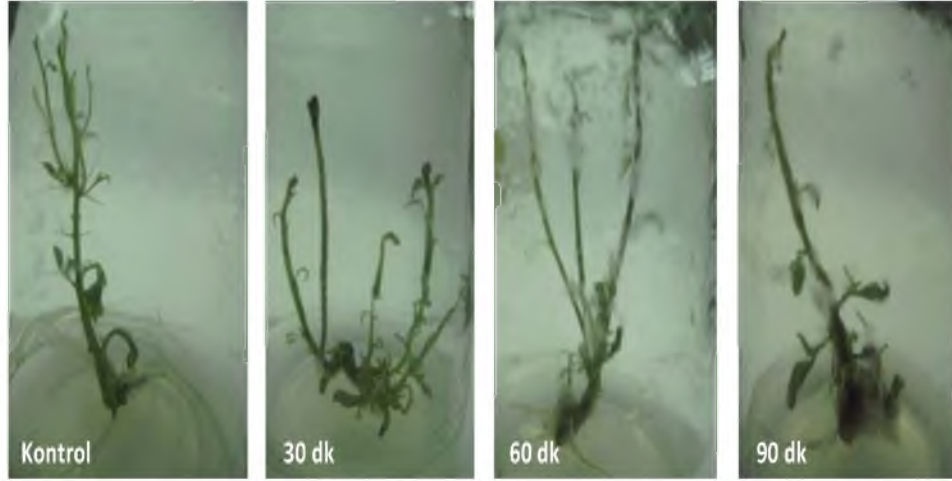
Şekil 4.4. Morfona çeşidinde 100 mM EMS uygulaması



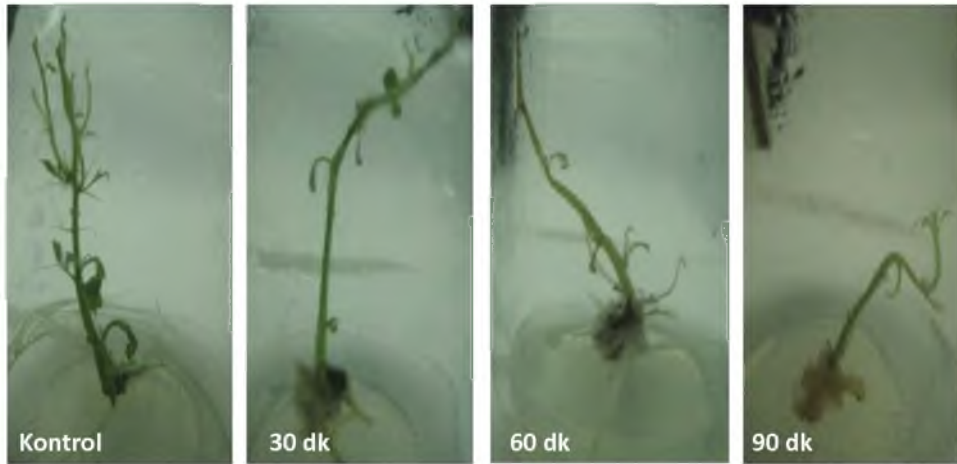
Şekil 4.5. Morfona çeşidinde 200 mM EMS uygulaması



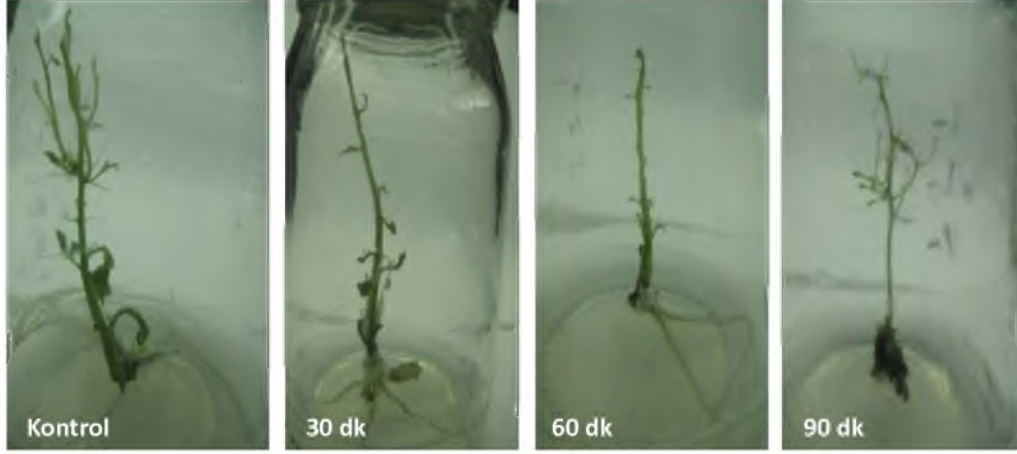
Şekil 4.6. Morfona çeşidinde 300 mM EMS uygulaması



Şekil 4.7. Lady Olimpia çeşidinde 100 mM EMS uygulaması



Şekil 4.8. Lady Olimpia çeşidinde 200 mM EMS uygulaması



Şekil 4.9. Lady Olimpia çeşidinde 300 mM EMS uygulaması

4.1.1.1. Bitkicik boyu (cm)

Araştırmada kullanılan patates çeşitlerinin bitkicik boyuna (cm) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.1’de, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin boyuna ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	16.610	404.43**
Doz (D)	3	2.843	69.23**
Uygulama süresi (US)	2	0.669	16.29**
ÇxD	6	0.193	4.72**
ÇxUS	4	0.325	7.92**
DxUS	6	0.383	9.34**
ÇxDxUS	12	0.149	3.65**
HATA	180	0.0410	-
VK : 4.87			

** : % 1 seviyesinde önemlidir.

*In vitro*da patatesten bitkicik boyu üzerine çeşidin etkisi çok önemli olmuş, en yüksek bitkicik boyu ortalama olarak Lady Olimpia çeşidinde (4.72 cm) belirlenmiş, bu çeşidi Marfona (3.93 cm) ve Agria (3.84 cm) çeşitleri izlemiştir (Çizelge 4.2).

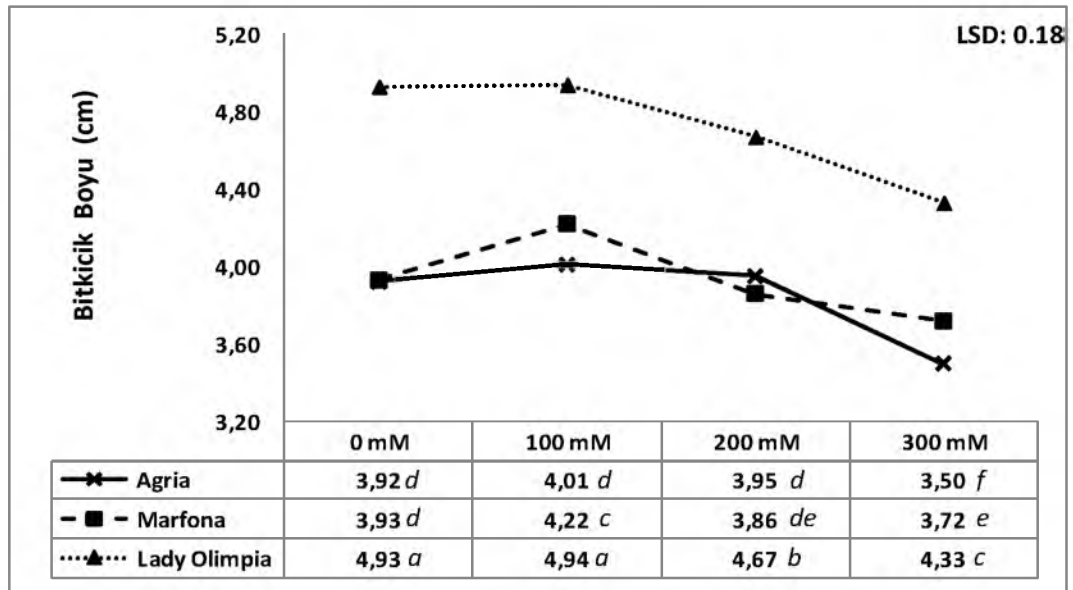
Çizelge 4.2. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin boyları (cm)

Çeşit	Uygulama süresi (dk)	EMS dozları (mM)				Ortalama
		Kontrol	100	200	300	
Agria	30	3.92	4.03	4.02	3.86	3.96
	60	3.92	4.05	4.03	3.64	3.91
	90	3.92	3.95	3.80	3.01	3.67
	Ortalama	3.92	4.01	3.95	3.50	3.84 C
Marfona	30	3.93	3.94	4.00	3.92	3.95
	60	3.93	4.51	3.92	3.62	3.99
	90	3.93	4.22	3.67	3.61	3.86
	Ortalama	3.93	4.22	3.86	3.72	3.93 B
Lady Olimpia	30	4.93	5.00	5.02	4.61	4.89
	60	4.93	4.95	4.29	4.10	4.57
	90	4.93	4.86	4.70	4.28	4.69
	Ortalama	4.93	4.94	4.67	4.33	4.72 A
	30	4.26	4.32	4.35	4.13	4.26 a
	60	4.26	4.50	4.08	3.79	4.16 b
	90	4.26	4.34	4.05	3.63	4.07 c
GENEL ORTALAMA		4.26 B	4.39 A	4.16 B	3.85 C	
LSD	Çeşit (Ç): 0.09	Doz (D): 0.10	Uygulama süresi (US): 0.09			
	ÇxD: 0.18	ÇxUS: 0.15	DxUS: 0.18	ÇxDxUS: 0.31		

Patatesin *in vitro* da bitkicik boyu üzerine EMS dozları istatistiki bakımından önemli olmuş, genel olarak artan 200 ve 300 mM EMS dozlarındaki bitkicik boyunda azalmalar meydana gelmiştir (Çizelge 4.2).

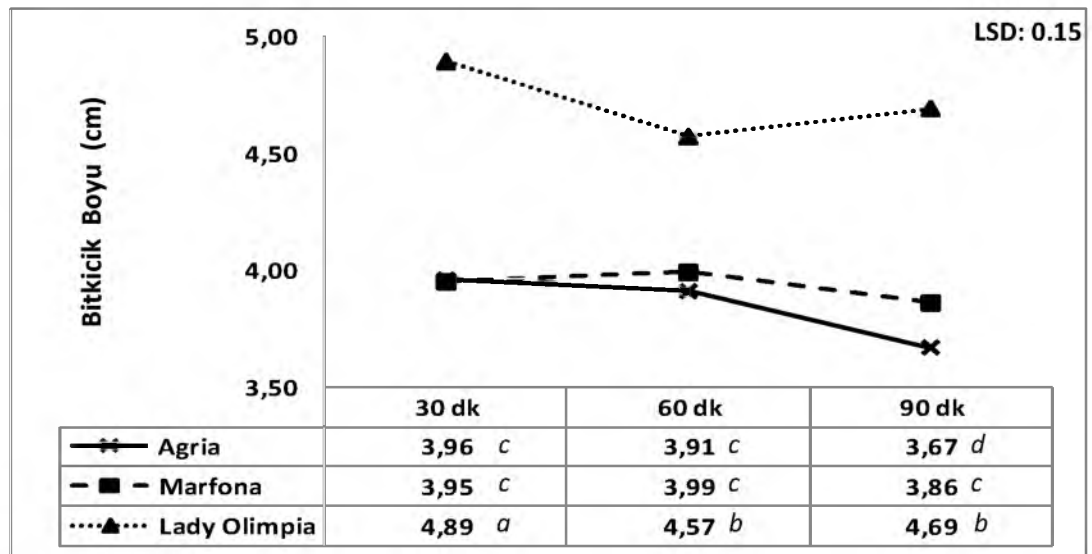
Sürgün uçlarından elde edilen bitkiciklerin boyu üzerine uygulama sürelerinin etkileri önemli çıkmış, 30 dk uygulama süresinde en yüksek bitkicik boyu elde edilirken, süre attıkça bitkicik boyunda azalmalar gözlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çeşit x EMS dozları arasındaki interaksiyon önemli çıkmıştır. Tüm çeşitlerde 100 mM EMS dozu kontrol grubundan daha fazla bitkicik boyunu oluşturmuş, ancak Agria ve Lady Olimpia çeşidinde önemli bir farklılık olmamıştır. Yine tüm çeşitlerde artan EMS dozlarına paralel olarak bitkicik boyu azalmıştır. Bu azalma Lady Olimpia çeşidinde daha belirgin olmuştur (Şekil 4.10).



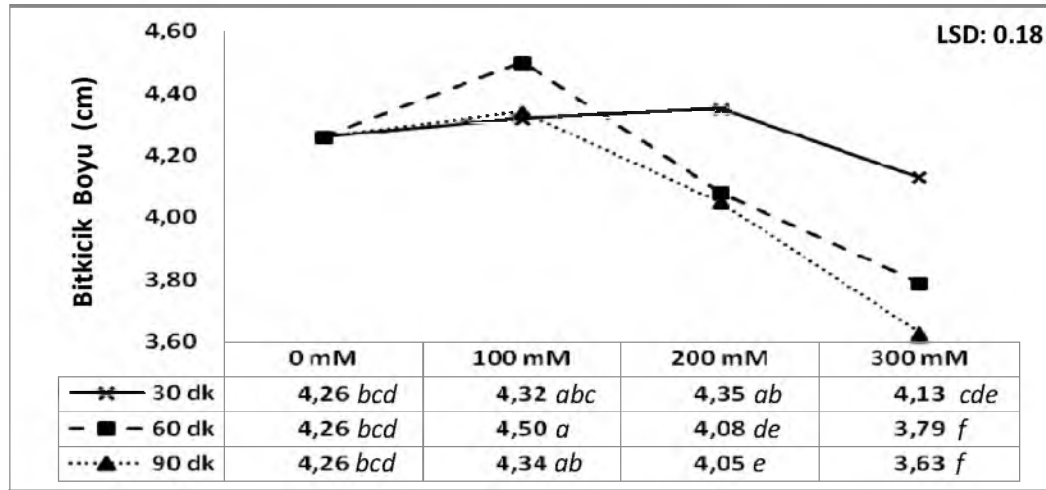
Şekil 4.10. Bitkicik boyuna çeşit x uygulama dozu interaksiyonunun etkisi

Uygulama süresinin bitkicik boyu üzerine çok önemli etkisi olmakla birlikte bu etki çeşitlere göre değişiklik göstermiş, Marfona çeşidinde uygulama süresi ile bitkicik boyu önemli seviyede değişmezken, Agria çeşidinde 90 dk uygulama süresinde diğer sürelerle göre bitkicik boyu önemli seviyede kısalmıştır. Lady Olimpia çeşidinde ise en uzun bitkicik boyu 30 dk süre ile EMS’de tutulan eksplantlardan gelişen bitkiciklerde ölçülmüş diğer iki süre arasında (60 ve 90 dk) önemli bir farklılık görülmemiş, bu uygulamalarda bitkicik boyu kısalmıştır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Bitkicik boyuna çeşit x uygulama süresi interaksiyonunun etkisi

Bitkicik boyuna uygulama süresi ve uygulama dozlarının birlikte etkisi önemli çıkmış, genel olarak 100 mM EMS dozlarının tüm uygulama sürelerinde bitkicik boyu fazla ölçülmüş (30 dk 4.32, 60 dk 4.50 ve 90 dk 4.34 cm), ancak doz arttıkça bitkicik boyunda önemli seviyede azalmalar meydana gelmiştir. Bu azalma 60 ve 90 dakika EMS uygulamalarında daha belirgin olmuştur (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Bitkicik boyuna uygulama dozu x uygulama süresi interaksiyonunun etkisi

Tüm faktörlerin birbirleriyle interaksiyonunun bitkicik boyu üzerine etkisi önemli bulunmuş, en uzun bitkicik boyu Lady Olimpia çeşidinde 30 dk ve 200 mM EMS uygulamasında gözlenmiş (5.02 cm), en kısa bitkicik boyu ise Agria çeşidinde 90 dk 300 mM EMS'nin dozundan elde edilmiştir (3.01 cm) (Çizelge 4.2).

4.1.1.2. Boğum Sayısı (adet)

Patates çeşitlerinin boğum sayısına (adet) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.3'de, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Araştırmada çeşitler arasında boğum sayısı bakımından önemli farklılık ortaya çıkmış en fazla boğum sayısı, Lady Olimpia (11.74 adet) çeşidinde en düşük ise Marfona çeşidinde (7.55 adet) belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.3. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin boğum sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	324.720	2266.05**
Doz (D)	3	6.394	44.62**
Uygulama süresi (US)	2	24.327	169.77**
ÇxD	6	1.713	11.95**
ÇxUS	4	4.780	33.36**
DxUS	6	5.204	36.32**
ÇxDxUS	12	1.190	8.31**
HATA	180	0.1432	-
VK : 3.84			

** : % 1 seviyesinde önemlidir.

In vitro koşullarda patatesin boğum sayısı oluşturmada EMS dozlarının etkisinin önemli olduğu, en yüksek boğum sayısının 100 mM EMS dozunda elde edildiği (10.24 adet), artan dozlarda boğum sayısının sırası ile 9.79 ve 9.41 adet olarak önemli seviyede azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

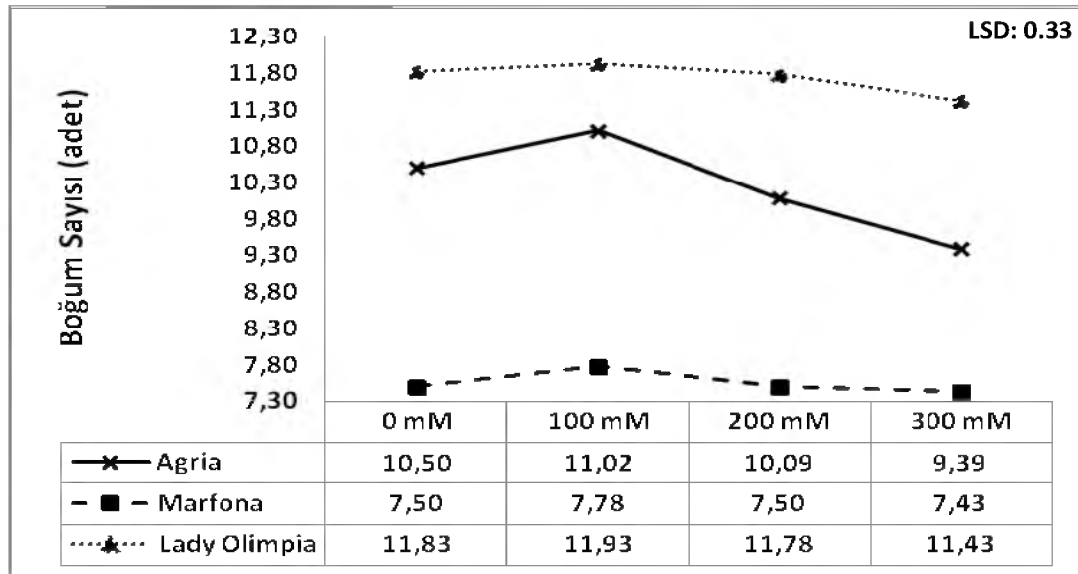
EMS dozlarının uygulama süreleri boğum sayısını önemli seviyede etkilemekle birlikte, 30 ve 60 dk uygulama süresinde en fazla boğum sayısı elde edilmiş (sırasıyla 10.19 ve 10.18 adet) ve aralarında önemli bir farklılık görülmemiştir (Çizelge 4.4). 90 dk EMS uygulaması boğum sayısını önemli düzeyde azaltmıştır.

Çeşit x EMS dozları arasındaki interaksiyon önemli çıkmıştır (Çizelge 4.3). Tüm çeşitlerde 100 mM EMS uygulamasında en fazla boğum sayısı gözlenmiştir. Marfona çeşidinde uygulanan EMS dozlarında farklı değerlerde boğum sayısı elde edilmesine rağmen, aralarında önemli bir farklılık olmamıştır. Genel olarak diğer iki çeşitte de uygulanan EMS dozları ile boğum sayısı azalmış fakat bu azalma Agria çeşidinde daha belirgin olmuştur (Şekil 4.13).

Çizelge 4.4. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin boğum sayıları (adet)

Çeşit	Uygulama süresi (dk)	EMS dozları (mM)				Ortalama
		Kontrol	100	200	300	
Agria	30	10.50	11.00	11.06	11.06	10.90
	60	10.50	11.94	10.67	10.33	10.86
	90	10.50	10.11	8.56	6.78	8.99
	Ortalama	10.50	11.02	10.09	9.39	10.25 B
Marfona	30	7.50	7.56	7.78	7.95	7.70
	60	7.50	7.94	7.83	7.78	7.76
	90	7.50	7.84	6.89	6.56	7.20
	Ortalama	7.50	7.78	7.50	7.43	7.55 C
Lady Olimpia	30	11.83	12.11	12.17	11.78	11.97
	60	11.83	12.17	11.95	11.67	11.90
	90	11.83	11.50	11.22	10.84	11.35
	Ortalama	11.83	11.93	11.78	11.43	11.74 A
GENEL ORTALAMA	30	9.94	10.22	10.33	10.26	10.19 a
	60	9.94	10.68	10.15	9.93	10.18 a
	90	9.94	9.82	8.89	8.06	9.18 b
	Ortalama	9.94 B	10.24 A	9.79 B	9.41 C	

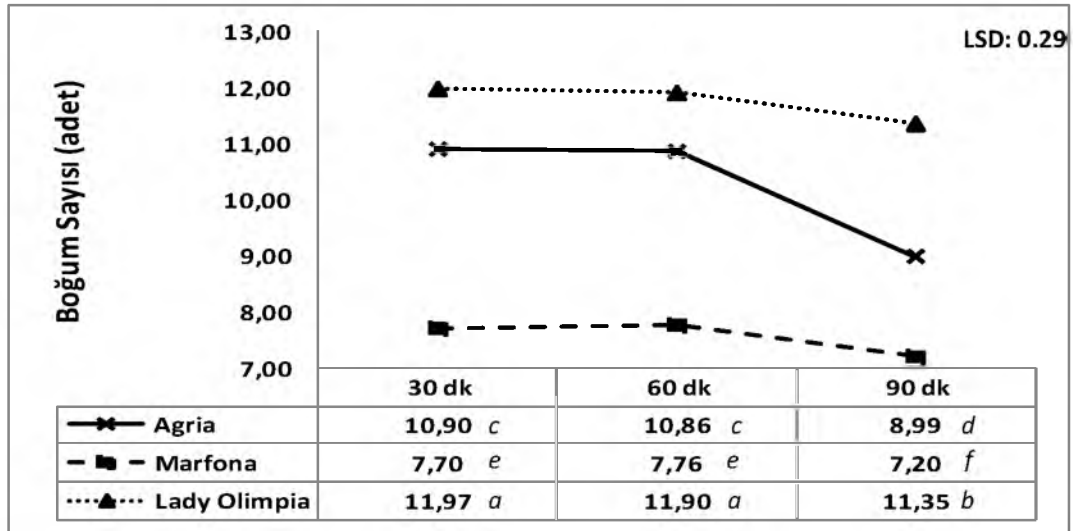
LSD Çeşit (Ç): 0.16 Doz (D): 0.19 Uygulama süresi (US): 0.16
ÇxD: 0.33 ÇxUS: 0.29 DxUS: 0.33 ÇxDxUS: 0.57



Şekil 4.13. Boğum sayısına çeşit x uygulama dozu interaksiyonunun etkisi

Uygulama süreleri boğum sayısını etkilemiş, uygulama sürelerinin bu etkisi çeşitler bazında farklılık göstermiştir. En fazla boğum sayısı Lady Olimpia çeşidinde

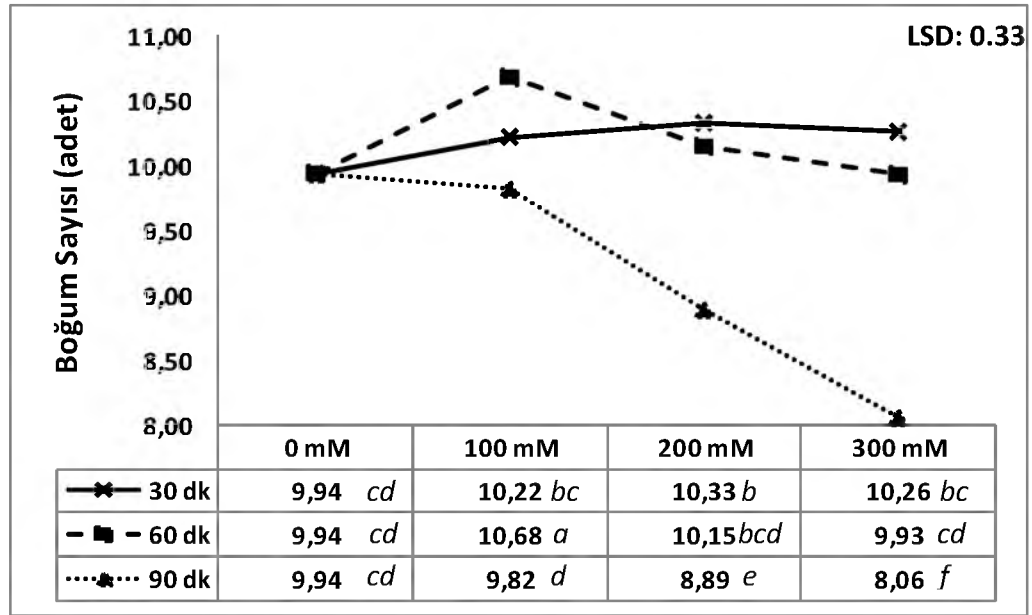
aralarında önemli bir farklılık olmamakla birlikte 30 ve 60 dk EMS uygulamasında gözlenmiştir (sırasıyla 11.97 ve 11.90 adet). Tüm çeşitlerde 90 dk EMS uygulamasında boğum sayısı bakımından önemli seviyede azalmaların meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu azalma Agria çeşidinde daha belirgin olmuştur (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Boğum sayısına çeşit x uygulama süresi interaksiyonunun etkisi

Patatesin *in vitro*da boğum sayısı üzerine uygulama süresi ve dozlarının etkileşimleri önemli olmuş, en yüksek değere (10.68 adet) 60 dk 100 mM EMS uygulamasında ulaşılmıştır. 90 dk EMS uygulamasında boğum sayısı çok belirgin bir şekilde azalma göstermiştir (Şekil 4.15).

Boğum sayısı üzerine çeşit x doz x uygulama süresi interaksiyonunun etkisi önemli çıkmıştır. En fazla boğum sayısı Lady Olympia çeşidinde 12.17 adet değer ile 30 dk 200 mM ve 60 dk 100 mM EMS uygulamalarından elde edilmiştir. En düşük boğum sayısının ise Marfona ve Agria çeşitlerinde 90 dk süre 300 mM EMS dozlarında uygulanan eksplantlardan gelişen bitkiciklerde belirlenmiştir (Çizelge 4.4).



Şekil 4.15. Boğum sayısına uygulama dozu x uygulama süresi interaksiyonunun etkisi

4.1.1.3. Sap sayısı (adet)

Araştırmada kullanılan patates çeşitlerinin sap sayısına (adet) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.5’de, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.5. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin sap sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	0.298	6.22**
Doz (D)	3	0.387	8.08**
Uygulama süresi (US)	2	0.210	4.38*
ÇxD	6	0.020	0.44*
ÇxUS	4	0.017	0.36*
DxUS	6	0.030	0.64*
ÇxDxUS	12	0.015	0.32
HATA	180	0.0480	-
VK : 17.06			

** : % 1 ve * : % 5 seviyesinde önemlidir.

Çizelge 4.6. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin sap sayıları (adet)

Çeşit	Uygulama süresi (dk)	EMS dozları (mM)				Ortalama
		Kontrol	100	200	300	
Agria	30	1.39	1.39	1.44	1.33	1.39
	60	1.39	1.42	1.42	1.17	1.35
	90	1.39	1.39	1.33	1.22	1.33
	Ortalama	1.39	1.40	1.40	1.24	1.36 A
Marfona	30	1.22	1.39	1.44	1.11	1.29
	60	1.22	1.33	1.28	1.17	1.25
	90	1.22	1.22	1.17	1.00	1.15
	Ortalama	1.22	1.31	1.29	1.09	1.23 B
Lady Olimpia	30	1.33	1.39	1.33	1.22	1.32
	60	1.33	1.33	1.28	1.22	1.29
	90	1.33	1.28	1.17	1.00	1.19
	Ortalama	1.33	1.33	1.26	1.15	1.27 AB
	30	1.31	1.39	1.41	1.22	1.33 a
	60	1.31	1.36	1.32	1.18	1.30 ab
	90	1.31	1.29	1.22	1.07	1.23 b
GENEL ORTALAMA		1.31 A	1.35 A	1.32 A	1.16 B	
LSD Çeşit (Ç): 0.10		Doz (D): 0.11		Uygulama süresi (US): 0.07		
ÇxD: 0.14		ÇxUS: 0.13		DxUS: 0.14		

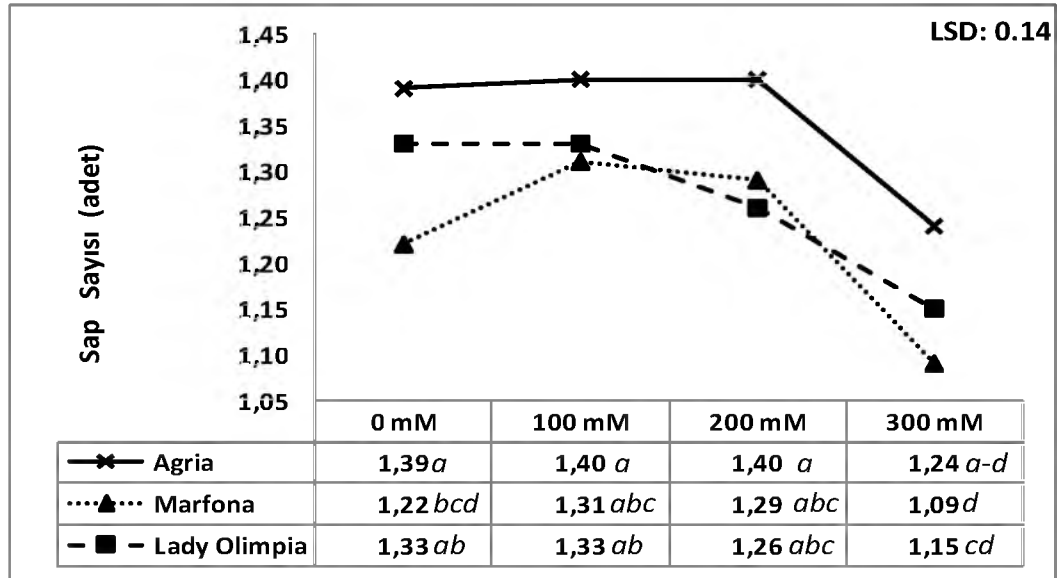
Patatesin *in vitro* da sap sayısı üzerine çeşidin etkisi önemli olmuş, en fazla sap sayısı Agria çeşidinde (1.36 adet), en düşük ise Morfona çeşidinde (1.23 adet) belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

EMS dozlarının sap sayısına etkisi çok önemli olmuş, doz miktarının artışı ile birlikte ortalama sap sayısında azalma meydana gelmiştir. Ortalama olarak en düşük sap sayısı 300 mM EMS uygulanan eksplantlarda belirlenmiş diğer dozlar arasında ise önemli bir farklılık görülmemiştir (Çizelge 4.6).

Uygulama süresi sap sayısını etkilemiş olup, 30 dk süre ile EMS uygulanan eksplantlardan oluşan bitkiciklerin sap sayısının daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

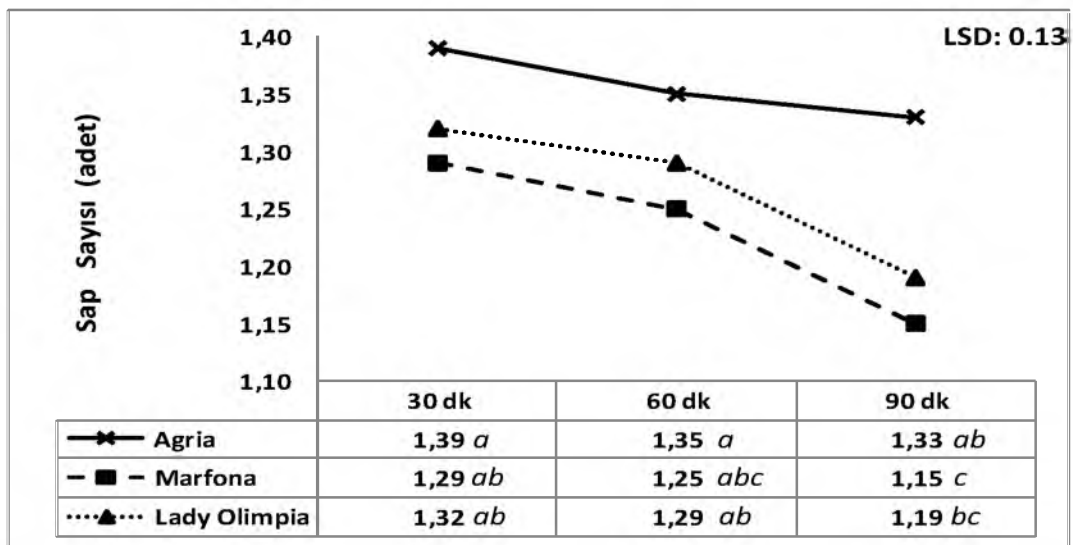
Çeşitlerin uygulama dozlarına tepkisi farklı olmuş, en fazla sap Agria çeşidinde 100 ve 200 mM EMS dozunda (her ikisinde 1.40 adet) meydana gelmiş ve bu çeşitte EMS

uygulamaları sap sayısı bakımından farklılık oluşturmamıştır. Genel olarak tüm çeşitlerde 300 mM dozlarında sap sayısında azalma meydana gelmiştir (Şekil 4.16).



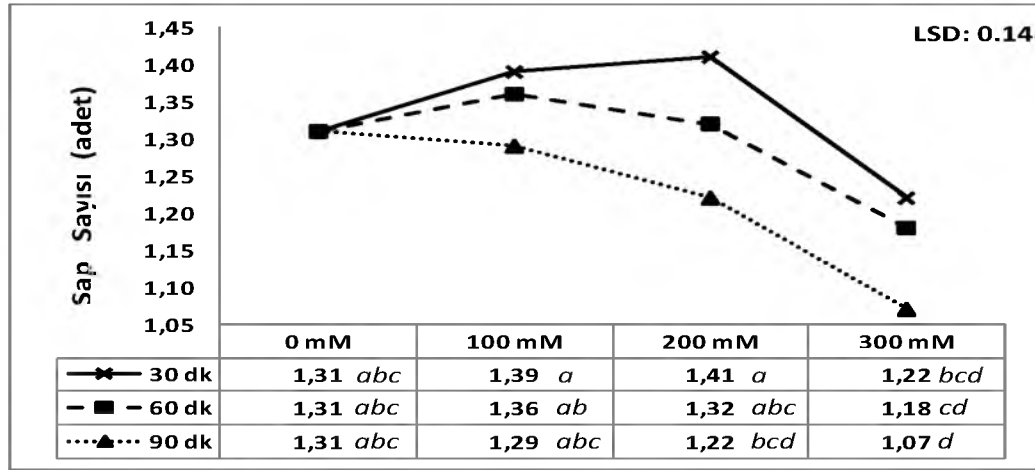
Şekil 4.16. Sap sayısına çeşit x uygulama dozu interaksyonunun etkisi

Araştırmada çeşit x süre interaksyonu istatistiki olarak önemli çıkmış, tüm çeşitlerde en fazla sap sayısı 30 dk EMS uygulamasından elde edilmiş, süre arttıkça sap sayısında azalmalar tespit edilmiştir. Marfona ve Lady Olimpia çeşidinde 90 dk EMS uygulaması ile sap sayısı önemli seviyede azalmıştır (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Sap sayısına çeşit x uygulama süresi interaksyonunun etkisi

Uygulama süresi ve EMS dozlarının birlikte etkisi sap sayısını önemli seviyede etkilemiştir. Tüm dozlarda uygulama süresi artıkcı sap sayısında azalmalar görölmüş ve en yüksek sap sayısı 30 dk 200 mM EMS uygulamasında elde edilirken (1.41 adet), en düşük 90 dk 300 mM EMS dozunda meydana gelmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Sap sayısına uygulama dozu x uygulama süresi interaksyonunun etkisi

4.1.1.4. Yan dal sayısı (adet)

Patates çeşitlerinin yan dal sayısına (adet) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.7’de, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin yan dal sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	1.971	38.19**
Doz (D)	3	1.069	20.73**
Uygulama süresi (US)	2	1.049	20.33**
ÇxD	6	0.076	1.49
ÇxUS	4	0.015	0.31
DxUS	6	0.220	4.27**
ÇxDxUS	12	0.055	1.08
HATA	180	0.0516	
VK : 19.51			

** : % 1 seviyesinde önemlidir.

Araştırmada yan dal sayısı çeşitlere göre önemli seviyede değişmiş ve yan dal sayısı en fazla Lady Olimpia çeşidinde belirlenmiş (1.35 adet), bu çeşidi aralarında farklılık olmamakla birlikte Marfona ve Agria çeşidi izlemiştir (Çizelge 4.8).

Çalışmada uygulanan EMS dozlarının yan dal sayısına etkisi önemli çıkmış, en fazla yan dal sayısı 100 mM EMS dozunda elde edilmiş olup, kontrol, 100 ve 200 mM EMS dozunda yan dal sayısı bakımından farklılık görülmemiştir. Ortalama olarak 300 mM EMS uygulamalarının yan dal sayısını azalttığı görülmüştür (Çizelge 4.8).

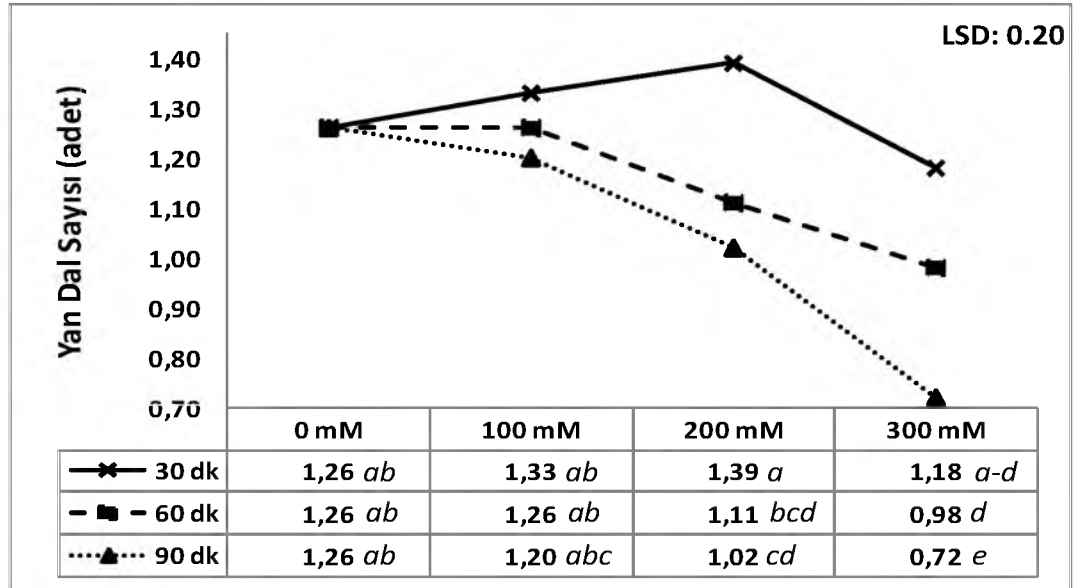
Uygulama süresi yan dal sayısını etkilemiş olup, 1.29 adet ile 30 dk sürede en fazla yan dal sayısı oluşturulmuş ve uygulama süresi arttıkça yan dal sayısında azalmalar olmuştur (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin yan dal sayıları (adet)

Çeşit	Uygulama süresi (dk)	EMS dozları (mM)				Ortalama
		Kontrol	100	200	300	
Agria	30	1.22	1.28	1.28	1.00	1.19
	60	1.22	0.95	1.00	0.89	1.01
	90	1.22	1.06	0.89	0.44	0.90
	Ortalama	1.22	1.09	1.06	0.78	1.04 B
Marfona	30	1.11	1.22	1.33	1.17	1.21
	60	1.11	1.39	1.00	0.89	1.10
	90	1.11	1.11	1.06	0.78	1.01
	Ortalama	1.11	1.24	1.13	0.95	1.11 B
Lady Olimpia	30	1.44	1.50	1.56	1.39	1.47
	60	1.44	1.44	1.33	1.17	1.35
	90	1.44	1.44	1.11	0.95	1.24
	Ortalama	1.44	1.46	1.33	1.17	1.35 A
	30	1.26	1.33	1.39	1.18	1.29 a
	60	1.26	1.26	1.11	0.98	1.15 b
	90	1.26	1.20	1.02	0.72	1.05 c
GENEL ORTALAMA		1.26 A	1.27 A	1.17 A	0.96 B	
LSD Çeşit (Ç): 0.10 Doz (D): 0.11 Uygulama süresi (US): 0.10 DxUS: 0.20						

Yan dal sayısı bakımından EMS doz x uygulama süresi interaksyonu önemli çıkmıştır. 30 dk uygulamada 200 mM EMS, 60 dk uygulamada 100 mM EMS dozlarından sonra

90 dk uygulamada ise EMS dozları attıkça yan dal sayılarının azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Yan dal sayısına uygulama dozu x uygulama süresi interaksiyonunun etkisi

4.1.1.5. Yaprakçık sayısı (adet)

Araştırmada kullanılan patates çeşitlerinin yaprakçık sayısına (adet) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.9'da, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.10'da verilmiştir.

İncelenen faktörlerden çeşidin yaprakçık sayısına etkisi istatistiki olarak önemli çıkmış, en fazla yaprakçık sayısı Lady Olimpia (11.44 adet) ve Agria çeşidinde (10.71 adet) gözlenirken, en düşük Marfona çeşidinde ortaya (9.88 adet) çıkmıştır (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.9. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin yaprakçık sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	73.098	512.69**
Doz (D)	3	69.575	487.98**
Uygulama süresi (US)	2	87.103	610.92**
ÇxD	6	3.458	24.25**
ÇxUS	4	3.470	24.34**
DxUS	6	24.296	170.41**
ÇxDxUS	12	3.465	24.31**
HATA	180	0.1425	-
VK : 3.59			

** : % 1 seviyesinde önemlidir.

Çizelge 4.10. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin yaprakçık sayıları (adet)

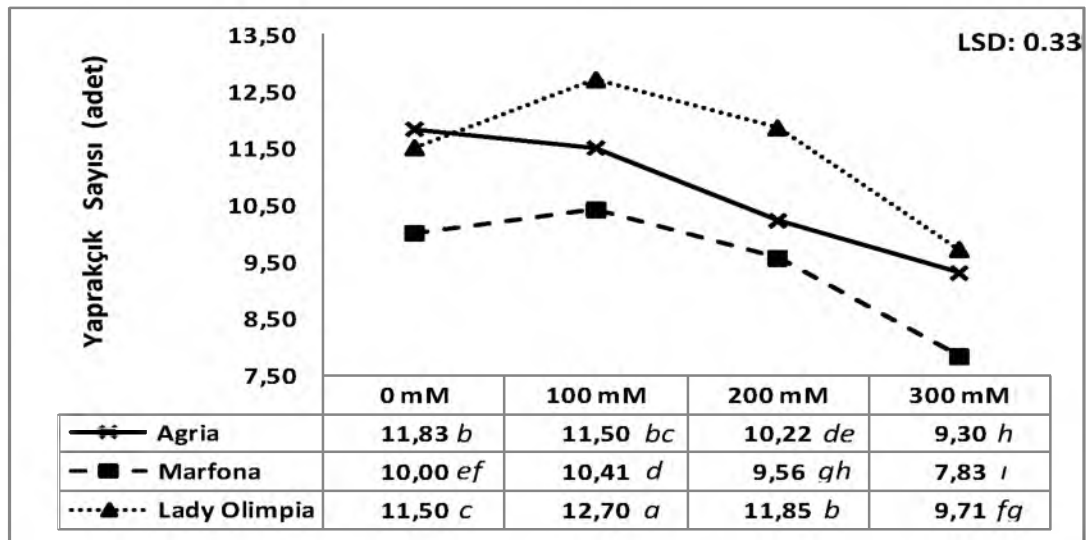
Çeşit	Uygulama süresi (dk)	EMS dozları (mM)				Ortalama
		Kontrol	100	200	300	
Agria	30	11.83	12.00	12.00	11.22	11.77
	60	11.83	12.00	10.78	10.67	11.32
	90	11.83	10.50	7.89	6.00	9.06
	Ortalama	11.83	11.50	10.22	9.30	10.71 B
Marfona	30	10.00	10.06	10.89	7.89	9.71
	60	10.00	10.00	11.06	9.50	10.14
	90	10.00	11.17	6.72	6.11	8.50
	Ortalama	10.00	10.41	9.56	7.83	9.45 C
Lady Olimpia	30	11.50	12.17	14.00	10.50	12.04
	60	11.50	14.06	12.00	10.61	12.04
	90	11.50	11.89	9.56	8.00	10.24
	Ortalama	11.50	12.70	11.85	9.71	11.44 A
	30	11.11	11.41	12.30	9.87	11.17 a
	60	11.11	12.02	11.28	10.26	11.17 a
	90	11.11	11.19	8.06	6.70	9.26 b
GENEL ORTALAMA		11.11 B	11.54 A	10.54 C	8.95 D	
LSD	Çeşit (Ç): 0.16 ÇxD: 0.33	Doz (D): 0.19 ÇxUS: 0.28	Uygulama süresi (US): 0.16 DxUS: 0.33	ÇxDxUS: 0.57		

*In vitro*da yaprakçık oluşumunda EMS dozlarının etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.9). Genel olarak belirli bir noktaya kadar (100 mM) artan EMS dozlarında yaprakçık sayısında artış gözlenmiş (11.54), daha sonra artan EMS

dozlarında yaprakçık oluşumunda önemli seviyede azalmalar meydana gelmiştir (Çizelge 4.10).

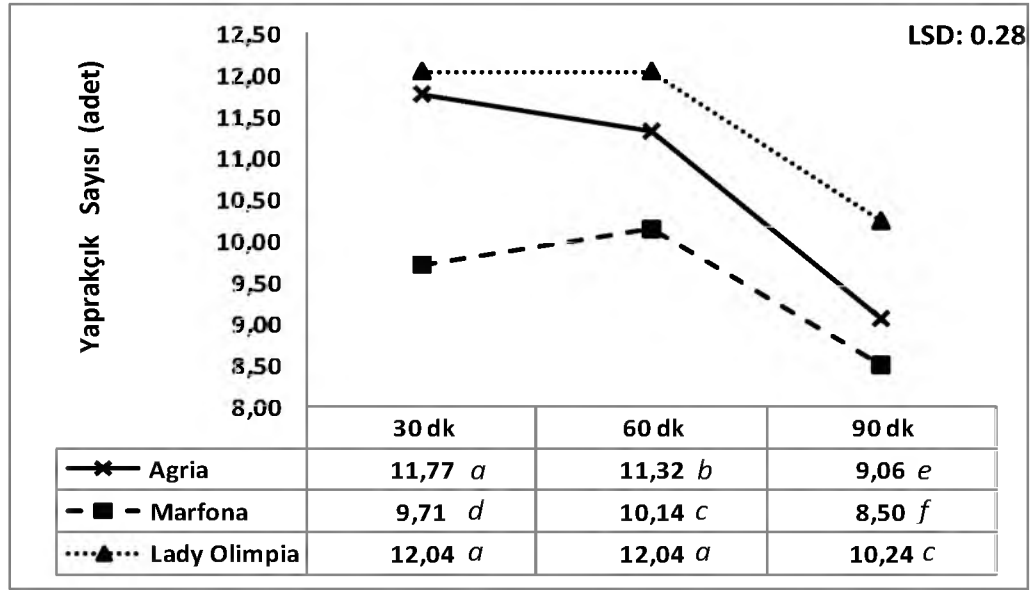
Uygulama süresi yaprakçık sayısını etkilemiş olup, 30 ve 60 dk uygulama sürelerinde yaprakçık sayısı 11.17 adet olmuş, 90 dk'lık sürede ise en düşük değer elde edilmiştir (9.26 adet) (Çizelge 4.10).

Araştırmada patates çeşitleri bazında, uygulama dozlarının yaprakçık sayısına etkisi önemli olmuş, uygulanan 100 mM EMS dozu hariç artan EMS dozlarına paralel olarak yaprakçık sayılarında azalma meydana gelmiştir. En fazla yaprakçık sayısı Lady Olimpia çeşidinde 100 mM EMS dozunda elde edilmiş, en düşük ise Marfona çeşidinde 300 mM EMS dozunda gözlenmiştir (7.83 adet) (Şekil 4.20).



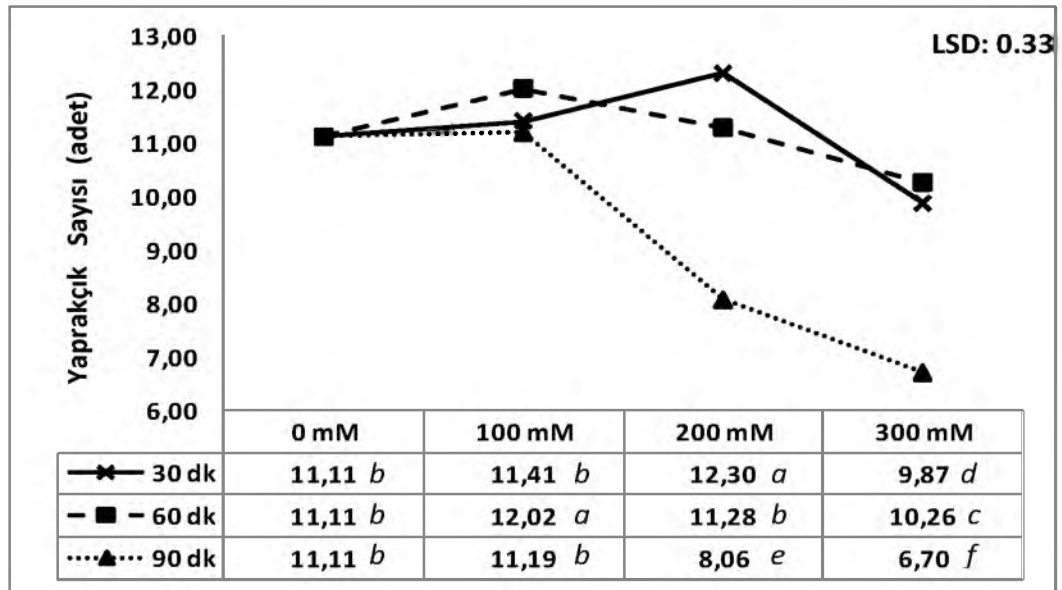
Şekil 4.20. Yaprakçık sayısına çeşit x uygulama dozu interaksiyonunun etkisi

Uygulama süresinin yaprakçık sayısına etkisi çeşitlere göre farklılık göstermiştir. Her üç çeşitte de 30 ve 60 dk uygulama süresinde aralarında önemli bir farklılık olmamış, 90 dk uygulama süresinde yaprakçık sayısı önemli seviyede azalmıştır. Genel olarak tüm çeşitlerde 30 dk uygulama süresinde en fazla yaprakçık oluşumu gözlenmiş, artan 90 dk uygulamada ise en düşük yaprakçık sayıları elde edilmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. Yaprakçık sayısına çeşit x uygulama süresi interaksiyonunun etkisi

Doz x uygulama süresi interaksiyonunun yaprakçık sayısına etkisi istatistiki olarak önemli olmuş, yaprakçık sayıları 6.70 ve 12.30 adet arasında değişiklik göstermiştir. 30 dk EMS uygulamasında doz oranları arttıkça (300 mM EMS hariç) yaprakçık sayısında artışlar görülmüş, 60 ve 90 dk EMS uygulamasında ise 100 mM uygulamadan sonra yaprakçık sayısında azalmalar meydana gelmiştir (Şekil 4.22)



Şekil 4.22. Yaprakçık sayısına uygulama dozu x uygulama süresi interaksiyonunun etkisi

Yaprakçık sayısına etkisi bakımından tüm faktörlerin birbirleriyle interaksyonu istatistiki olarak önemli bulunmuş, en fazla yaprakçık oluşumu Lady Olimpia çeşidinde 60 dk 100 mM EMS uygulamasında (14.06 adet), en az yaprakçık sayısı ise 6.00 adet ile Agria çeşidinde 90 dk 300 mM EMS dozunda elde edilmiştir (Çizelge 4.10).

4.1.1.6. Kök sayısı (adet)

Patates çeşitlerinin kök sayısına (adet) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.11’de, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.12’de verilmiştir. Kök sayısı bakımından varyans analiz sonuçlarına göre çeşit, doz, çeşit x doz, çeşit x uygulama süresi, doz x uygulama süresi ve çeşit x doz x uygulama süresi interaksyonları istatistiki olarak önemli ($P<0.01$), uygulama süresi ise önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.11).

Araştırmada çeşitlerin farklı miktarda kök oluşturdukları belirlenmiş, Lady Olimpia çeşidinde kök sayısının (1.37 adet) daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu değeri 1.22 adet ile Marfona çeşidi izlemiş ve en düşük değer 0.71 adet ile Agria çeşidinde ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.11. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin kök sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	8.701	131.91**
Doz (D)	3	3.640	55.19**
Uygulama süresi (US)	2	0.125	1.91
ÇxD	6	0.279	4.23**
ÇxUS	4	0.314	4.77**
DxUS	6	0.440	6.68**
ÇxDxUS	12	0.422	6.40**
HATA	180	0.0659	
VK : 23.40			

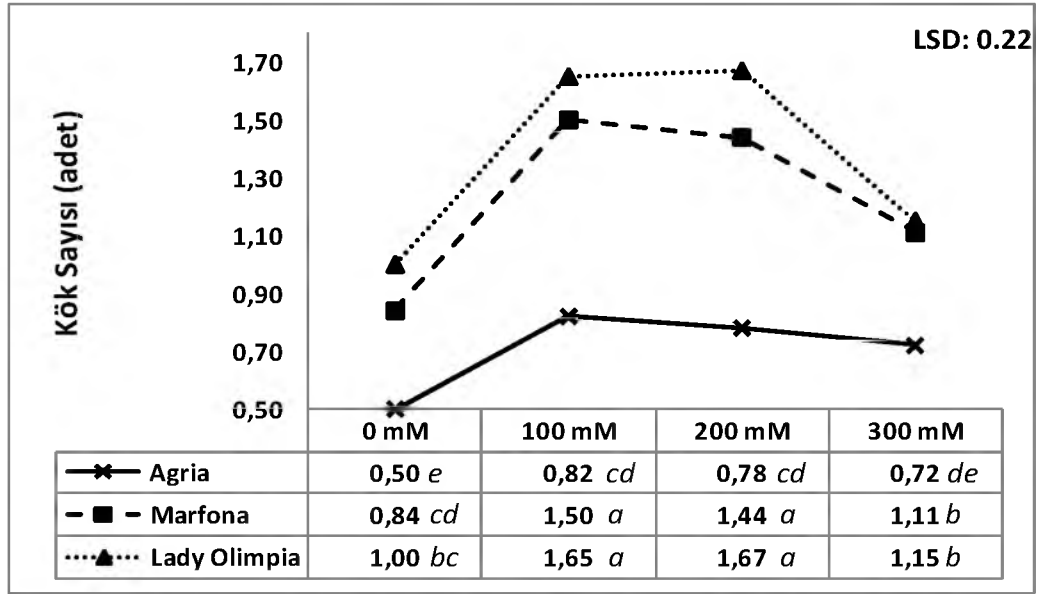
** : % 1 seviyesinde önemlidir.

Uygulanan EMS dozlarının etkileri istatistiki bakımından aralarında farklılık olmamakla birlikte 100 ve 200 mM EMS dozunda kök sayısı artmış, genellikle uygulanan tüm dozlar kök sayısında artışa neden olmuştur (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkiciklerin kök sayıları (adet)

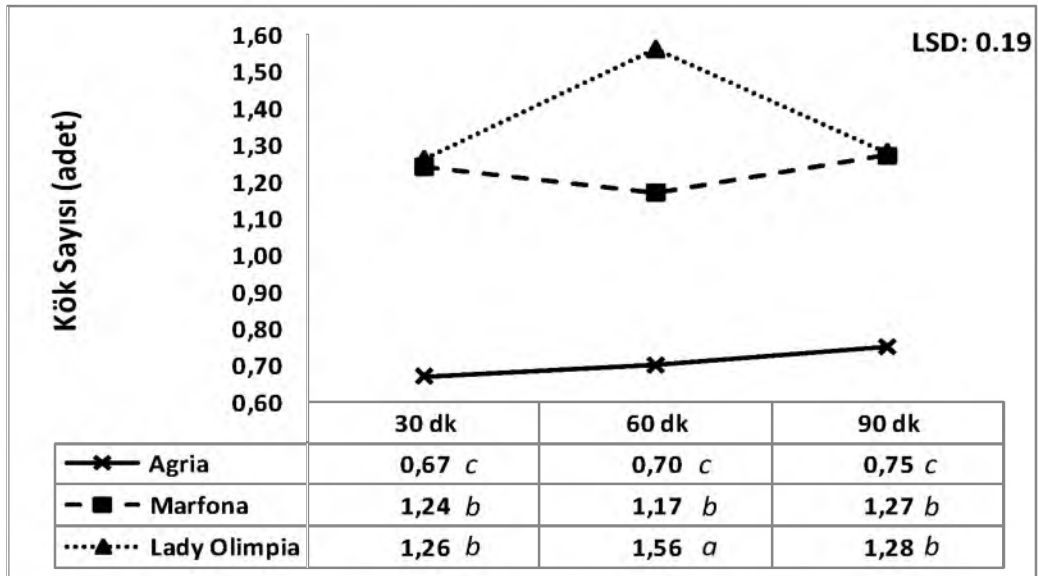
Çeşit	Uygulama süresi (dk)	EMS dozları (mM)				Ortalama
		Kontrol	100	200	300	
Agria	30	0.50	0.78	0.72	0.67	0.67
	60	0.50	0.78	0.78	0.72	0.70
	90	0.50	0.89	0.84	0.78	0.75
	Ortalama	0.50	0.82	0.78	0.72	0.71 C
Marfona	30	0.84	1.39	1.39	1.33	1.24
	60	0.84	1.33	1.28	1.22	1.17
	90	0.84	1.78	1.67	0.78	1.27
	Ortalama	0.84	1.50	1.44	1.11	1.22 B
Lady Olimpia	30	1.00	1.00	2.00	1.06	1.26
	60	1.00	2.33	1.50	1.39	1.56
	90	1.00	1.61	1.50	1.00	1.28
	Ortalama	1.00	1.65	1.67	1.15	1.37 A
	30	0.78	1.06	1.37	1.02	1.06
	60	0.78	1.48	1.19	1.11	1.14
	90	0.78	1.43	1.33	0.85	1.10
GENEL ORTALAMA		0.78 C	1.32 A	1.30 A	1.00 B	
LSD Çeşit (Ç): 0.11 Doz (D): 0.13 ÇxD: 0.22						
ÇxUS: 0.19 DxUS: 0.22 ÇxDxUS: 0.39						

Kök sayısı bakımından çeşit x doz arasındaki interaksyona göre her üç çeşitte de EMS uygulamaları kontrole göre kök sayısını arttırmıştır. EMS'nin 100 ve 200 mM dozları kök sayısını arttırırken, 300 mM EMS uygulaması kök sayısını azaltmıştır (Şekil 4.23).



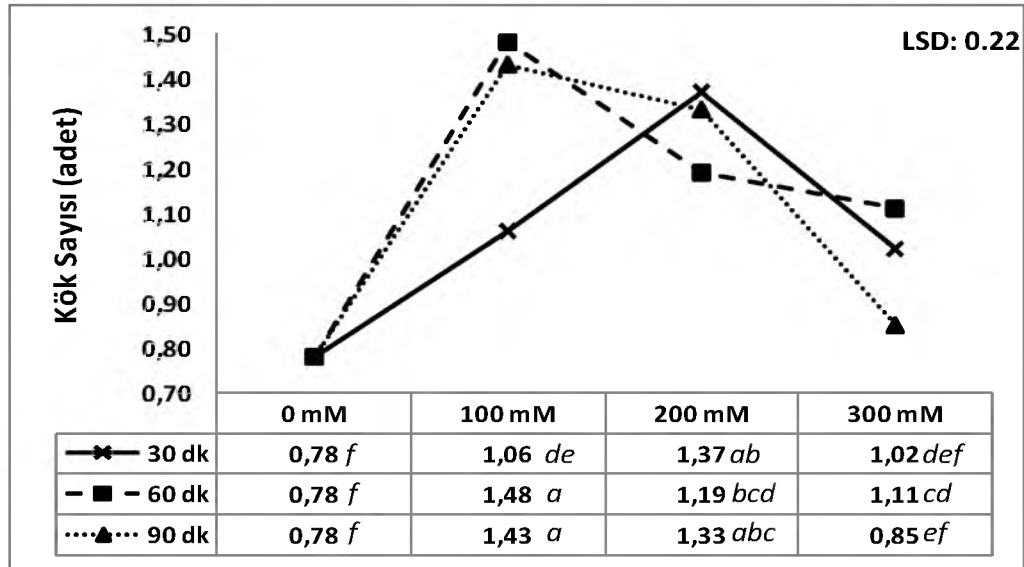
Şekil 4.23. Kök sayısına çeşit x uygulama dozu interaksiyonunun etkisi

In vitro koşullarda gelişen bitkiciklerin kök sayısına EMS uygulama sürelerinin etkisi çeşitlere göre incelendiğinde, Lady Olimpia çeşidinin 60 dk EMS uygulaması en fazla kök oluşumuna neden olurken (1.56 adet), diğer çeşitlerde uygulama süresinin kök oluşumu üzerine etkileri önemsiz olmuştur (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Kök sayısına çeşit x uygulama süresi interaksiyonunun etkisi

Doz x uygulama süresi interaksyonu bakımından genel olarak kontrol grubu hariç tüm dozlarda ve sürelerde kök sayısı artış göstermiş, 30 dk sürede artan dozlarda (300 mM hariç) kök oluşumu artmış, ancak 60 ve 90 dk uygulamalarda ise 100 mM uygulamadan sonra doz arttıkça kök sayısında azalmalar görülmüş, fakat bu değerler kontrol gruplarından elde edilen kök sayılarına göre daha fazla olmuştur (Şekil 4.25).

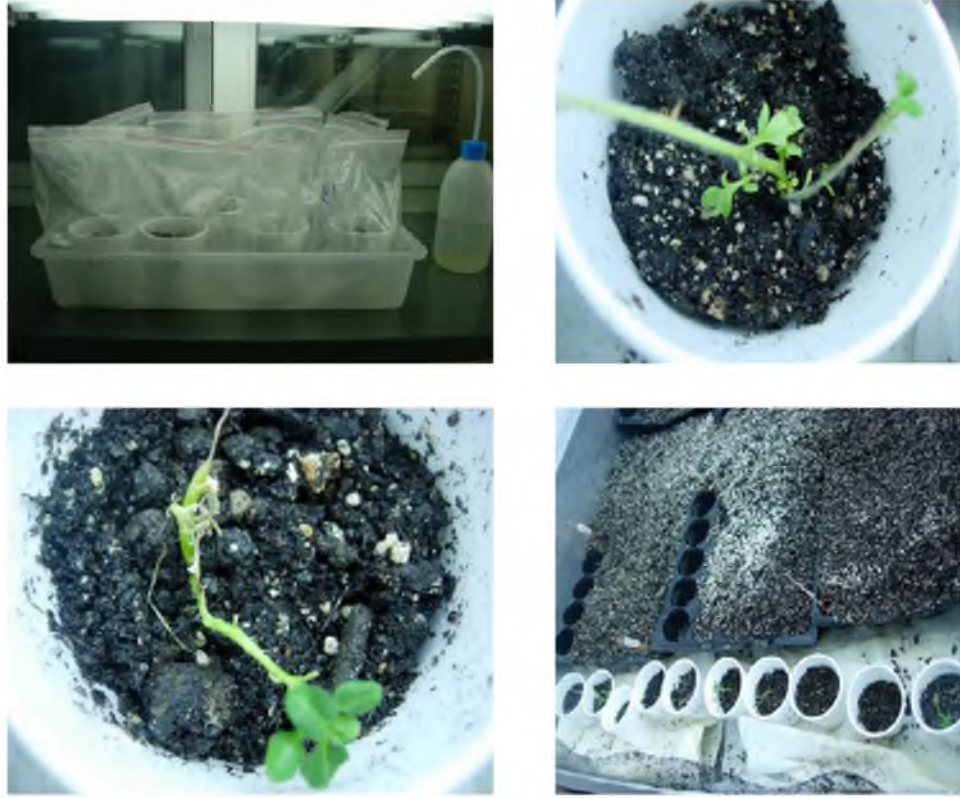


Şekil 4.25. Kök sayısına uygulama dozu x uygulama süresi interaksyonunun etkisi

Araştırmada, kök sayısına EMS'nin etkisi bakımından çeşit x uygulama süresi x doz interaksyonunda en yüksek değerler Lady Olimpia çeşidinin 60 dk 100 mM EMS uygulamasında (2.33 adet), en düşük kök sayısı değeri ise Agria çeşidinin kontrol grubunda (0.50 adet) belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

4.1.2. EMS uygulanan sürgün uçlarından elde edilen bitkiciklerin dış ortama aktarılması

Rejenerasyon ortamında 4-5 cm boya ulaşan bitkiciklerin toprak ve torf (1:1) bulunan saksılara şaşırtılarak dış koşullara uyumu sağlanmış ve daha sonra hasat zamanında morfolojik gözlemlerin yapılması için dış ortama aktarımları yapılmış, ancak yaklaşık 1 hafta sonra bitkiler canlılıklarını yitirmiştir (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. *In vitro* koşullarda elde edilen bitkiciklerin dış ortama aktarılması

4.2. Dış Koşullar ile İlgili Çalışmalar

4.2.1. EMS uygulanan klonlardan elde edilen bitkilerin çıkış ve canlılık oranları (%)

Üç farklı patates çeşidine (Agria, Marfona ve Lady Olimpia) ait yumru gözlerine 4 farklı doz (% 0.0, % 0.2, % 0.4 ve % 0.6) ve 2 farklı sürede (daldırma ve 3 saat) EMS uygulanmış ve uygulama yapılan her bir göz viyollere dikilmiş, belirli bir boya ulaşan fideler tekrar araziye şaşırtılmıştır. EMS uygulaması yapılan her bir çeşidin çıkış oranı ve arazideki canlı kalabilme oranı %'de olarak hesaplanmıştır.

Genel olarak çeşitlerin, bitki çıkışı oranları incelendiğinde ortalama olarak en yüksek oranlar Lady Olimpia çeşidinde (% 84.16) gözlenmiş, bu oranları Marfona (% 63.13) ve Agria (% 50.94) çeşitleri izlemiştir (Çizelge 4.13). Patates bitkilerinin canlı kalabilme oranları bakımından yine ortalama olarak Lady Olimpia çeşidi % 99.69

oranla ilk sırada yer alırken, Marfona (% 86.82) ve Agria (% 83.45) çeşitleri daha düşük oranlarda canlı kalabilmiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.13. EMS uygulanan patates çeşitleri klonlarından bitki çıkış oranları (%)

Çeşit	Uygulama süresi	EMS dozları (%)				ORTALAMA
		Kontrol	0.2	0.4	0.6	
Agria	Daldırma	92.50	35.00	67.50	75.00	67.50
	3 saat	92.50	2.50	5.00	37.50	34.38
	Ortalama	92.50	18.75	36.25	56.25	50.94
Marfona	Daldırma	95.00	65.00	67.50	45.00	68.13
	3 saat	95.00	35.00	65.00	37.50	58.13
	Ortalama	95.00	50.00	66.25	41.25	63.13
Lady Olimpia	Daldırma	97.50	80.00	85.00	92.50	88.75
	3 saat	97.50	70.00	77.50	72.50	79.38
	Ortalama	97.50	75.00	81.25	82.50	84.06
	Daldırma	95.00	60.00	73.33	70.83	74.79
	3 saat	95.00	35.83	49.17	49.17	57.29
	Ortalama	95.00	47.92	61.25	60.00	66.04

EMS dozları bakımından kontrol grubu hariç doz arttıkça bitki çıkış oranları artış göstermiş (Çizelge 4.13), ancak canlı kalabilme oranının da azalmalar meydana gelmiştir(Çizelge 4.14).

Patates yumru gözlerine EMS uygulama süreleri arttıkça bitki çıkış oranları ve canlı bitki oranlarında azalma tespit edilmiştir (sırasıyla Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14)

Çizelge 4.14. EMS uygulanan patates çeşitleri klonlarının canlı bitki oranları (%)

Çeşit	Uygulama süresi	EMS dozları (%)				ORTALAMA
		Kontrol	0.2	0.4	0.6	
Agria	Daldırma	100.00	85.71	85.18	80.00	87.72
	3 saat	100.00	100.00	50.00	66.67	79.17
	Ortalama	100.00	92.86	67.59	73.34	83.45
Marfona	Daldırma	100.00	73.08	85.18	94.44	88.18
	3 saat	100.00	71.43	100.00	70.37	85.45
	Ortalama	100.00	72.26	92.59	82.41	86.82
Lady Olimpia	Daldırma	100.00	100.00	100.00	97.50	99.38
	3 saat	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	Ortalama	100.00	100.00	100.00	98.75	99.69
	Daldırma	100.00	86.26	90.12	90.65	91.76
	3 saat	100.00	90.48	83.33	79.01	88.21
	Ortalama	100.00	88.37	86.73	84.83	89.98

4.2.2. Patates klonlarına ait bitkilerin dış görünüşleri

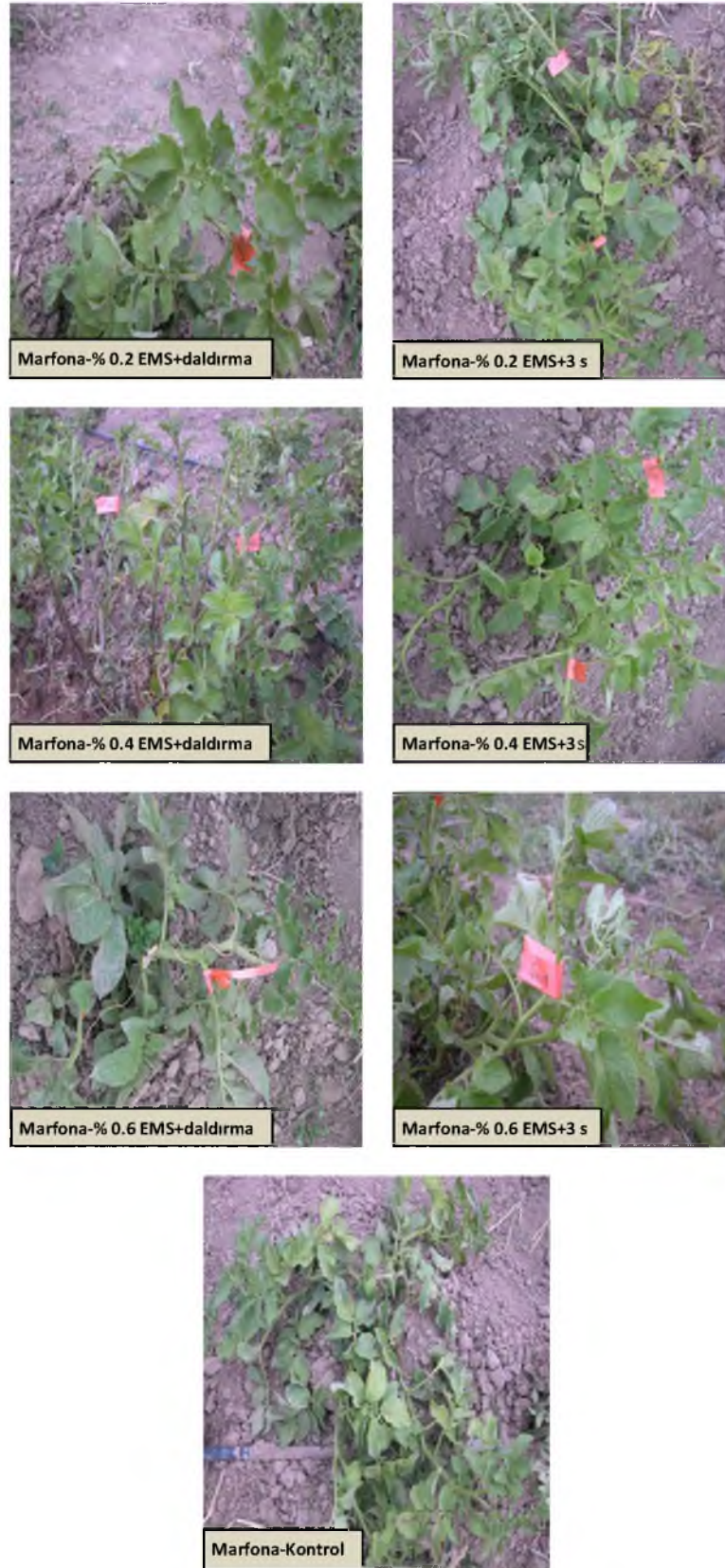
Üç farklı patates çeşitlerine ait yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulamaları patates çeşitlerinde bitki boyu, büyüme şekli, yaprak tipi ve çiçek rengi bakımından varyasyonların oluşumuna sebep olmuştur (Çizelge 4.15) (Şekil 4.27, 4.28 ve 4.29).

Çizelge 4.15. Yumru gözlerine EMS uygulanan patates çeşitlerine ait bitkilerin dış görünüşleri

Çeşit	EMS dozu	Uygulama süresi	Bitkinin Genel Görünümü
Agria	0	0	Mor renkli gövde, dik, yaygın, geniş yaprak, beyaz renkli çiçek
	0.2	Daldırma	Koyu yeşil, kısa boylu, kıvrıkcık ve orta-geniş yapraklar
		3 saat	Uzun ve yatık, yapraklar orta büyüklükte-çok kıvrıkcık
	0.4	Daldırma	Dik ve kısa-uzun boylu, orta geniş yaprak, az dallı
		3 saat	Uzun-yatık, yapraklar kıvrıkcık
	0.6	Daldırma	Sık boğumlu, yatık, sadece uçlarda yaprak, orta-geniş-kıvrıkcık yaprak
		3 saat	Çok uzun-yatık, gür bitki, yapraklar çok kıvrıkcık, beyazımsı - mor erguvan renkli çiçek.
Marfona	0	0	Mor renkli gövde, hafif yatık, geniş yaprak, beyaz renkli çiçek
	0.2	Daldırma	Çok koyu yeşil, yatık ya da dik, alt yapraklar geniş, üst yapraklar kıvrıkcık
		3 saat	Uzun ya da kısa boylu, yatık, orta geniş yapraklı, boğum araları uzun, fazla sayıda sap oluşumu
	0.4	Daldırma	Orta koyu renkli, kısa ya da uzun boylu, dik, geniş-kıvrıkcık-seyrek yapraklı, alttaki yaprak düz, üsttekiler çok küçük kıvrıkcık, fazla sayıda sap oluşumu.
		3 saat	Uzun boylu, yatık ya da dik, orta geniş düz ya da kıvrıkcık yaprak, seyrek boğumlu.
	0.6	Daldırma	Koyu yeşil, kısa ya da uzun boylu, yatık, yapraklar orta genişlikte-hafif kıvrıkcık, sık ya da seyrek boğumlu
		3 saat	Uzun boylu, dik ya da yatık, yapraklar küçük-orta kıvrıkcık-seyrek ya da geniş yapraklı
Lady Olimpia	0	0	Çok uzun boylu, yarı dik, geniş yapraklı, beyaz renkli çiçek
	0.2	Daldırma	Uzun ya da kısa boylu, dik ya da yatık, çok geniş-yuvarlak uçlu ya da çok kıvrık yapraklı, fazla dallanma ve boğumlar çok sık.
		3 saat	Kısa boylu, yatık, çok geniş yapraklı.
	0.4	Daldırma	Uzun ya da kısa boylu, yatık, çok dallı, geniş-düz, geniş-kıvrıkcık ya da geniş-yuvarlak uçlu yapraklı, boğumlar sık.
		3 saat	Uzun ya da kısa boylu, dik ya da yatık, çok geniş-düz ya da çok kıvrıkcık yapraklı.
	0.6	Daldırma	Uzun ya da kısa boylu, yatık, gür, çok kıvrıkcık ya da yuvarlak yapraklı, çok fazla dallı.
		3 saat	Uzun ya da kısa boylu, yatık, geniş-düz ya da kıvrıkcık yapraklı, boğumlar sık.



Şekil 4.27. Agria klonlarından oluşan bitkilerin genel görünümü



Şekil 4.28. Marfona klonlarından oluşan bitkilerin genel görünümü



Şekil 4.29. Lady Olimpia klonlarından oluşan bitkilerin genel görünümü

Genel olarak Çizelge 4.15 incelendiğinde, Agria çeşidinde % 0.6 EMS + 3 saat uygulamada 1 adet klonda beyazımsı - mor erguvan renkli çiçek oluşumu gözlenmiştir. Marfona çeşidine ait EMS uygulanan klonlarda (% 0.2 EMS + 3 saat ve % 0.4 EMS + daldırma) sap fazla meydana gelmiştir. Lady Olimpia çeşidinde bitkinin dış görünüşünde varyasyon olarak ise, çok kıvrık yapraklı, fazla dallanma (sırasıyla % 0.2 ve % 0.6 EMS + daldırma) ve çok sık boğumlu bitkiler (% 0.2 ve 0.4 EMS + daldırma ve % 0.6 EMS + 3 saat) tespit edilmiştir.

4.2.3. Tarla koşullarında incelenen morfolojik özellikler

Üç farklı patates çeşidine ait yumru gözlerine, belirli doz ve sürelerde EMS uygulandıktan sonra gözlerden çıkan fideler araziye şaşırtılmış ve daha sonra gelişen her bitkinin boyu (cm), bitki başına sap sayısı (adet), ocak başına küçük yumru sayısı (adet), ocak başına orta yumru sayısı (adet), ocak başına büyük yumru sayısı (adet), ocak başına toplam yumru sayısı (adet), ocak başına küçük yumru verimi (g), ocak başına orta yumru verimi (g), ocak başına büyük yumru verimi (g) ve ocak başına toplam yumru verimi (g) belirlenmiştir.

Ayrıca, EMS dozu ve uygulama sürelerinin bitkinin gelişmesinde stabil bir değişime neden olmadığı gözlenmiş, buna bağlı olarak da her bir uygulamanın farklı etki ettiği düşünülmüştür. Bunun neticesinde, her bir göze farklı uygulamalardan elde edilen bitkiler klon olarak ele alınarak kontrol gruplarının standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

4.2.3.1. Bitki boyu (cm)

Araştırmada kullanılan patates çeşitlerinin bitki boyuna (cm) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.16'da, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.17'de verilmiştir.

Çizelge 4.16. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin boyuna ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	2922.662	112.38**
Doz (D)	3	6.976	0.27
Uygulama süresi (US)	1	773.035	29.72**
ÇxD	6	134.172	5.16**
ÇxUS	2	298.579	11.48**
DxUS	3	154.886	5.96**
ÇxDxUS	6	77.876	2.99**
HATA	156	26.006	
VK : 13.00			

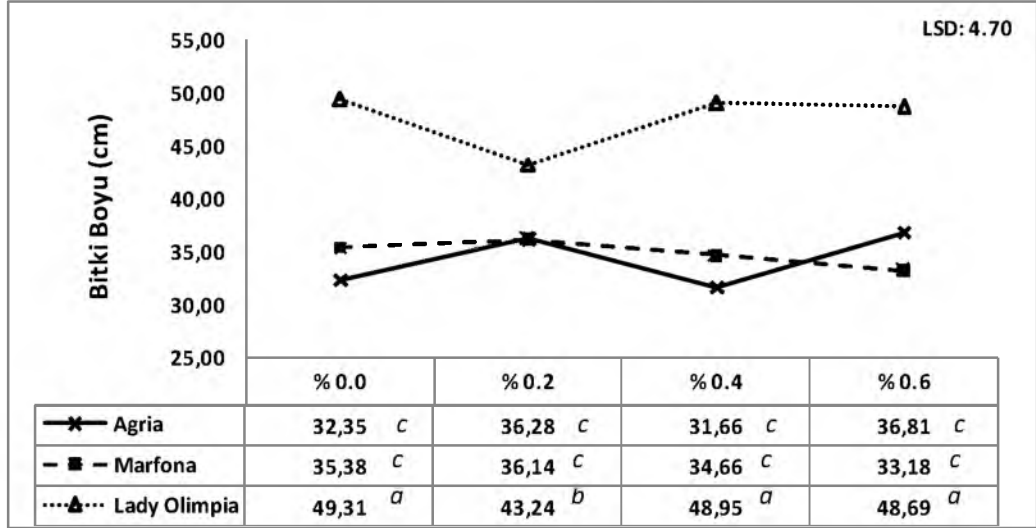
** : % 1 seviyesinde önemlidir.

Arazi koşullarında patatesten bitki boyu üzerine çeşidin etkisi istatistiki bakımından önemli olmuş, en yüksek bitki boyu Lady Olimpia çeşidinde (47.55 cm) belirlenmiş, bu çeşidi Marfona (34.84 cm) ve Agria (34.34 cm) çeşitleri izlemiştir (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin boyları (cm)

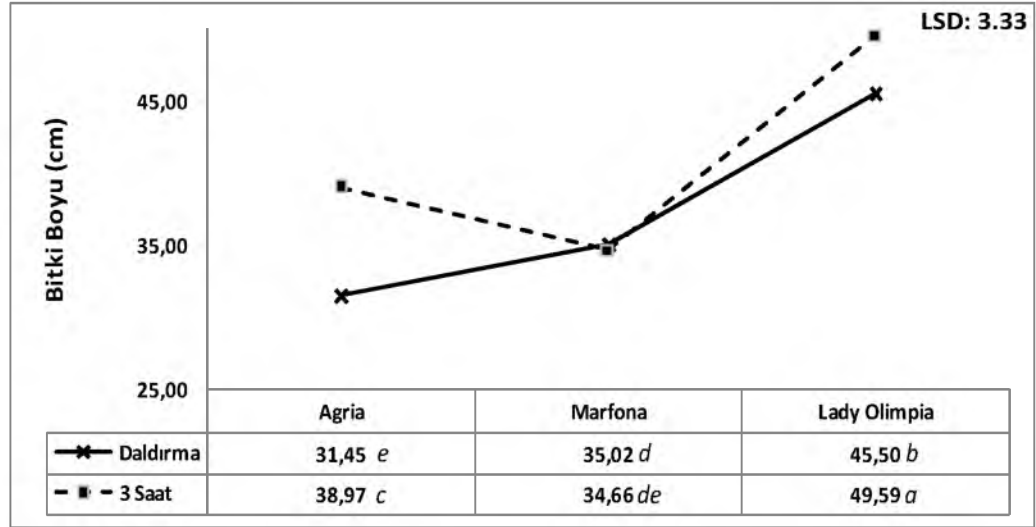
Çeşit	Uygulama süresi	EMS dozları (%)				Ortalama
		Kontrol	0.2	0.4	0.6	
Agria	Daldırma	32.35 gh	33.40 gh	29.10 h	30.96 h	31.45 E
	3 saat	32.35 gh	47.83 abc	41.88 c-f	42.66 b-e	38.97 C
	Ortalama	32.35 C	36.28 C	31.66 C	36.81 C	34.34 B
Marfona	Daldırma	35.38 e-h	36.06 e-h	34.41 fgh	34.23 gh	35.02 D
	3 saat	35.38 e-h	36.23 e-h	34.91 fgh	32.14 gh	34.66 DE
	Ortalama	35.38 C	36.14 C	34.66 C	33.18 C	34.84 B
Lady Olimpia	Daldırma	49.31 abc	38.88 d-g	43.70 bcd	50.13 ab	45.50 B
	3 saat	49.31 abc	47.61 abc	54.20 a	47.26 abc	49.59 A
	Ortalama	49.31 A	43.24 B	48.95 A	48.69 A	47.55 A
GENEL ORTALAMA	Daldırma	39.01 bc	36.11 c	35.74 c	38.44 bc	37.32 b
	3 saat	39.01 bc	42.57 ab	44.26 a	40.69 ab	41.38 a
		39.01	38.88	39.39	39.56	
LSD	Çeşit (Ç): 2.35**	Uygulama süresi (US): 1.51**	ÇxD: 4.70**			
	ÇxUS: 3.33**	DxUS: 3.84**	ÇxDxUS: 6.65**			

Çeşitlerin bitki boyları EMS dozlarına göre değişmiştir. Bitki boyu bakımından Agria ve Marfona çeşitlerinde doza bağlı olarak herhangi bir farklılık görülmezken, Lady Olimpia çeşidinde % 0.2 EMS dozu uygulamasının bitki boyunu azalttığı belirlenmiştir (Şekil 4.30).



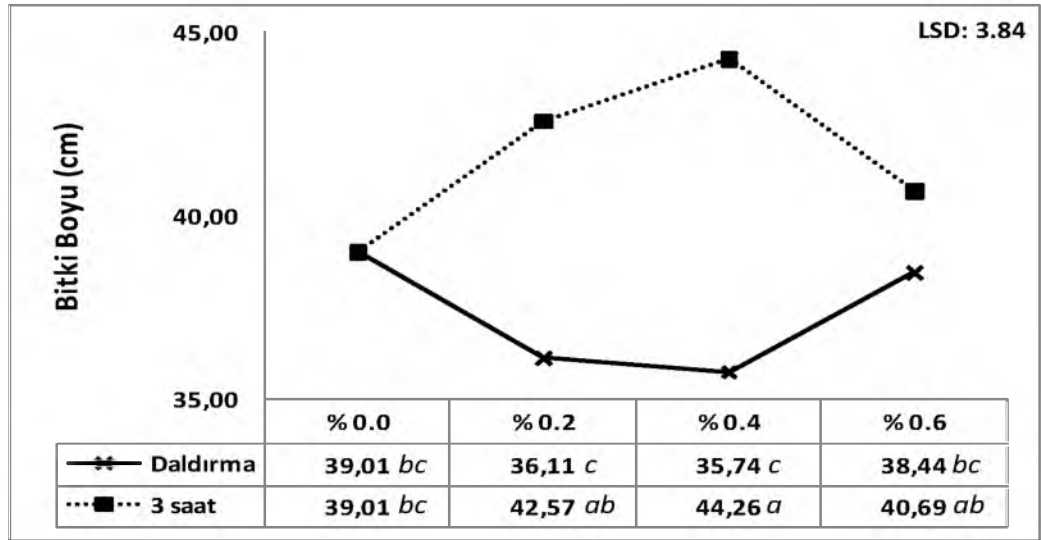
Şekil 4.30. Bitki boyuna çeşit x uygulama dozu interaksiyonunun etkisi

Bitki boyu bakımından Marfona çeşidinde uygulama süresinin etkisi bulunmazken, diğer iki çeşitte de uygulama süresinin artması ile bitki boyu artmıştır (Şekil 4.31).



Şekil 4.31. Bitki boyuna çeşit x uygulama süresi interaksiyonunun etkisi

Patatesin arazi koşullarında bitki boyu üzerine doz ve uygulama sürelerinin etkileşimlerine bakıldığında daldırma ile bitki boyu önemli seviyede değişmezken, 3 saat uygulama yapıldığında doza bağlı olarak bitki boyunun kısmen arttığı en yüksek dozda ise azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.32).



Şekil 4.32. Bitki boyuna uygulama dozu x uygulama süresi interaksyonunun etkisi

Bitki boyu üzerine çeşit x doz x uygulama süresi intraksiyonunun etkisi önemli çıkmıştır. En fazla bitki boyu Lady Olimpia çeşidinde 54.20 cm değer ile % 0.4 EMS + 3 saat uygulamadan elde edilmiştir. En düşük bitki boyu ise Agria çeşidinde % 0.4 EMS + daldırma uygulamasında gözlenmiştir (29.10 cm) (Çizelge 4.18).

4.2.3.2. Bitki başına sap sayısı (adet)

Araştırmada kullanılan patates çeşitlerinin sap sayısına (adet) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.18’de, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.19’da verilmiştir. Sap sayısı bakımından varyans analiz sonuçlarına göre ele alınan tüm faktörler ve interaksyonları istatistiki olarak önemsiz çıkmıştır (Çizelge 4.18)

Çizelge 4.18. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin sap sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	0.057	0.77
Doz (D)	3	0.089	0.21
Uygulama süresi (US)	1	0.017	0.23
ÇxD	6	0.037	0.50
ÇxUS	2	0.036	0.49
DxUS	3	0.084	1.13
ÇxDxUS	6	0.049	0.66
HATA	156	0.074	
VK : 25.19			

Çizelge 4.19. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin sap sayıları (adet)

Çeşit	Uygulama süresi	EMS dozları (%)				Ortalama
		Kontrol	0.2	0.4	0.6	
Agria	Daldırma	1.00	1.13	1.00	1.13	1.06
	3 saat	1.00	1.00	1.00	1.13	1.05
	Ortalama	1.00	1.10	1.00	1.13	1.06
Marfona	Daldırma	1.00	1.38	1.00	1.00	1.09
	3 saat	1.00	1.00	1.00	1.13	1.03
	Ortalama	1.00	1.19	1.00	1.06	1.06
Lady Olimpia	Daldırma	1.13	1.13	1.00	1.13	1.09
	3 saat	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13
	Ortalama	1.13	1.13	1.06	1.13	1.11
	Daldırma	1.04	1.21	1.00	1.08	1.08
	3 saat	1.04	1.06	1.06	1.13	1.07
GENEL ORTALAMA		1.04	1.14	1.02	1.10	

4.2.3.3. Ocak başına küçük yumru sayısı (adet)

Araştırmada kullanılan patates çeşitlerinin küçük yumru sayısına (adet) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.20’de, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.21’de verilmiştir.

Yumru gözlerinden elde edilen bitkilerde, küçük yumru sayısı üzerine çeşitlerin etkileri önemli olmuş, ortalama olarak Marfona, Agria ve Lady Olimpia çeşidi sırasıyla 2.69, 2.54 ve 2.00 adet küçük yumru oluşturmıştır (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.20. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına küçük yumru sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	9.496	4.57*
Doz (D)	3	7.437	3.58*
Uygulama süresi (US)	1	0.024	0.01
ÇxD	6	3.912	1.86
ÇxUS	2	5.117	2.40
DxUS	3	2.561	1.24
ÇxDxUS	6	1.159	0.55
HATA	156	2.091	
VK : 60.26			

*: % 5 seviyesinde önemlidir.

Patatesin arazi koşullarında, küçük yumru sayısı üzerine EMS dozlarının önemli bir etkisi görülmüş, EMS uygulamaları kontrol grubuna göre küçük yumru sayısını azaltmıştır (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına küçük yumru sayıları (adet)

Çeşit	Uygulama süresi	EMS dozları (%)				Ortalama
		Kontrol	0.2	0.4	0.6	
Agria	Daldırma	3.50	2.50	1.75	1.63	2.34
	3 saat	3.50	3.00	4.00	1.88	2.85
	Ortalama	3.50	2.60	2.20	1.75	2.54 a
Marfona	Daldırma	3.13	3.50	2.00	3.25	2.97
	3 saat	3.13	2.75	1.38	2.38	2.41
	Ortalama	3.13	3.13	1.69	2.81	2.69 a
Lady Olimpia	Daldırma	2.00	2.88	1.13	2.25	2.06
	3 saat	2.00	2.25	1.88	1.63	1.94
	Ortalama	2.00	2.56	1.50	1.94	2.00 b
	Daldırma	2.88	2.96	1.63	2.38	2.46
	3 saat	2.88	2.56	1.89	1.96	2.33
GENEL ORTALAMA		2.88 A	2.79 A	1.74 B	2.17 B	
LSD Çeşit (Ç): 0.51* Doz (D): 0.58*						

4.2.3.4. Ocak başına orta yumru sayısı (adet)

Araştırmada kullanılan patates çeşitlerinin ocak başına orta yumru sayısına (adet) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.22’de, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.23’de verilmiştir. Orta yumru sayısı bakımından varyans analiz sonuçlarına göre doz istatistiki olarak $P < 0.01$ seviyesinde önemli; çeşit, uygulama süresi, çeşit x doz, çeşit x uygulama süresi, doz x uygulama süresi ve çeşit x doz x uygulama süresi interaksiyonları önemsiz olmuştur (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına orta yumru sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	0.074	0.11
Doz (D)	3	9.755	14.07**
Uygulama süresi (US)	1	1.838	2.65
ÇxD	6	0.282	0.41
ÇxUS	2	0.574	0.83
DxUS	3	1.375	1.98
ÇxDxUS	6	0.262	0.38
HATA	156	0.693	
VK : 66.60			

** : % 1 seviyesinde önemlidir.

EMS dozlarının orta yumru sayısına etkisi incelendiğinde, doz miktarının artışı ile birlikte orta yumru sayısında azalma meydana gelmiştir. (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına orta yumru sayıları (adet)

Çeşit	Uygulama süresi	EMS dozları (%)				Ortalama
		Kontrol	0.2	0.4	0.6	
Agria	Daldırma	2.00	1.13	1.50	0.88	1.38
	3 saat	2.00	1.00	0.00	0.75	1.20
	Ortalama	2.00	1.10	1.20	0.81	1.31
Marfona	Daldırma	1.75	1.00	1.50	1.13	1.34
	3 saat	1.75	1.13	0.88	0.75	1.13
	Ortalama	1.75	1.06	1.19	0.94	1.23
Lady Olimpia	Daldırma	1.88	1.00	1.13	0.88	1.22
	3 saat	1.88	1.38	0.88	0.75	1.22
	Ortalama	1.88	1.19	1.00	0.81	1.22
	Daldırma	1.88	1.04	1.38	0.96	1.31
	3 saat	1.88	1.22	0.78	0.75	1.18
GENEL ORTALAMA		1.88 A	1.12 B	1.12 B	0.85 B	
LSD Doz (D): 0.44**						

4.2.3.5. Ocak başına büyük yumru sayısı (adet)

Araştırmada kullanılan patates çeşitlerinin büyük yumru sayısına (adet) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.24’de, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.25’de verilmiştir.

Çizelge 4.24. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına büyük yumru sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	11.547	16.83**
Doz (D)	3	7.661	11.17**
Uygulama süresi (US)	1	0.000	0.00
ÇxD	6	3.206	4.67**
ÇxUS	2	0.172	0.25
DxUS	3	0.184	0.27
ÇxDxUS	6	1.164	1.70
HATA	156	0.686	
VK : 88.74			

** : % 1 seviyesinde önemlidir.

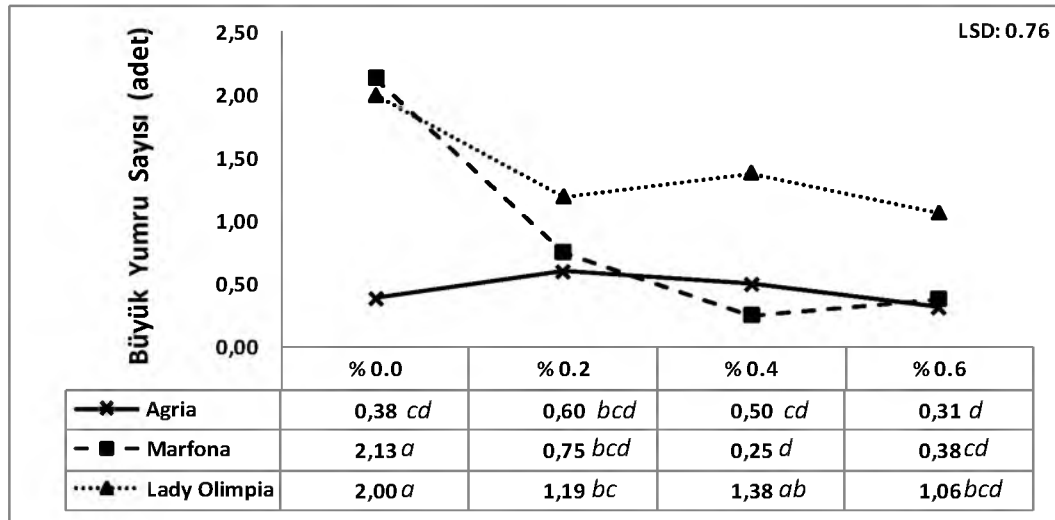
Çizelge 4.25. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına büyük yumru sayıları (adet)

Çeşit	Uygulama süresi	EMS dozları (%)				Ortalama
		Kontrol	0.2	0.4	0.6	
Agria	Daldırma	0.38	0.75	0.38	0.13	0.41
	3 saat	0.38	0.00	1.00	0.50	0.45
	Ortalama	0.38 cd	0.60 bcd	0.50 cd	0.31 d	0.42 C
Marfona	Daldırma	2.13	1.00	0.25	0.38	0.94
	3 saat	2.13	0.50	0.25	0.38	0.81
	Ortalama	2.13 a	0.75 bcd	0.25 d	0.38 cd	0.88 B
Lady Olimpia	Daldırma	2.00	0.75	1.38	1.38	1.38
	3 saat	2.00	1.63	1.38	0.75	1.44
	Ortalama	2.00 a	1.19 bc	1.38 ab	1.06 bcd	1.41 A
	Daldırma	1.50	0.83	0.67	0.63	0.91
	3 saat	1.50	0.94	0.83	0.54	0.96
GENEL ORTALAMA		1.50 A	0.88 B	0.74 B	0.58 B	
LSD	Çeşit (Ç): 0.38**	Doz (D): 0.44**	Çx D: 0.76**			

Çalışmada, büyük yumru sayısı çeşitlere göre önemli seviyede değişmiş ve en fazla Lady Olimpia çeşidinde belirlenmiş (1.41 adet), bu çeşidi Marfona ve Agria çeşidi izlemiştir (sırasıyla 0.88 ve 0.42 adet) (Çizelge 4.25).

Araştırmada yumru gözlerine uygulanan EMS dozlarının, büyük yumru sayısına etkisi önemli olmuştur. Uygulanan EMS dozları kontrole göre yumru sayısında azalmalara sebep olmuş, en düşük yumru sayısı 0.58 adet ile % 0.6 EMS dozunda tespit edilmiş ve doz arttıkça büyük yumru sayısında düşüşler meydana gelmiştir (Çizelge 4.25).

Büyük yumru sayısı bakımından çeşit x EMS dozu interaksyonu önemli çıkmıştır. Genel olarak EMS'nin % 0.6 dozu düşük sayıda büyük yumruyu meydana getirmiştir. Agria çeşidinde büyük yumru sayısı doza bağlı olarak değişmezken, diğer iki çeşitte doz artışına paralel olarak büyük yumru sayısının azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.33).



Şekil 4.33. Büyük yumru sayısına çeşit x uygulama dozu interaksiyonunun etkisi

4.2.3.6. Ocak başına toplam yumru sayısı (adet)

Çalışmada patates çeşitlerinin ocak başına toplam yumru sayısına (adet) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.26'da, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.27'de verilmiştir.

Çizelge 4.26. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına toplam yumru sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	2.731	1.12
Doz (D)	3	66.720	27.40**
Uygulama süresi (US)	1	1.504	0.62
ÇxD	6	4.621	1.90
ÇxUS	2	5.474	2.25
DxUS	3	1.649	0.68
ÇxDxUS	6	2.221	0.91
HATA	156	379.875	
VK : 34.05			

** : % 1 seviyesinde önemlidir.

Araştırmada, üç patates çeşidine ait yumru gözlerine uygulanan EMS dozları toplam yumru sayısını etkilemiş, artan EMS dozlarında yumru sayısı azalmış ve en düşük yumru sayısı, istatistiki bakımından aralarında farklılık olmamakla birlikte % 0.4 ve 0.6 EMS dozlarında meydana gelmiştir (3.60 adet) (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.27. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına toplam yumru sayıları (adet)

Çeşit	Uygulama süresi	EMS dozları (%)				Ortalama
		Kontrol	0.2	0.4	0.6	
Agria	Daldırma	5.88	4.38	3.63	2.63	4.13
	3 saat	5.88	4.00	5.00	3.13	4.50
	Ortalama	5.88	4.30	3.90	2.88	4.27
Marfona	Daldırma	7.00	5.50	3.75	4.75	5.25
	3 saat	7.00	4.38	2.50	3.50	4.34
	Ortalama	7.00	4.94	3.13	4.13	4.80
Lady Olimpia	Daldırma	5.88	4.63	3.63	4.50	4.66
	3 saat	5.88	5.25	4.13	3.13	4.59
	Ortalama	5.88	4.94	3.88	3.81	4.63
	Daldırma	6.25	4.83	3.67	3.96	4.68
	3 saat	6.25	4.72	3.50	3.25	4.48
GENEL ORTALAMA		6.25 A	4.79 B	3.60 C	3.60 C	
LSD Doz (D): 0.83**						

4.2.3.7. Ocak başına küçük yumru verimi (g)

Araştırmada kullanılan patates çeşitlerinin küçük yumru verimine (g) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.28’de, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.29’da verilmiştir.

Çizelge 4.28. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına küçük yumru verimine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	32481.900	17.86**
Doz (D)	3	64563.117	35.51**
Uygulama süresi (US)	1	3418.187	1.88
ÇxD	6	12267.257	6.75**
ÇxUS	2	2701.331	1.49
DxUS	3	1799.248	0.99
ÇxDxUS	6	1051.470	0.58
HATA	156	1818.249	
VK : 58.99			

** : % 1 seviyesinde önemlidir.

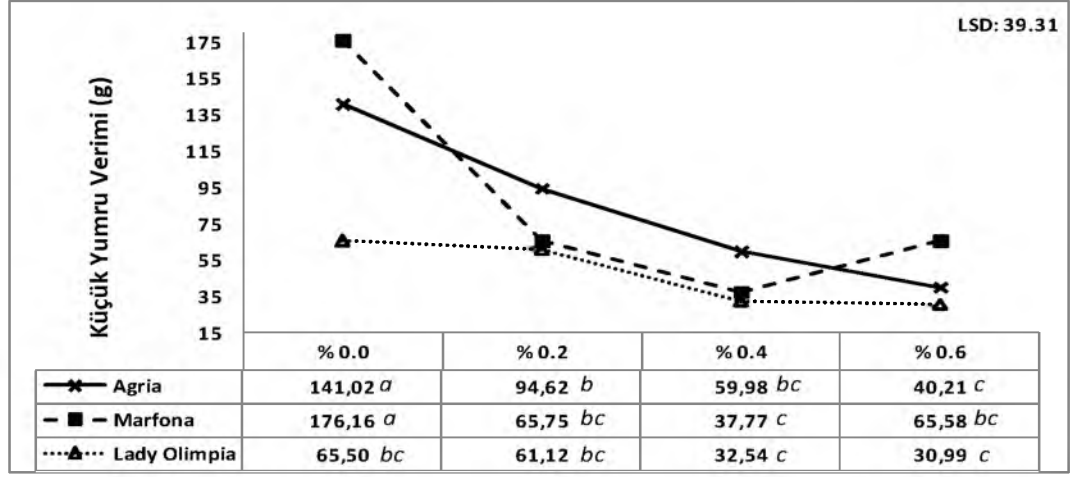
Patateste küçük yumru verimi üzerine çeşidin etkisi önemli olmuş, en yüksek verim ortalama olarak olarak Agria (85.49 g) ve Marfona (86.31 g) çeşitlerinde ortaya çıkmış, Lady Olimpia çeşidinde (47.54 g) ise en düşük verim saptanmıştır (Çizelge 4.29).

Küçük yumru verimi üzerine EMS dozlarının çok önemli bir etkisi görülmüş, kontrole göre EMS uygulamaları verimde azalmaya sebep olmuştur. Genellikle doz arttıkça küçük yumru veriminde azalmalar gözlenmiş ve en düşük değer % 0.4 EMS uygulamasından elde edilmiştir (Çizelge 4.29).

Çizelge 4.29. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına küçük yumru verimleri (g)

Çeşit	Uygulama süresi	EMS dozları (%)				Ortalama
		Kontrol	0.2	0.4	0.6	
Agria	Daldırma	141.02	87.88	47.23	36.88	78.25
	3 saat	141.02	121.56	111.00	43.55	97.08
	Ortalama	141.02 a	94.62 b	59.98 bc	40.21 c	85.49 A
Marfona	Daldırma	176.16	58.07	35.15	62.45	82.96
	3 saat	176.16	73.42	40.39	68.71	89.67
	Ortalama	176.16 a	65.75 bc	37.77 c	65.58 bc	86.31 A
Lady Olimpia	Daldırma	65.50	49.56	40.12	43.86	49.76
	3 saat	65.50	72.68	24.97	18.13	45.32
	Ortalama	65.50 bc	61.12 bc	32.54 c	30.99 c	47.54 B
	Daldırma	127.56	65.17	40.83	47.73	70.32
	3 saat	127.56	78.44	41.38	43.46	74.54
GENEL ORTALAMA		127.56 A	70.86 B	41.07 C	45.59 C	
LSD	Çeşit (Ç): 19.66**	Doz (D): 22.70**	ÇxD: 39.31**			

Çeşit x doz interkasiyonu ocak başına küçük yumru verimini önemli seviyede etkilemiş, Agria ve Marfona çeşitlerinde EMS uygulamaları kontrollere göre ocak başına küçük yumru verimini azaltırken, Lady Olimpia çeşidinde bu azalma önemli olmamıştır (Şekil 4.34).



Şekil 4.34. Küçük yumru verimine çeşit x uygulama dozu interaksiyonunun etkisi

4.2.3.8. Ocak başına orta yumru verimi (g)

Araştırmada kullanılan patates çeşitlerinin orta yumru verimine (g) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.30'de, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.31'de verilmiştir.

Çizelge 4.30. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına orta yumru verimine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	2681.952	0.47
Doz (D)	3	66937.718	11.77**
Uygulama süresi (US)	1	22979.485	4.04*
ÇxD	6	5265.735	0.93
ÇxUS	2	3420.736	0.60
DxUS	3	11524.621	2.03
ÇxDxUS	6	3400.995	0.60
HATA	156	5687.221	
VK : 70.56			

** : % 1 seviyesinde önemlidir. * : % 5 seviyesinde önemlidir.

Çalışmada uygulanan EMS dozlarının orta yumru verimine etkisi çok önemli çıkmış, EMS uygulamaları kontrol grubuna göre yumru verimini azaltırken, en düşük orta yumru verimi % 0.6 EMS dozundan elde edilmiştir (Çizelge 4.31).

Çizelge 4.31. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına orta yumru verimleri (g)

Çeşit	Uygulama süresi	EMS dozları (%)				Ortalama
		Kontrol	0.2	0.4	0.6	
Agria	Daldırma	171.33	109.87	118.54	49.16	112.23
	3 saat	171.33	70.48	0.00	78.97	107.17
	Ortalama	171.33	101.99	94.83	64.06	110.28
Marfona	Daldırma	171.29	88.06	158.29	92.01	127.41
	3 saat	171.29	82.01	69.96	49.25	93.13
	Ortalama	171.29	85.03	114.12	70.63	110.27
Lady Olimpia	Daldırma	130.38	89.05	109.23	88.43	104.27
	3 saat	130.38	106.89	79.81	71.73	97.20
	Ortalama	130.38	97.97	94.52	80.08	100.74
	Daldırma	157.67	95.66	128.69	76.53	114.64 <i>a</i>
	3 saat	157.67	91.79	66.56	66.65	98.02 <i>b</i>
GENEL ORTALAMA		157.67 A	94.00 B	102.06 B	71.59 B	
LSD Doz (D): 40.14** Uygulama süresi (US): 22.26*						

Uygulama süresi orta yumru verimini etkilemiş olup, aralarında farklılık olmamakla birlikte; daldırmada 114.64 g ile en yüksek, 3 saat uygulamada ise en düşük yumru verimi (98.02 g) elde edilmiştir (Çizelge 4.31).

4.2.3.9. Ocak başına büyük yumru verimi (g)

Araştırmada kullanılan patates çeşitlerinin büyük yumru verimine (g) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.32’de, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.33’de verilmiştir.

İncelenen faktörlerden çeşidin büyük yumru verimine etkisi istatistiki olarak önemli olmuş, en fazla yumru verimi Lady Olimpia (235.25 g) çeşidinde tespit edilirken, bu değeri Marfona (156.67 g) ve Agria (66.52 g) çeşitleri izlemiştir (Çizelge 4.33).

Çizelge 4.32. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına büyük yumru verimine ait varyans analiz sonuçları

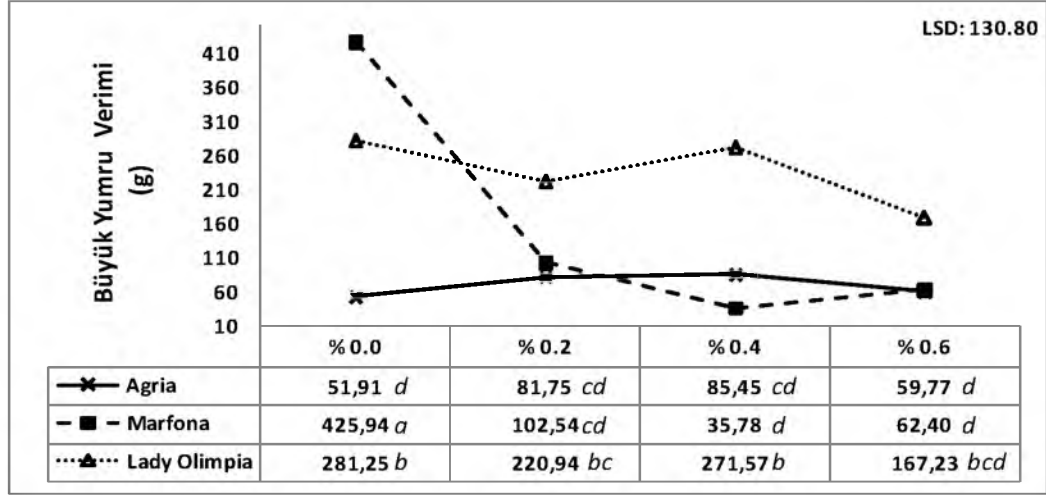
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	314041.516	15.61**
Doz (D)	3	218439.907	10.86**
Uygulama süresi (US)	1	10048.945	0.50
ÇxD	6	174319.637	8.67**
ÇxUS	2	4847.423	0.24
DxUS	3	12929.170	0.64
ÇxDxUS	6	25094.993	1.25
HATA	156	20115.259	
VK : 89.45			

** : % 1 seviyesinde önemlidir.

Uygulanan EMS dozlarının etkileri bakımından kontrol grubu hariç, aralarında farklılık olmamakla birlikte genellikle EMS dozu arttıkça büyük yumru verimlerinde azalmalar tespit edilmiştir (Çizelge 4.33). Bu etki çeşitler bazında farklılık göstermiştir. Genel olarak Marfona çeşidinde büyük yumru verimi bakımından EMS dozlarının artışı ile azalma belirlenirken, diğer çeşitlerdeki değişim çok önemli olmamıştır (Şekil 4.35).

Çizelge 4.33. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına büyük yumru verimleri (g)

Çeşit	Uygulama süresi	EMS dozları (%)				Ortalama
		Kontrol	0.2	0.4	0.6	
Agria	Daldırma	51.91	102.19	56.43	12.42	55.74
	3 saat	51.91	0.00	201.50	107.11	83.76
	Ortalama	51.91 d	81.75 cd	85.45 cd	59.77 d	66.52 C
Marfona	Daldırma	425.94	103.91	37.28	68.81	158.98
	3 saat	425.94	101.16	34.29	56.00	154.35
	Ortalama	425.94 a	102.54 cd	35.78 d	62.40 d	156.67 B
Lady Olimpia	Daldırma	281.25	166.77	232.27	223.14	225.86
	3 saat	281.25	275.12	310.87	111.31	244.64
	Ortalama	281.25 b	220.94 bc	271.57 b	167.23 bcd	235.25 A
	Daldırma	253.03	124.29	108.66	101.46	146.86
	3 saat	253.03	167.23	175.79	91.48	171.94
GENEL ORTALAMA		253.03 A	142.70 B	137.43 B	96.47 B	
LSD	Çeşit (Ç): 65.38**	Doz (D): 75.49**		ÇxD: 130.80**		



Şekil 4.35. Büyük yumru verimine çeşit x uygulama dozu interaksiyonunun etkisi

4.2.3.10. Ocak başına toplam yumru verimi (g)

Araştırmada kullanılan patates çeşitlerinin ocak başına toplam yumru verimine (g) ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.34’de, çeşitlerin ortalama değerleri ve oluşan gruplar Çizelge 4.35’de verilmiştir. Yumru verimi bakımından varyans analiz sonuçlarına göre çeşit, doz, çeşit x doz interkasiyonu istatistiki olarak $P < 0.01$, çeşit x doz x uygulama süresi interkasiyonu ise $P < 0.05$ seviyesinde önemli; uygulama süresi, çeşit x uygulama süresi ve doz x uygulama süresi önemsiz çıkmıştır (Çizelge 4.34).

Çizelge 4.34. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına toplam yumru verimine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit (Ç)	2	180469.095	7.24**
Doz (D)	3	940513.149	37.73**
Uygulama süresi (US)	1	50.692	0.00
ÇxD	6	250110.823	10.03**
ÇxUS	2	12171.454	0.49
DxUS	3	3415.330	0.14
ÇxDxUS	6	42178.394	1.69*
HATA	156	24925.125	
VK : 46.75			

** : % 1 seviyesinde önemlidir. * : % 5 seviyesinde önemlidir.

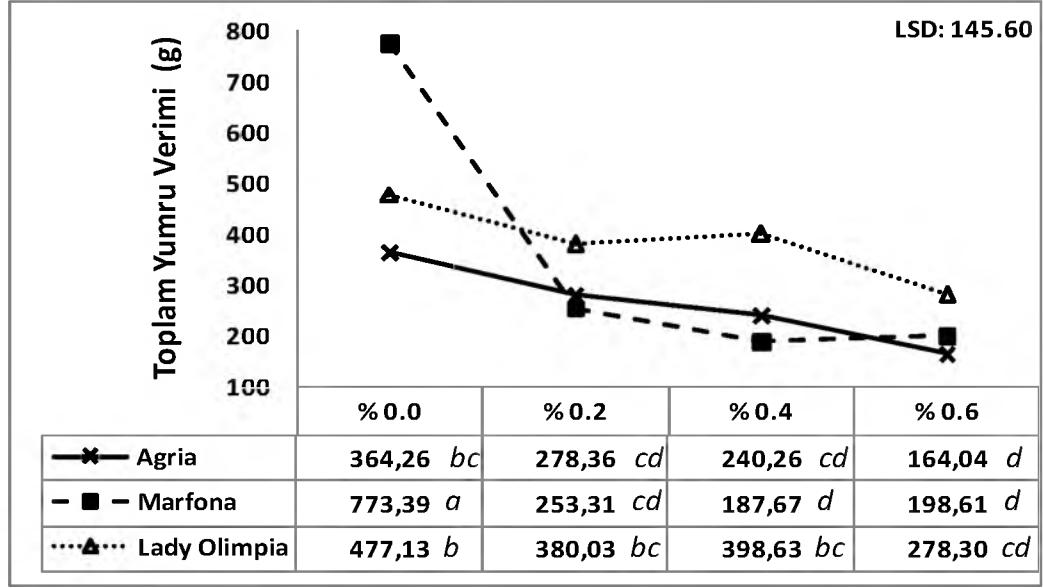
Araştırmada çeşitlerin farklı ağırlıklarda yumru oluşturdıkları belirlenmiş, Lady Olimpia ve Marfona çeşidinde toplam yumru veriminin Agria çeşidinden daha fazla olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla 383.52 ve 353.25 g). Lady Olimpia ve Marfona çeşitlerinin yumru verimleri arasında farklılık görülmemiştir (Çizelge 4.35).

Patates yumru gözlerine uygulanan EMS dozları toplam yumru verimini değiştirmiştir. Artan EMS dozlarında toplam yumru verimi azalmış ve en düşük yumru verimi % 0.6 EMS dozunda meydana gelmiştir (213.65 g) (Çizelge 4.35).

Çizelge 4.35. Yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanan patates çeşitlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına toplam yumru verimleri (g)

Çeşit	Uygulama süresi	EMS dozları (%)				Ortalama
		Kontrol	0.2	0.4	0.6	
Agria	Daldırma	364.26	299.94	222.20	98.46	246.22
	3 saat	364.26	192.04	312.50	229.63	288.01
	Ortalama	364.26 bc	278.36 cd	240.26 cd	164.04 d	262.29 B
Marfona	Daldırma	773.39	250.04	230.71	223.27	369.35
	3 saat	773.39	256.59	144.64	173.96	337.14
	Ortalama	773.39 a	253.31 cd	187.67 d	198.61 d	353.25 A
Lady Olimpia	Daldırma	477.13	305.38	381.61	355.44	379.89
	3 saat	477.13	454.69	415.64	201.17	387.15
	Ortalama	477.13 b	380.03 bc	398.63 bc	278.30 cd	383.52 A
	Daldırma	538.26	285.12	278.18	225.72	331.82
	3 saat	538.26	337.46	283.73	201.58	344.50
GENEL ORTALAMA		538.26 A	307.55 B	280.56 BC	213.65 C	
LSD Çeşit (Ç): 72.78**		Doz (D): 84.04**		Çx D: 145.60**		

Uygulanan EMS dozlarının toplam yumru verimine etkisi çeşitlere göre farklılık göstermiştir. Genellikle her üç çeşitte de artan EMS dozlarında yumru verimi azalmış, bu azalma kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Marfona çeşidinde daha belirgin olmuştur. En düşük yumru verimi % 0.6 EMS dozu ile Agria çeşidinde gözlenmiştir (Şekil 4.36).



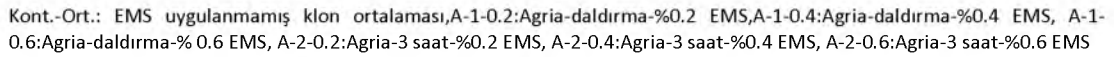
Şekil 4.36. Toplam yumru verimine çeşit x uygulama dozu interaksyonunun etkisi

4.2.4. Tarla şartlarında klonlarda incelenen morfolojik özellikler

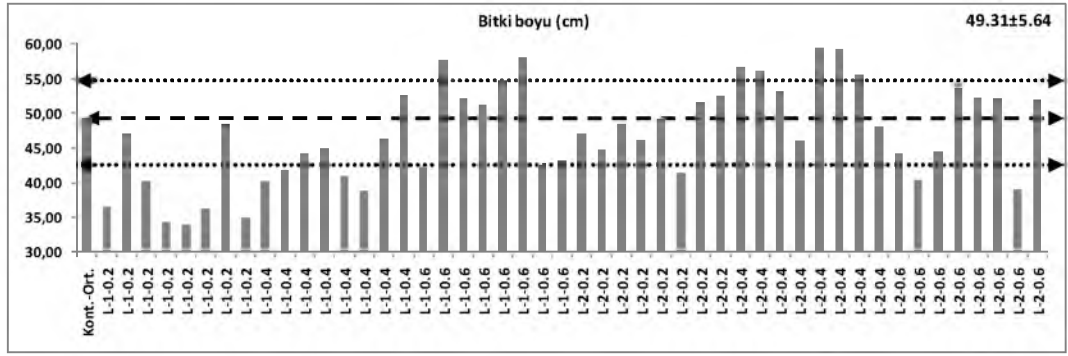
Tarla koşullarında yapılan çalışmada; EMS dozu ve uygulama sürelerinin bitkinin gelişmesinde stabil bir değişime neden olmadığı gözlenmiştir. Buna bağlı olarak da her bir uygulamanın farklı etki edeceği düşünülmüştür. Bunun neticesinde, her bir yumru gözüne farklı uygulamalardan elde edilen bitkiler klon olarak değerlendirilmiş ve çeşitlere ait kontrol gruplarının ortalama varyansı, standart sapma güven sınırlarına göre belirlenmiştir.

4.2.4.1. Bitki boyu (cm)

Agria çeşidinden elde edilen klonların bitki boyları 24.00-48.00 cm arasında değişim göstermiştir. 6 klonun bitki boyu istatistiki olarak kontrole göre kısa olurken, 17 klonun bitki boyu güven sınırlarının üstünde yer almıştır. Klonların 20 tanesi ortalamadan üst seviyelerde 6 tanesi ise alt seviyelerde bulunmuştur. En belirgin bitki boyundaki artış, % 0.2 ve 0.6 EMS + 3 saat daldırma uygulamalarında görülürken, % 0.4 + daldırma uygulamaları bitki boyunun kısa olmasına neden olmuştur (Şekil 4.37).



Marfona çeşidinden elde edilen klonların genelde bitki boyları kontrole göre kısalmıştır. Bitki boyu en fazla % 0.6 EMS + daldırma uygulamasında olurken, en kısa bitki boyu yine aynı uygulamada belirlenmiştir (Şekil 4.38).

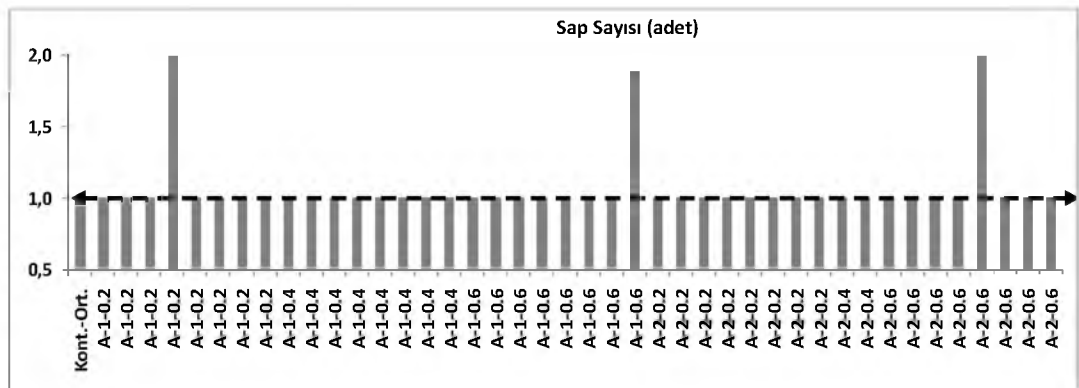


Kont.-Ort.:EMS uygulanmamış klon ortalaması,L-1-0.2:L.Olimpia-daldırma-%0.2 EMS,L-1-0.4:L.Olimpia-daldırma-%0.4 EMS, L-1-0.6:L.Olimpia-daldırma-%0.6 EMS, L-2-0.2:L.Olimpia-3 saat-%0.2 EMS, L-2-0.4:L.Olimpia-3 saat-%0.4 EMS, L-2-0.6:L.Olimpia-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.39. Lady Olimpia çeşidi klonlarının bitki boyları

4.2.4.2. Bitki başına sap sayısı (adet)

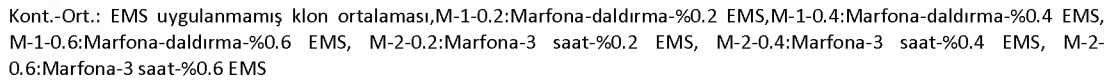
Agria çeşidine ait klonların kontrol grubu değerlerinde (1.0 adet) bitki başına sap sayısı bakımından varyasyon olmayıp, 3 adet klonda (% 0.2 EMS + daldırma ve % 0.6 + daldırma, + 3 saat uygulama) kontrol ortalamasının çok üstünde değere (2.0 adet) ulaşılmıştır (Şekil 4.40).



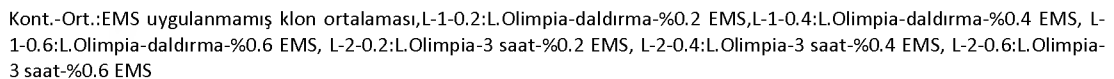
Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması,A-1-0.2:Agria-daldırma-%0.2 EMS,A-1-0.4:Agria-daldırma-%0.4 EMS, A-1-0.6:Agria-daldırma-%0.6 EMS, A-2-0.2:Agria-3 saat-%0.2 EMS, A-2-0.4:Agria-3 saat-%0.4 EMS, A-2-0.6:Agria-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.40. Agria çeşidi klonlarının bitki başına sap sayıları

Bitki başına sap sayısı bakımından Marfona çeşidinde kontrol grubu klonları arasında değişim olmamakla birlikte (1.0 adet) 4 klon ortalamadan çok üst seviyede bulunmuş, en yüksek değer daha çok % 0.2 EMS + daldırma uygulamasında görülmüştür (Şekil 4.41).

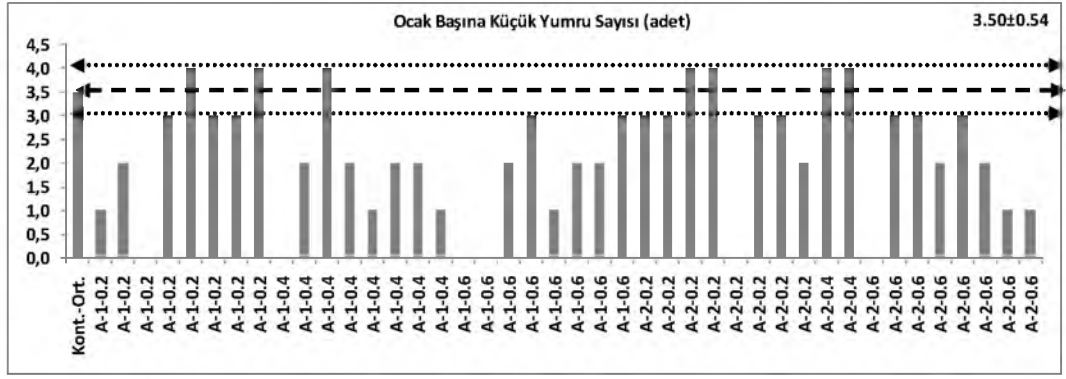


Lady Olimpia çeşidine ait klonlarda bitki başına sap sayısı 5 klonda (% 0.2 EMS + daldırma, + 3 saat, % 0.4 EMS + 3 saat ve % 0.6 EMS + daldırma, + 3 saat uygulamalarında) güven sınırının çok üzerinde (2.0 adet) tespit edilmiş, diğer klonlar normal değerler göstermiştir (Şekil 4.42).



4.2.4.3. Ocak başına küçük yumru sayısı (adet)

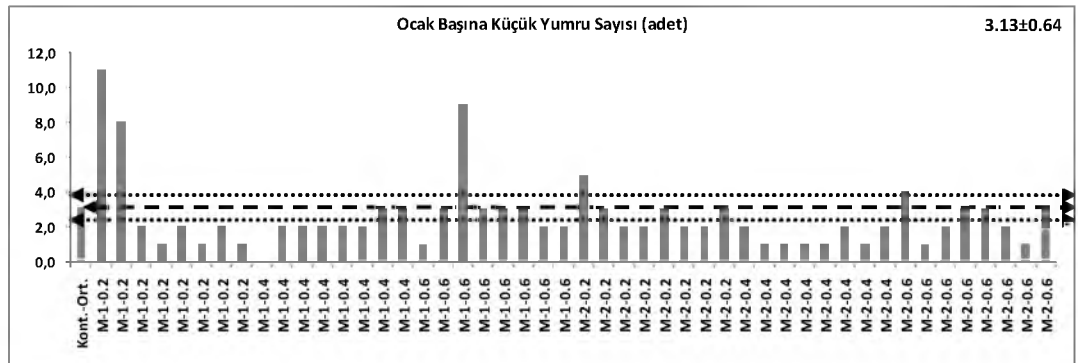
82



Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması, A-1-0.2: Agria-daldırma-%0.2 EMS, A-1-0.4: Agria-daldırma-%0.4 EMS, A-1-0.6: Agria-daldırma-%0.6 EMS, A-2-0.2: Agria-3 saat-%0.2 EMS, A-2-0.4: Agria-3 saat-%0.4 EMS, A-2-0.6: Agria-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.43. Agria çeşidi klonlarının ocak başına küçük yumru sayıları

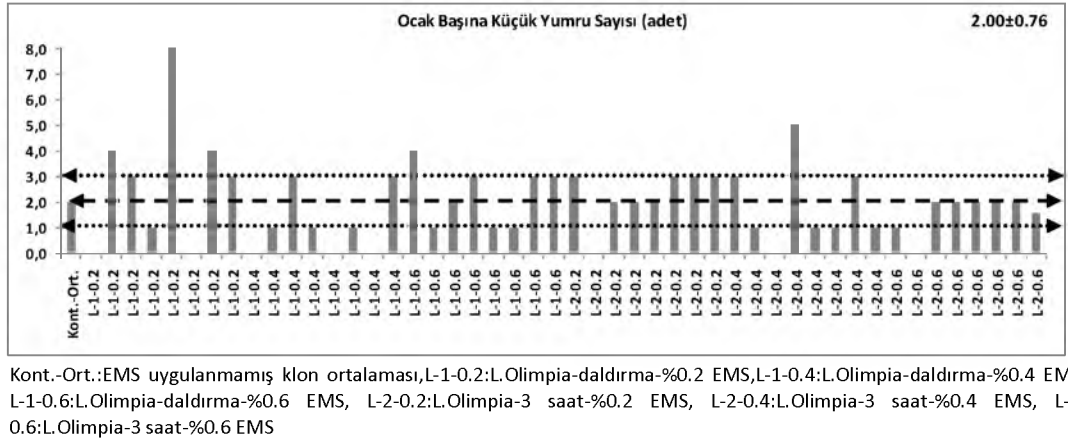
Marfona çeşidinden elde edilen klonların 4 tanesinin ocak başına küçük yumru sayısı güven sınırının üstünde yer almış, en yüksek değerler % 0.2 EMS + daldırma grubunda ortaya çıkmış, en düşük değerler ise % 0.4 EMS + daldırma, 3 saat uygulamalarda tespit edilmiştir (Şekil 4.44).



Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması, M-1-0.2: Marfona-daldırma-%0.2 EMS, M-1-0.4: Marfona-daldırma-%0.4 EMS, M-1-0.6: Marfona-daldırma-%0.6 EMS, M-2-0.2: Marfona-3 saat-%0.2 EMS, M-2-0.4: Marfona-3 saat-%0.4 EMS, M-2-0.6: Marfona-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.44. Marfona çeşidi klonlarının ocak başına küçük yumru sayıları

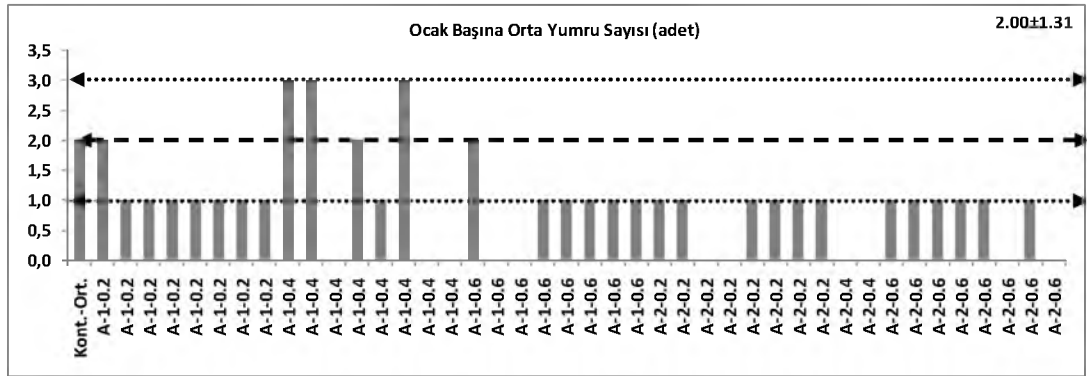
Lady Olimpia çeşidinde ocak başına küçük yumru sayısı bakımından 18 adet klon güven sınırının üstünde, 21 klon ise altında yer almış, 8 adet klonda küçük yumru oluşumu gözlenmemiştir. En yüksek ocak başına küçük yumru sayısı % 0.2 EMS + daldırma uygulamasından elde edilmiştir (8.0 adet). Lady Olimpia klonlarında ocak başına küçük yumru sayısı 0.0-8.0 adet arasında değişkenlik göstermiştir (Şekil 4.45).



Şekil 4.45. Lady Olympia çeşidi klonlarının ocak başına küçük yumru sayıları

4.2.4.4. Ocak başına orta yumru sayısı (adet)

Agria çeşidine ait klonlarda ocak başına orta yumru sayısı 0.0-3.0 adet arasında değişim göstermiştir. EMS uygulanan klonların çoğunluğu (31 adet) güven sınırları içinde normal değerler gösterirken, 3 adet klon (% 0.4 EMS + daldırma uygulamaları) en yüksek sayıda orta yumruyu meydana getirmiştir (Şekil 4.46).

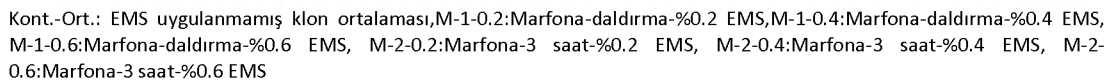


Şekil 4.46. Agria çeşidi klonlarının ocak başına orta yumru sayıları

Ocak başına orta yumru sayısı bakımından Marfona çeşidine ait 14 klonda normal değerler belirlenmiş, en yüksek değer (3.0 adet) % 0.4 ve 0.6 EMS + 3 saat uygulamalarından elde edilirken, en düşük değerler de (0.0 adet) yine bu uygulamalarda ortaya çıkmıştır. Genel olarak, yüksek doz ve sürelerde orta yumru oluşumu meydana gelmemiştir (Şekil 4.47).

Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması,A-1-0.2:Agria-daldırma-%0.2 EMS,A-1-0.4:Agria-daldırma-%0.4 EMS, A-1-0.6:Agria-daldırma-%0.6 EMS, A-2-0.2:Agria-3 saat-%0.2 EMS, A-2-0.4:Agria-3 saat-%0.4 EMS, A-2-0.6:Agria-3 saat-%0.6 EMS

Ocak başına büyük yumru sayısı bakımından Marfona çeşidine ait klonlarda 5 adet klon normal sınırlar içinde yer alırken, geri kalan klonlar güven sınırından çok düşük sayıda büyük yumru meydana getirmiştir. Genellikle yüksek doz ve sürelerde EMS uygulaması büyük yumru oluşumunu olumsuz etkilemiştir. Ocak başına büyük yumru sayısı 0.0-3.0 adet arasında değişkenlik göstermiştir (Şekil 4.50).



Lady Olimpia çeşidinin kontrol grubu klonları arasında ocak başına büyük yumru sayısı bakımından varyasyon meydana gelmemiştir. Klonların kontrol ortalaması 2.0 adet olarak belirlenmiş, 5 adet EMS uygulanan klonlar ortalama değerin çok üstünde büyük yumru oluşturmuştur. En büyük değer % 0.6 EMS + daldırma ve % 0.2 EMS +3

Ocak Başına Büyük Yumurı Sayısı (adet)

Kategori	Yumurı Sayısı (adet)
Kont-Ort.	2,0
L-1-0,2	1,0
L-1-0,2	1,0
L-1-0,2	1,0
L-1-0,2	0,0
L-1-0,2	1,0
L-1-0,2	1,0
L-1-0,2	1,0
L-1-0,2	0,0
L-1-0,4	1,0
L-1-0,4	1,0
L-1-0,4	2,0
L-1-0,4	1,0
L-1-0,4	2,0
L-1-0,4	2,0
L-1-0,4	2,0
L-1-0,6	1,0
L-1-0,6	0,0
L-1-0,6	0,0
L-1-0,6	3,0
L-1-0,6	2,0
L-1-0,6	2,0
L-1-0,6	4,0
L-1-0,6	0,0
L-1-0,6	1,0
L-2-0,2	2,0
L-2-0,2	4,0
L-2-0,2	2,0
L-2-0,2	2,0
L-2-0,2	1,0
L-2-0,2	2,0
L-2-0,2	1,0
L-2-0,2	1,0
L-2-0,2	1,0
L-2-0,2	1,0
L-2-0,2	0,0
L-2-0,4	0,0
L-2-0,4	3,0
L-2-0,4	2,0
L-2-0,4	2,0
L-2-0,4	2,0
L-2-0,4	2,0
L-2-0,4	2,0
L-2-0,4	0,0
L-2-0,6	0,0
L-2-0,6	3,0
L-2-0,6	0,0
L-2-0,6	1,0
L-2-0,6	0,0
L-2-0,6	1,0
L-2-0,6	1,0
L-2-0,6	0,0

4.2.4.6. Ocak başına toplam yumru sayısı (adet)

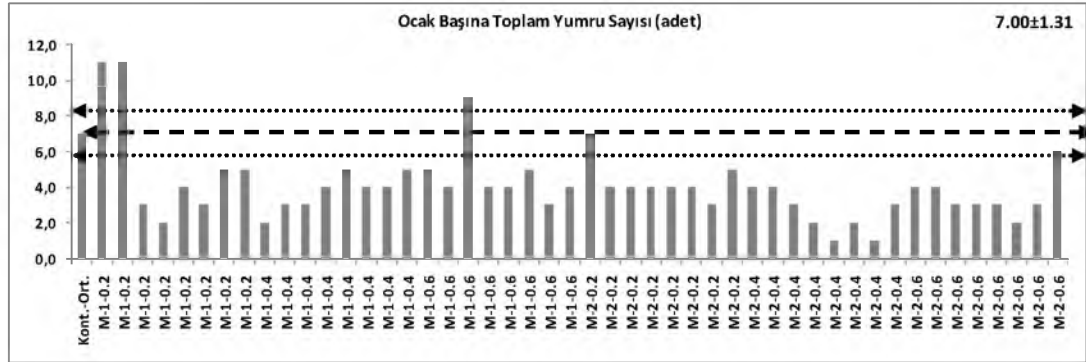
Ocak Başına Toplam Yumru Sayısı (adet)

5.88±1.81

Species	Clutch Size (adet)
Kont.-Ort.	5.88
A-1-0.2	7.0
A-1-0.2	3.0
A-1-0.2	3.0
A-1-0.2	4.0
A-1-0.2	5.0
A-1-0.2	4.0
A-1-0.2	5.0
A-1-0.4	6.0
A-1-0.4	4.0
A-1-0.4	4.0
A-1-0.4	2.0
A-1-0.4	5.0
A-1-0.4	3.0
A-1-0.6	1.0
A-1-0.6	2.0
A-1-0.6	1.0
A-1-0.6	2.0
A-1-0.6	4.0
A-1-0.6	2.0
A-1-0.6	3.0
A-1-0.6	3.0
A-2-0.2	4.0
A-2-0.2	4.0
A-2-0.2	5.0
A-2-0.2	5.0
A-2-0.2	3.0
A-2-0.2	4.0
A-2-0.2	4.0
A-2-0.2	3.0
A-2-0.4	5.0
A-2-0.4	5.0
A-2-0.6	3.0
A-2-0.6	4.0
A-2-0.6	4.0
A-2-0.6	3.0
A-2-0.6	4.0
A-2-0.6	3.0
A-2-0.6	2.0
A-2-0.6	2.0

87

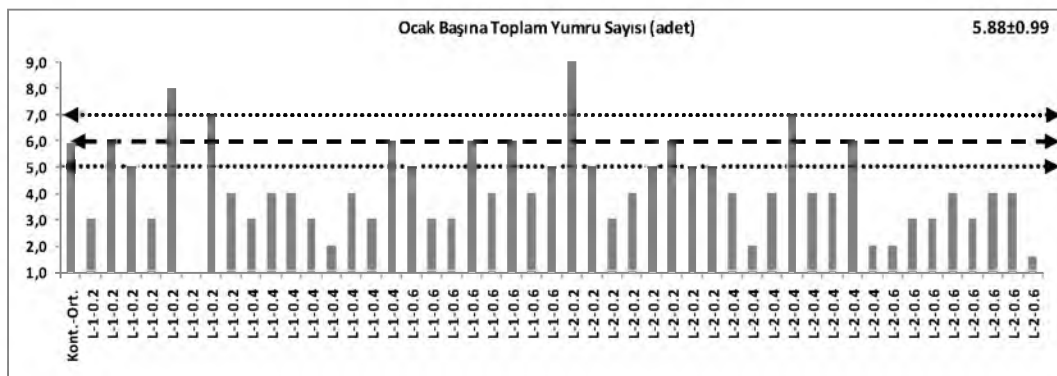
Marfona çeşidine ait klonlarda EMS uygulamaları toplam yumru sayısı oluşumunu olumsuz etkilemiş, 5 klonda elde edilen değerler güven sınırları içinde yer almıştır. En yüksek toplam yumru sayısı % 0.2 ve 0.6 EMS + daldırma uygulamalarında elde edilmiştir (Şekil 4.53).



Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması, M-1-0.2: Marfona-daldırma-%0.2 EMS, M-1-0.4: Marfona-daldırma-%0.4 EMS, M-1-0.6: Marfona-daldırma-%0.6 EMS, M-2-0.2: Marfona-3 saat-%0.2 EMS, M-2-0.4: Marfona-3 saat-%0.4 EMS, M-2-0.6: Marfona-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.53. Marfona çeşidi klonlarının ocak başına toplam yumru sayıları

Lady Olimpia çeşidi klonlarında ocak başına toplam yumru sayısı 1.0-9.0 adet arasında değişkenlik göstermiş, normal değer gösteren klon sayısı 15 adet olarak belirlenmiştir. Genel olarak, % 0.2 EMS + daldırma ve 3 saat uygulamada ocak başına toplam yumru sayısı artmıştır. (Şekil 4.54).

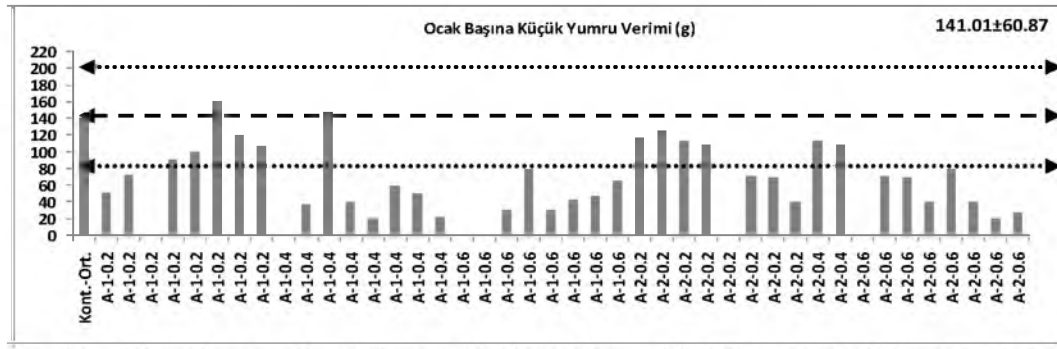


Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması, L-1-0.2: L.Olimpia-daldırma-%0.2 EMS, L-1-0.4: L.Olimpia-daldırma-%0.4 EMS, L-1-0.6: L.Olimpia-daldırma-%0.6 EMS, L-2-0.2: L.Olimpia-3 saat-%0.2 EMS, L-2-0.4: L.Olimpia-3 saat-%0.4 EMS, L-2-0.6: L.Olimpia-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.54. Lady Olimpia çeşidi klonlarının ocak başına toplam yumru sayıları

4.2.4.7. Ocak başına küçük yumru verimi (g)

Agria çeşidi klonlarında küçük yumru verimi bakımından klonlar arasında verim 0.00-160.00 g arasında değişiklik göstermiştir. Genel olarak ocak başına küçük yumru verimleri güven sınırlarının çok altında yer almış ve en düşük değerler % 0.4 EMS + daldırma, % 0.6 EMS + daldırma ve 3 saat uygulamalarından elde edilmiş ve en yüksek ocak başına küçük yumru verimi (141.01 g) % 0.2 EMS + daldırma uygulamasında meydana gelmiştir. Genel olarak, % 0.6 EMS uygulamaları ocak başına küçük yumru verimini olumsuz etkilemiştir (Şekil 4.55).

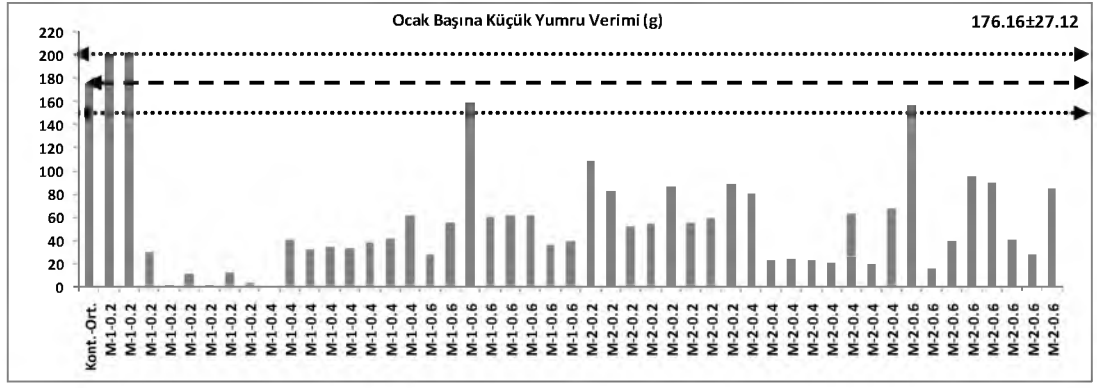


Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması, A-1-0.2: Agria-daldırma-%0.2 EMS, A-1-0.4: Agria-daldırma-%0.4 EMS, A-1-0.6: Agria-daldırma-%0.6 EMS, A-2-0.2: Agria-3 saat-%0.2 EMS, A-2-0.4: Agria-3 saat-%0.4 EMS, A-2-0.6: Agria-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.55. Agria çeşidi klonlarının ocak başına küçük yumru verimleri

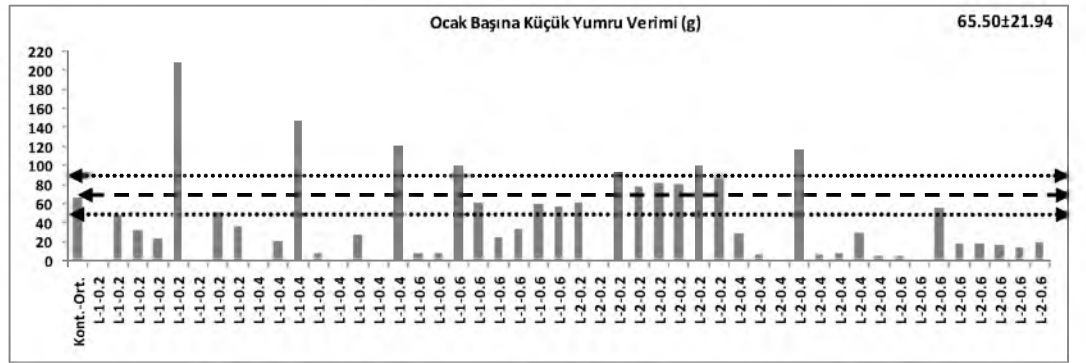
Ocak başına küçük yumru verimi Marfona klonlarında en yüksek 201.84 g ile % 0.2 EMS + daldırma uygulamasında tespit edilmiş ancak bu uygulamaya ait klonların çoğunluğu en düşük değerlere sahip olmuştur. Marfona klonlarından 4 adedi normal değerler arasında yer alırken, çok sayıda klonda ise ocak başına küçük yumru verimi azalmıştır (Şekil 4.56).

Ocak başına küçük yumru verimi Lady Olimpia çeşidi klonlarında genel olarak güven sınırından çok düşük seviyelerde meydana gelmiş, EMS uygulanan 6 adet klonda ortalamanın üst sınırından daha fazla değerler belirlenmiş en yüksek değerler (207.61 g) % 0.2 ve % 0.4 EMS + daldırma uygulamalarında gözlenmiştir. Lady Olimpia klonları arasında ocak başına küçük yumru verimleri 0.00-207.61 g arasında değişmiştir (Şekil 4.57).



Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması, M-1-0.2:Marfona-daldırma-%0.2 EMS, M-1-0.4:Marfona-daldırma-%0.4 EMS, M-1-0.6:Marfona-daldırma-%0.6 EMS, M-2-0.2:Marfona-3 saat-%0.2 EMS, M-2-0.4:Marfona-3 saat-%0.4 EMS, M-2-0.6:Marfona-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.56. Marfona çeşidi klonlarının ocak başına küçük yumru verimleri

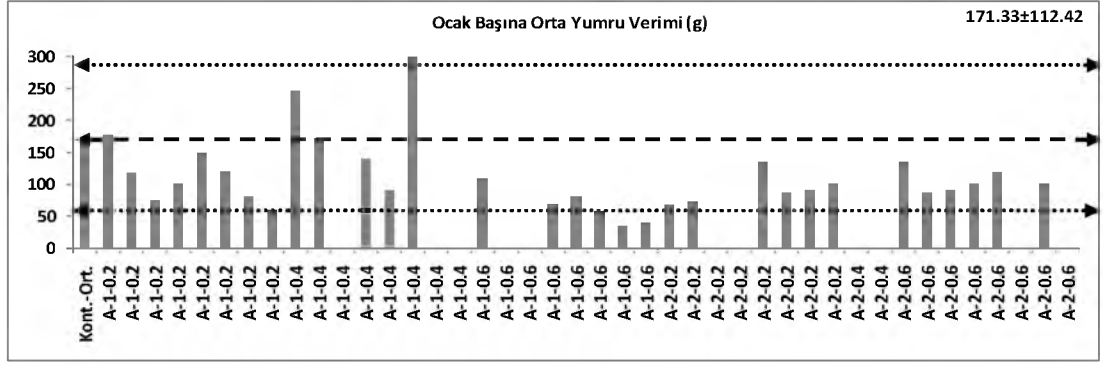


Kont.-Ort.:EMS uygulanmamış klon ortalaması, L-1-0.2:L.Olimpia-daldırma-%0.2 EMS, L-1-0.4:L.Olimpia-daldırma-%0.4 EMS, L-1-0.6:L.Olimpia-daldırma-%0.6 EMS, L-2-0.2:L.Olimpia-3 saat-%0.2 EMS, L-2-0.4:L.Olimpia-3 saat-%0.4 EMS, L-2-0.6:L.Olimpia-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.57. Lady Olimpia çeşidi klonlarının ocak başına küçük yumru verimleri

4.2.4.8. Ocak başına orta yumru verimi (g)

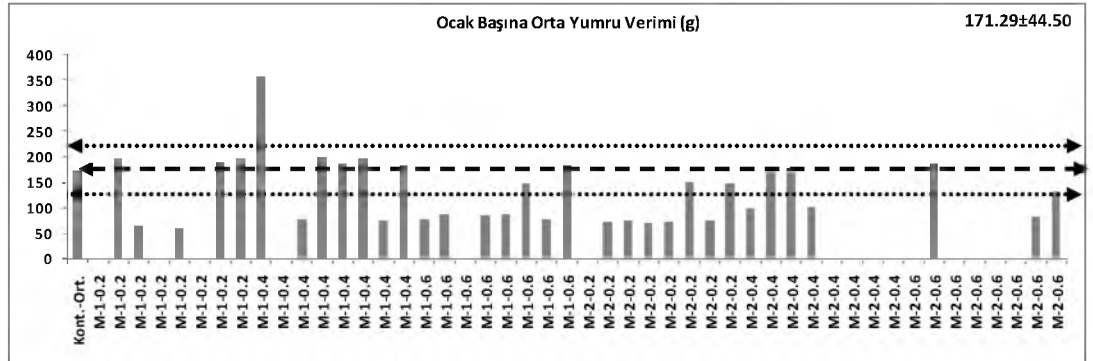
Ocak başına orta yumru verimi bakımından Agria çeşidi klonları 0.00-300.00 g arasında değişkenlik göstermiş, 1 klonunda (% 0.4 EMS + daldırma) en yüksek (300 g) orta yumru verimi elde edilmiştir. Genel olarak, % 0.6 EMS + daldırma uygulanan klonlarda daha düşük değerler belirlenmiştir. EMS uygulanan 13 klon ise normal değerlerin çok altında orta yumru verimini meydana getirmiştir (Şekil 4.58)



Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması, A-1-0.2: Agria-daldırma-%0.2 EMS, A-1-0.4: Agria-daldırma-%0.4 EMS, A-1-0.6: Agria-daldırma-%0.6 EMS, A-2-0.2: Agria-3 saat-%0.2 EMS, A-2-0.4: Agria-3 saat-%0.4 EMS, A-2-0.6: Agria-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.58. Agria çeşidi klonlarının ocak başına orta yumru verimleri

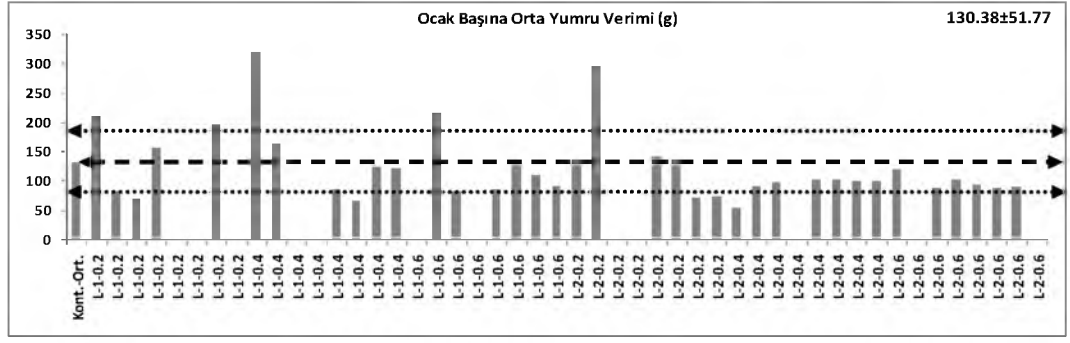
Marfona çeşidinde ocak başına orta yumru veriminin en yüksek değeri (356.26 g) 1 adet klonda (% 0.4 EMS + daldırma), en düşük değerleri ise 32 adet klonda (0.00 g verim ile % 0.4 ve 0.6 EMS + 3 saat uygulamaları) elde edilmiştir. EMS uygulanan klonlar arasında ocak başına orta yumru verimi 0.00-356.26 g arasında değişiklik göstermiştir (Şekil 4.59).



Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması, M-1-0.2: Marfona-daldırma-%0.2 EMS, M-1-0.4: Marfona-daldırma-%0.4 EMS, M-1-0.6: Marfona-daldırma-%0.6 EMS, M-2-0.2: Marfona-3 saat-%0.2 EMS, M-2-0.4: Marfona-3 saat-%0.4 EMS, M-2-0.6: Marfona-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.59. Marfona çeşidi klonlarının ocak başına orta yumru verimleri

Lady Olimpia çeşidinde genel olarak EMS uygulamaları orta yumru verimini azaltmış, değerler 0.00-318.84 g arasında değişim göstermiştir. En yüksek değere (318.84 g) % 0.4 EMS + daldırma uygulanan klonda rastlanmıştır. Ocak başına orta yumru sayısı bakımından Lady Olimpia çeşidinde normal değer gösteren 26 adet klon saptanmıştır (Şekil 4.60).

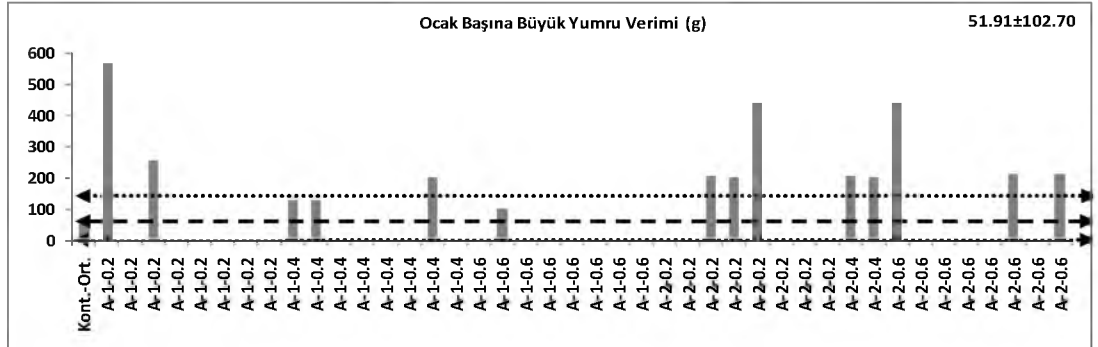


Kont.-Ort.:EMS uygulanmamış klon ortalaması,L-1-0.2:L.Olimpia-daldırma-%0.2 EMS,L-1-0.4:L.Olimpia-daldırma-%0.4 EMS, L-1-0.6:L.Olimpia-daldırma-%0.6 EMS, L-2-0.2:L.Olimpia-3 saat-%0.2 EMS, L-2-0.4:L.Olimpia-3 saat-%0.4 EMS, L-2-0.6:L.Olimpia-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.60. Lady Olimpia çeşidi klonlarının ocak başına orta yumru verimleri

4.2.4.9. Ocak başına büyük yumru verimi (g)

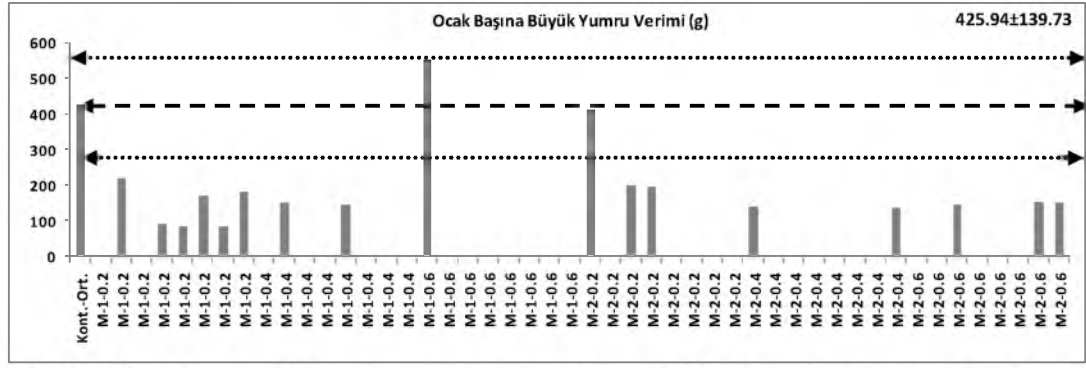
Agria çeşidine ait klonlarda EMS uygulamaları büyük yumru verimini olumsuz etkilemiş, klonların çoğunluğunda veri elde edilememiştir. Sadece 11 adet klon güven sınırından daha fazla ocak başına büyük yumru verimini oluşturmuş, en yüksek verim 564.73 g ile % 0.2 EMS + daldırma uygulamasında belirlenmiştir. (Şekil 4.61).



Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması,A-1-0.2:Agria-daldırma-%0.2 EMS,A-1-0.4:Agria-daldırma-%0.4 EMS, A-1-0.6:Agria-daldırma-%0.6 EMS, A-2-0.2:Agria-3 saat-%0.2 EMS, A-2-0.4:Agria-3 saat-%0.4 EMS, A-2-0.6:Agria-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.61. Agria çeşidi klonlarının ocak başına büyük yumru verimleri

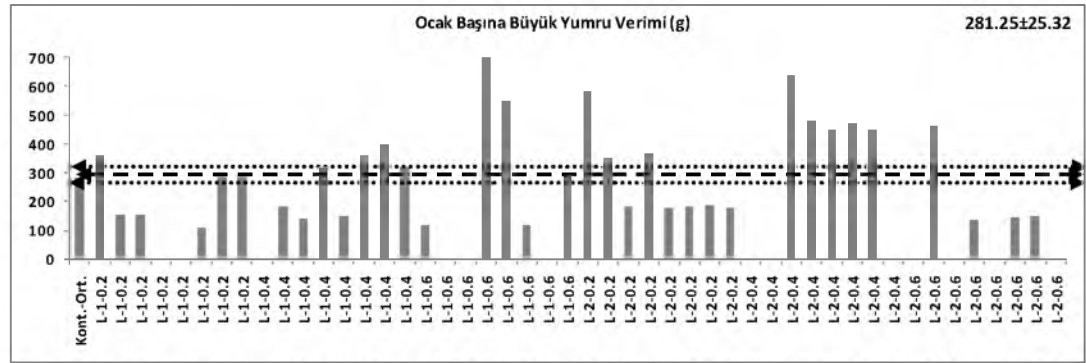
Marfona çeşidinde ocak başına büyük yumru verimi bakımından sadece 2 klon normal sınırlar içinde değerler göstermiştir. Çok sayıda klonda (özellikle % 0.4 ve 0.6 EMS uygulamaları) büyük yumru verimi elde edilememiştir (Şekil 4.62).



Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması, M-1-0.2: Marfona-daldırma-%0.2 EMS, M-1-0.4: Marfona-daldırma-%0.4 EMS, M-1-0.6: Marfona-daldırma-%0.6 EMS, M-2-0.2: Marfona-3 saat-%0.2 EMS, M-2-0.4: Marfona-3 saat-%0.4 EMS, M-2-0.6: Marfona-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.62. Marfona çeşidi klonlarının ocak başına büyük yumru verimleri

Ocak başına büyük yumru verimi bakımından Lady Olimpia çeşidine ait klonlar 0.00-637.28 g arasında değişmiştir. En yüksek değerler % 0.6 EMS + daldırma, % 0.2 ve 0.4 EMS + 3 saat uygulamalarından elde edilmiştir. Araştırmada 10 klonda güven sınırının çok üzerinde değerler tespit edilmiş, genel olarak EMS uygulamaları büyük yumru veriminde azalmalara neden olmuştur (Şekil 4.63).



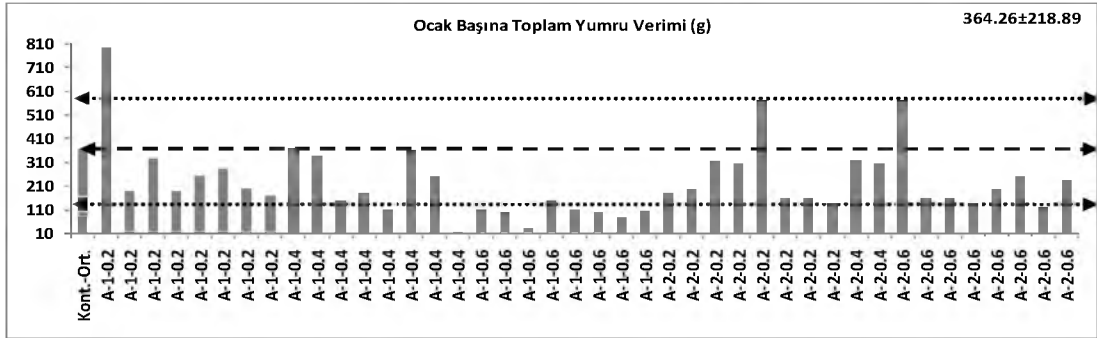
Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması, L-1-0.2: L.Olimpia-daldırma-%0.2 EMS, L-1-0.4: L.Olimpia-daldırma-%0.4 EMS, L-1-0.6: L.Olimpia-daldırma-%0.6 EMS, L-2-0.2: L.Olimpia-3 saat-%0.2 EMS, L-2-0.4: L.Olimpia-3 saat-%0.4 EMS, L-2-0.6: L.Olimpia-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.63. Lady Olimpia çeşidi klonlarının ocak başına büyük yumru verimleri

4.2.4.10. Ocak başına toplam yumru verimi (g)

Agria çeşidine ait EMS uygulanan klonlarda ocak başına toplam yumru verimi bakımından 22.00-794.13 g arasında varyasyon oluşmuştur. En yüksek ocak başına toplam yumru verimi % 0.2 EMS + daldırma uygulamasında meydana gelmiş, en

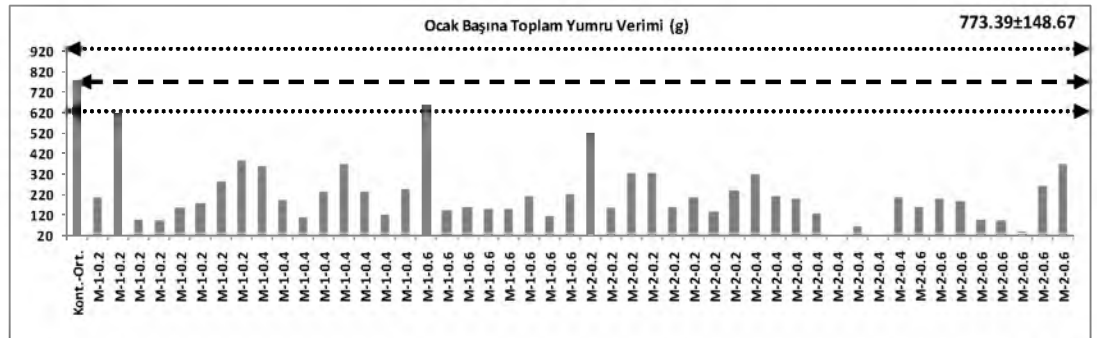
düşük ise % 0.4 EMS + daldırma uygulamasında belirlenmiştir. Genel olarak en düşük değerler % 0.6 EMS + daldırma uygulamalarında ortaya çıkmış, 10 adet klonda güven sınırları dışında verim meydana gelmiştir (Şekil 4.64).



Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması, A-1-0.2: Agria-daldırma-%0.2 EMS, A-1-0.4: Agria-daldırma-%0.4 EMS, A-1-0.6: Agria-daldırma-%0.6 EMS, A-2-0.2: Agria-3 saat-%0.2 EMS, A-2-0.4: Agria-3 saat-%0.4 EMS, A-2-0.6: Agria-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.64. Agria çeşidi klonlarının ocak başına toplam yumru verimleri

Marfona klonlarında EMS uygulamaları toplam yumru verimini olumsuz etkilemiş, sadece 2 klonda (% 0.2 ve 0.6 EMS + daldırma) normal değerler gözlenmiştir. Ocak başına toplam yumru verimleri 20.00-655.30 g arasında değişkenlik göstermiş, en düşük değerler % 0.4 EMS + 3 saat uygulamadan elde edilmiştir (Şekil 4.65).

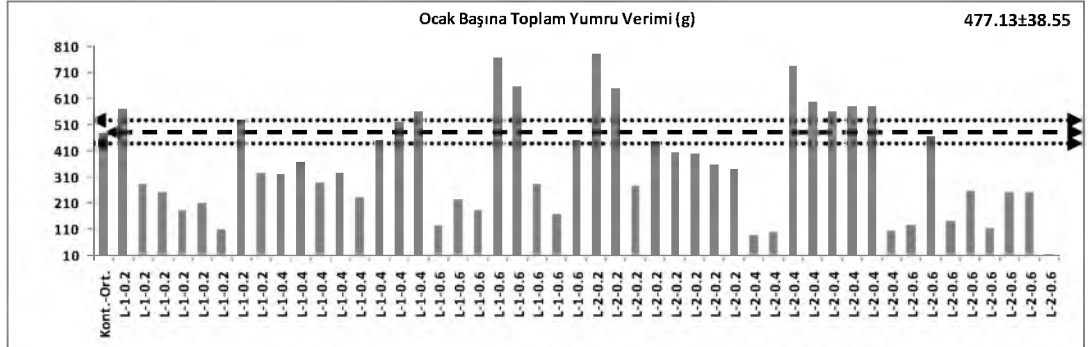


Kont.-Ort.: EMS uygulanmamış klon ortalaması, M-1-0.2: Marfona-daldırma-%0.2 EMS, M-1-0.4: Marfona-daldırma-%0.4 EMS, M-1-0.6: Marfona-daldırma-%0.6 EMS, M-2-0.2: Marfona-3 saat-%0.2 EMS, M-2-0.4: Marfona-3 saat-%0.4 EMS, M-2-0.6: Marfona-3 saat-%0.6 EMS

Şekil 4.65. Marfona çeşidi klonlarının ocak başına toplam yumru verimleri

Lady Olimpia çeşitlerine ait EMS uygulanan klonlarda ocak başına toplam yumru verimi 19.00-781.41 g arasında varyasyon göstermiştir. En yüksek yumru verimi % 0.6 EMS + daldırma ve % 0.2 ve 0.4 EMS + 3 saat uygulamalarından, en düşük verim ise % 0.6 EMS + 3 saat daldırmadan elde edilmiştir. Klonlardan 11 adedi güven

sınırından daha fazla ocak başına yumru verimini meydana getirmiş, 6 adet klonda ise normal değerler tespit edilmiştir (Şekil 4.66).



Kont.-Ort.:EMS uygulanmamış klon ortalaması,L-1-0.2:L.Olimpia-daldırma-%0.2 EMS,L-1-0.4:L.Olimpia-daldırma-%0.4 EMS, L-1-0.6:L.Olimpia-daldırma-%0.6 EMS, L-2-0.2:L.Olimpia-3 saat-%0.2 EMS, L-2-0.4:L.Olimpia-3 saat-%0.4 EMS, L-2-0.6:L.Olimpia-3 saat-%0.6

Şekil 4.66. Lady Olimpia çeşidi klonlarının ocak başına toplam yumru verimleri

4.3. Moleküler ile İlgili Çalışmalar

4.3.1. EMS uygulanan sürgün uçlarından rejenere olan bitkiciklerin bant görüntüleri ve özellikleri

Sürgün uçlarına EMS uygulanan patates çeşitlerine ait bant desenlerinin etiket numaraları Çizelge 4.36’da gösterilmiştir.

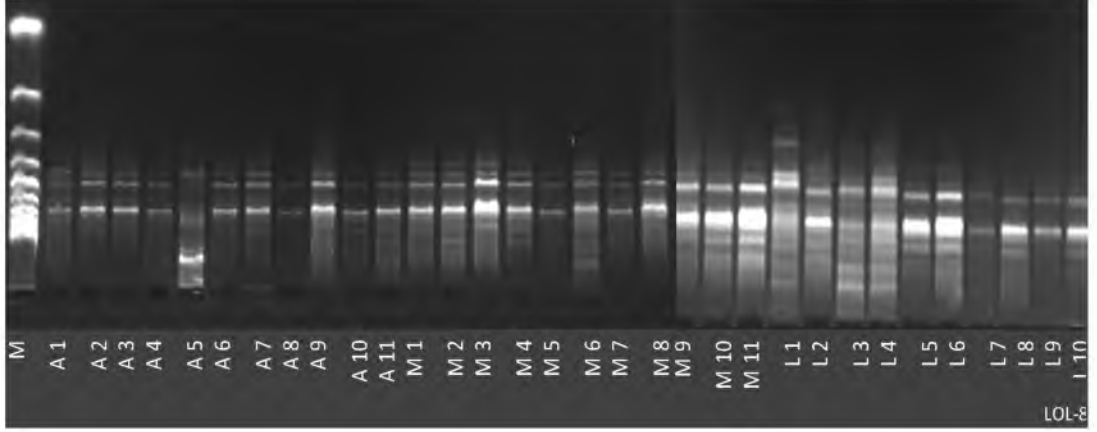
Çizelge 4.36. Sürgün uçlarına EMS uygulanan patates çeşitlerine ait bant desenlerinin etiket numaraları

Etiket no	Çeşit adı	EMS dozu (mM)	Uygulama süresi (dk)
M (100 bç'lik DNA markını)	-	-	-
A1	Agria	100	30
A2		100	60
A3		100	90
A4		200	30
A5		200	60
A6		200	90
A7		300	30
A8		300	60
A9		300	90
A10*		200	60
A11		0	0
M1	Marfona	100	30
M2		100	60
M3		100	90
M4		200	30
M5		200	60
M6		200	90
M7		300	30
M8		300	60
M9		300	90
M10**		100	30
M11		0	0
L1	Lady Olimpia	100	30
L2		100	60
L3		100	90
L4		200	30
L5		200	60
L6		200	90
L7		300	30
L8		300	60
L9		300	90
L10		0	0

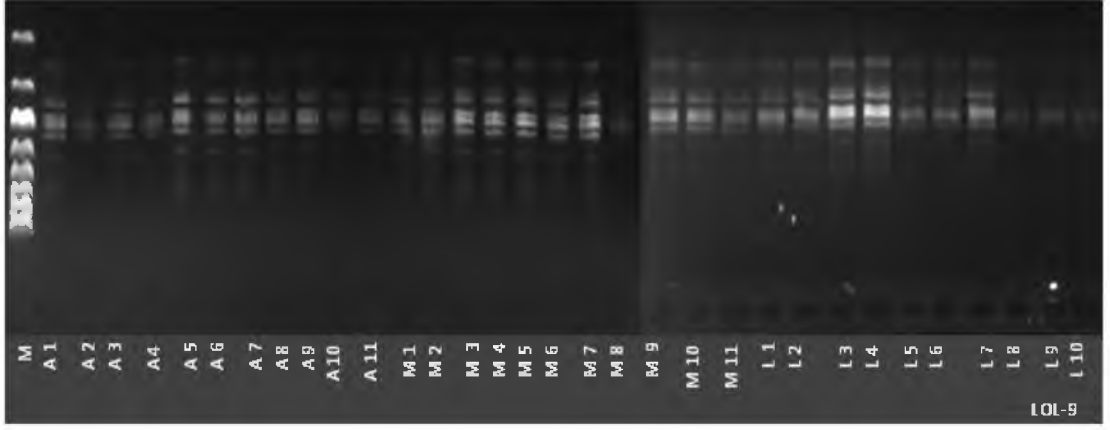
*: Mikroyumru oluşturan Agria çeşidi

**: Koltuklanma meydana getiren Marfona çeşidi

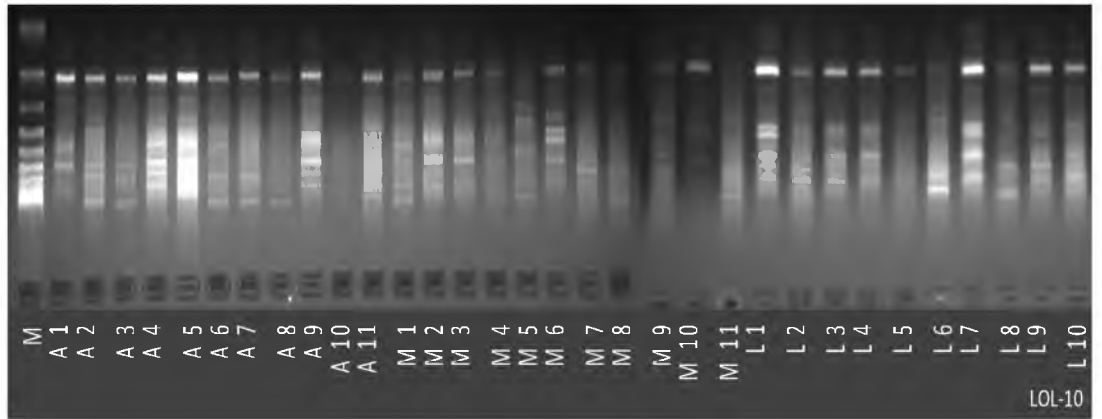
ISSR-PCR analizlerinden elde edilen jel görüntüleri (Şekil 4.67-4.87) ISSR primerleri kullanılarak oluşturulan bant matrisleri Çizelge 4.37'de ve özellikleri Çizelge 4.38'de verilmiştir.



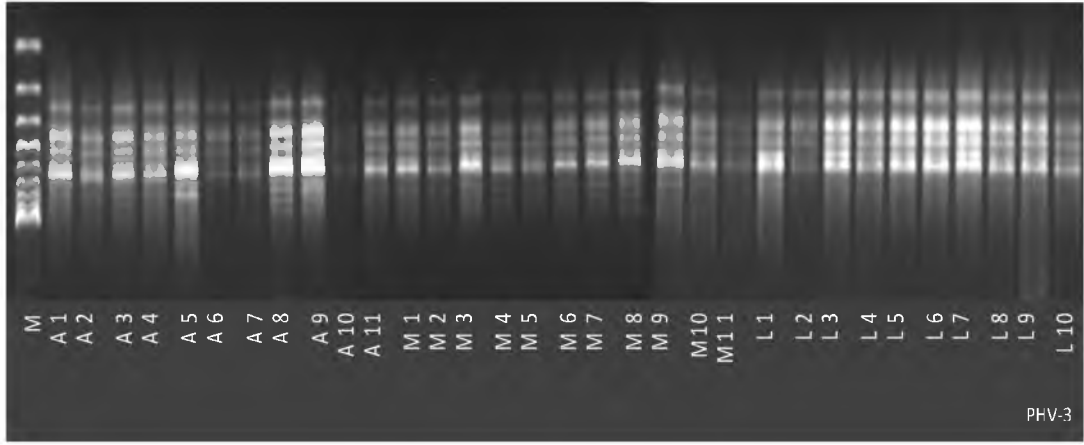
Şekil 4.67. Bitkiciklerde LOL-8 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



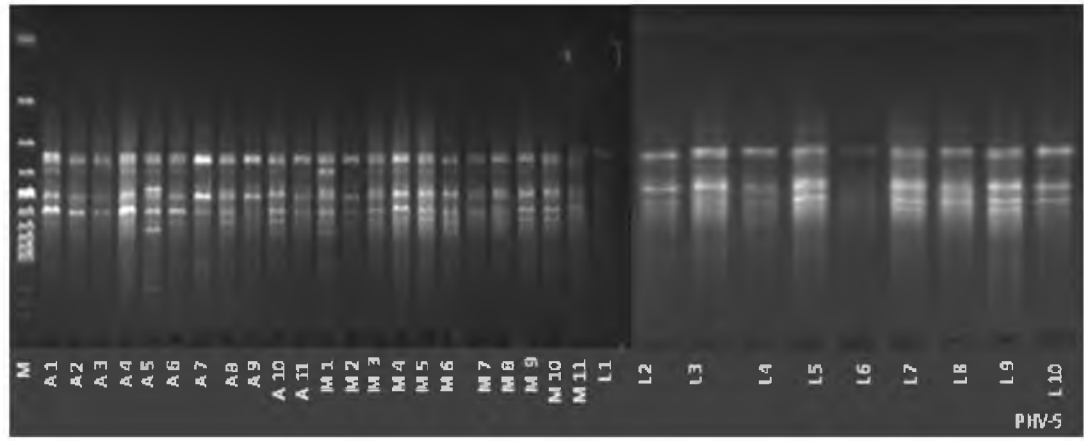
Şekil 4.68. Bitkiciklerde LOL-9 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



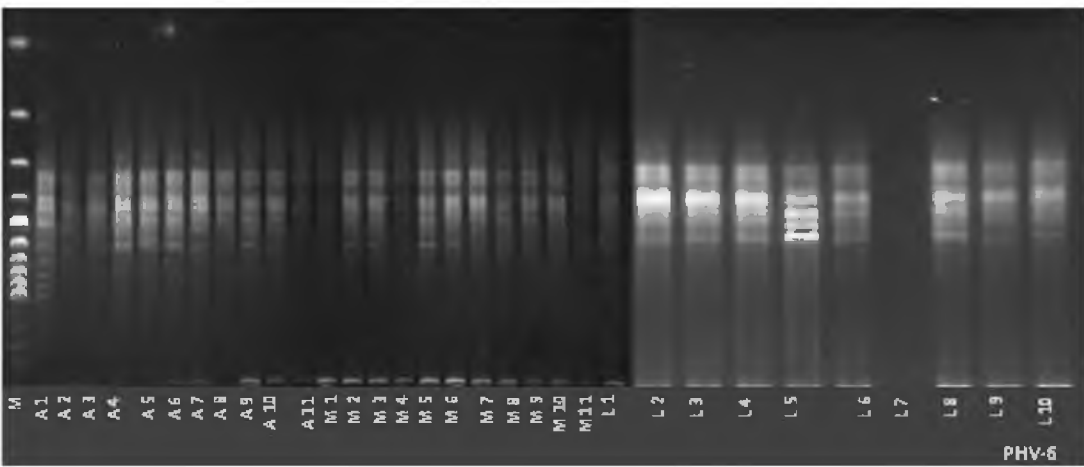
Şekil 4.69. Bitkiciklerde LOL-10 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



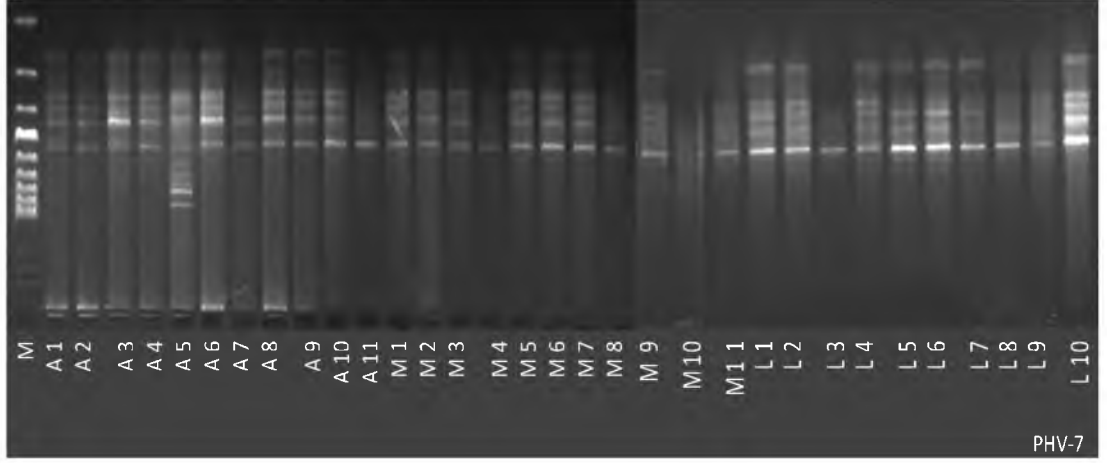
Şekil. 4.70. Bitkiciklerde PHV-3 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



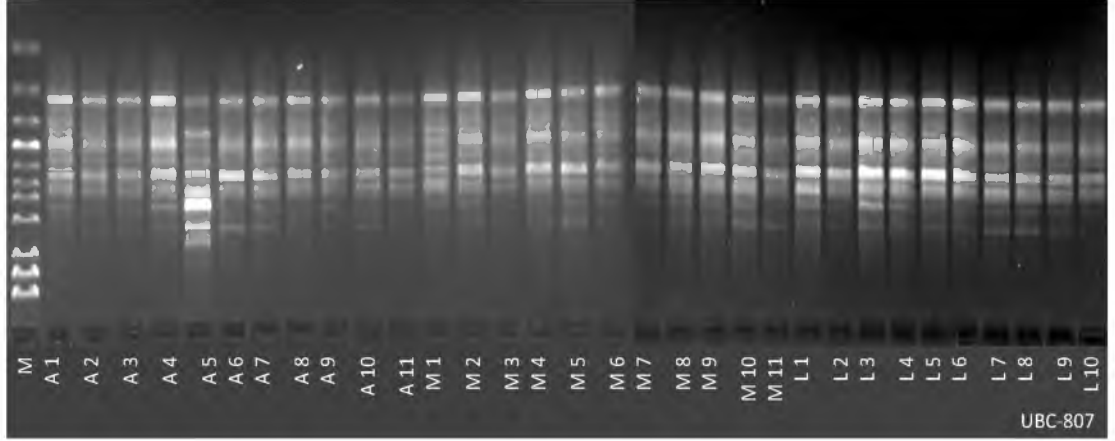
Şekil. 4.71. Bitkiciklerde PHV-5 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



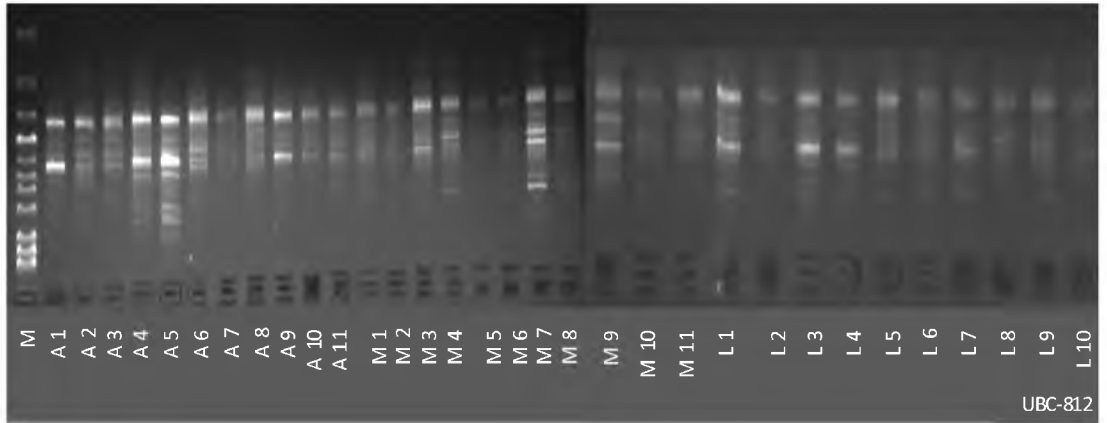
Şekil 4.72. Bitkiciklerde PHV-6 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



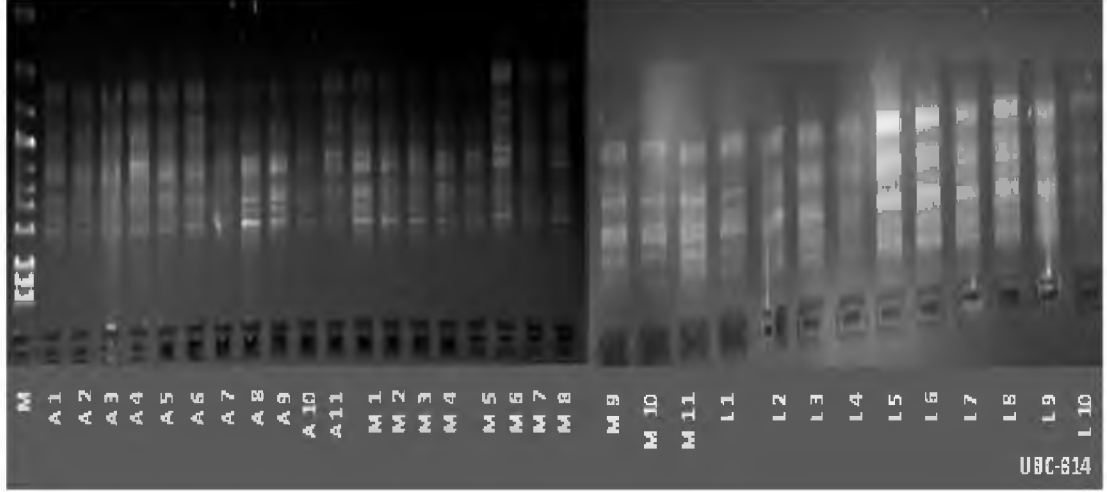
Şekil 4.73. Bitkiciklerde PHV-7 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



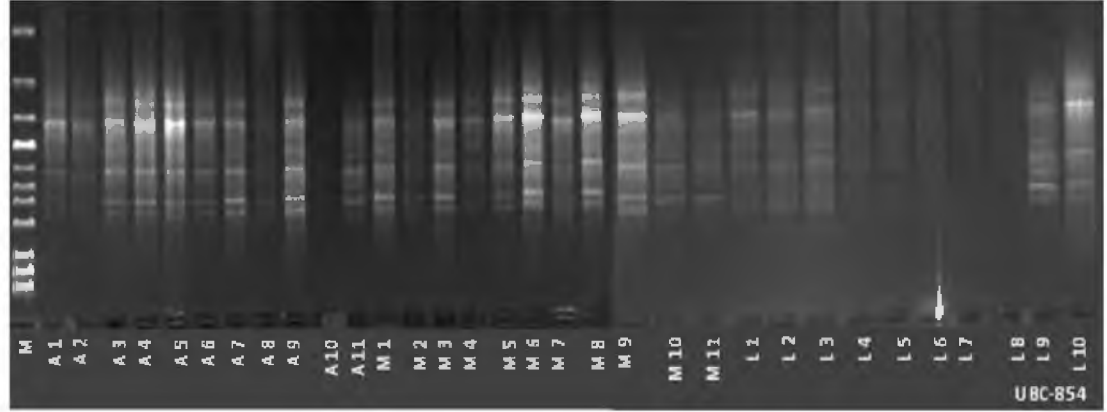
Şekil 4.74. Bitkiciklerde UBC-807 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



Şekil 4.75. Bitkiciklerde UBC-812 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



Şekil 4.76. Bitkiciklerde UBC-814 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



Şekil 4.77. Bitkiciklerde UBC-854 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü

Araştırmada incelenen 3 patates çeşidinde 24 adet primer kullanılmış (Çizelge 3.3) ancak bunlardan sadece 11 adet primerde (Çizelge 4.38) polimorfizm gözlenmiştir. Genel olarak incelendiğinde kullanılan 11 primerden 64 adet ile polimorfik bant, % 38.98 oranında polimorfizm elde edilmiştir. Polimorfik primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı 5.82 (64/11) tespit edilmiştir. En fazla polimorfik bant oluşturan primer 38 adet ile LOL-9 primeri olmuştur. En düşük polimorfizm oranı % 17.39 oranında UBC-807 primeri en yüksek ise % 68.42 oranında LOL-9 ve bu oranı % 46.67 ile LOL-10 primeri izlemiştir. Çeşitlere göre değişmekle birlikte % 50'nin üzerinde polimorfizm oranı LOL-8, LOL-9, PHV-5, PHV-7 ve UBC-814 olmak üzere toplam 5 adet primerde meydana gelmiştir. Sürgün ucuna EMS uygulanan

patates çeşitlerine göre en yüksek polimorfizm oranı Agria çeşidinde (% 58.06) gözlenmiş, bu çeşidi % 31.43 oran ile Marfona çeşidi ve en düşük oranla (% 26.19) Lady Olimpia çeşidi izlemiştir. Genel olarak bakıldığında EMS uygulanan patates çeşitlerinde polimorfizm oranı % 39.68 iken, kontrol gruplarında % 36.36 olarak ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.38).

Çizelge 4.37. Sürgün uçlarına EMS uygulanan patates çeşitlerinde fenogram çiziminde kullanılan bant matrisleri (devam)

Etiket no	LOL-8						LOL-9						LOL-10					
A1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
A2	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
A3	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-
A4	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
A5	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-
A6	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-
A7	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
A8	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
A9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-
A10	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
A11	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-
M1	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-
M2	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-
M3	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
M4	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
M5	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-
M6	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-
M7	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
M8	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
M9	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
M10	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-
M11	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+
L2	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
L3	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+
L4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+
L5	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
L6	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
L7	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+
L8	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
L9	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+
L10	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+

+ = PCR ürünü var - = PCR ürünü yok 9 = Veri yok .

Soldan sağa kullanılan primerleri, yukarıdan aşağıya doku kültürü ile elde edilen bitkileri gösterir.

Çizelge 4.37. Sürgün uçlarına EMS uygulanan patates çeşitlerinde fenogram çiziminde kullanılan bant matrisleri

Etiket no	UBC-807	UBC-812	UBC-814	UBC-854	PHV-3	PHV-5	PHV-6	PHV-7
A1	- + + -	- - - - -	+ + + - - +	+ + +	- - +	+ - + - - - -	+ + + + + - - - -	+ + - + - + + +
A2	- + + +	- - - - -	+ + - - - -	+ + +	- - +	+ - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - + -
A3	- + + -	- - - - -	+ + - - - -	+ + +	- - +	+ - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
A4	- + + -	- - + + + +	+ + - - - -	+ + +	- - +	+ - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
A5	+ - - -	- - + + + +	+ + + + + -	+ + +	+ + -	+ + + + + + +	- - - - - + + - +	+ + + + + + - -
A6	- + - -	- + - - - -	+ + - - - -	+ + +	- - -	+ - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - + -
A7	- + + -	- - - - -	+ - - - - -	- + +	- - -	- - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
A8	- + + -	- + - - - -	+ + - - - -	- + +	+ - +	- - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
A9	- + + -	- - - - -	+ + - - - -	- - +	+ - +	- - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
A10	- + + -	- - - - -	+ - - - - -	9 9 9	- - -	+ - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
A11	- + + -	- - - - -	+ + - - - -	- - +	- - +	- - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
M1	- + + -	- + - - - -	+ + - - - -	- - +	- - +	+ - + + - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
M2	- + + -	- - - - -	+ - - - - -	- - +	- - +	- - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
M3	- + + -	+ - - - - -	+ + - - - -	- - +	- - +	+ - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
M4	- + + -	+ + - - - -	+ + - - - -	- - +	- - +	+ - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
M5	- + + -	- - - - -	- + - - - -	+ - +	- - +	+ - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
M6	- + + -	- - - - -	+ + - - - -	+ - +	- - +	- - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
M7	- + + -	+ - + - - -	+ + - - - -	- - +	- - +	- - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
M8	- + + -	+ - + - - -	+ + - - - -	+ - +	- - +	+ - - - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
M9	- + + -	+ + + - - -	+ + - - - +	+ - +	- - +	- - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
M10	- + + -	+ + + - - -	+ + - - - +	- - -	- - +	- - + - - - -	- - - - - - - - -	9 9 9 9 9 9 9 9
M11	- + + -	+ + - - - -	+ + - - - +	- - -	- - -	- - + - - - -	- - - - - - - - -	- + - - - - - -
L1	- + + -	+ + + - - -	+ + - - - +	- - +	+ + +	- - + - - - -	- - - - - - - +	+ + - - - - - -
L2	- + + -	+ - + - - -	+ + - - - +	- - +	- - -	- - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
L3	- + + -	+ + + - - -	+ + - - - +	- - +	- + +	- - + - - - -	- - - - - - + +	- - - - - - - -
L4	- + + -	+ + + - - -	+ + - - - +	- - +	- - -	- - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
L5	- + + -	+ - + - - -	+ + - - - +	- - +	- - +	+ - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
L6	- + + -	+ - + - - -	+ + - - - +	9 9 9	- - +	- - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
L7	- + + -	- - + - - -	+ + - - - -	9 9 9	- - +	+ - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
L8	- + + -	- - + - - -	+ + - - - -	9 9 9	- - +	- - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
L9	- + + -	- + + - - -	+ + - - - -	+ - +	- - -	- - + - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -
L10	- + + -	- - - - -	+ + - - - -	+ - +	- - +	- - - - - - -	- - - - - - - - -	+ + - - - - - -

+ = PCR ürünü var - = PCR ürünü yok 9 = Veri yok

Soldan sağa kullanılan primerleri, yukarıdan aşağıya doku kültürü ile elde edilen bitkileri gösterir.

Çizelge 4.38. Sürgün uçlarına EMS uygulanan patates çeşitlerinde ISSR-PCR reaksiyonlarından elde edilen bant özellikleri

		Primer											
Çeşit		UBC-807	UBC-812	UBC-814	UBC-854	PHV-3	PHV-5	PHV-6	PHV-7	LOL-8	LOL-9	LOL-10	TOPLAM
Agria *	Bant sayısı	9	10	7	7	9	6	12	10	8	9	6	93
	Polimorfizm bant sayısı	4	5	5	3	3	6	6	6	6	7	3	54
	% polimorfizm	44.44	50.00	71.43	42.86	33.33	100.00	50.00	60.00	75.00	77.78	50.00	58.06
Marfona *	Bant sayısı	0	6	8	6	8	5	6	5	8	10	8	70
	Polimorfizm bant sayısı	0	3	3	2	0	2	0	0	3	6	3	22
	% polimorfizm	0.00	50.00	37.50	33.33	0.00	40.00	0.00	0.00	37.50	60.00	37.50	31.43
Lady Olimpia *	Bant sayısı	8	6	8	7	9	8	4	5	10	9	10	84
	Polimorfizm bant sayısı	0	2	1	2	3	1	0	0	3	5	5	22
	% polimorfizm	0.00	33.33	12.50	28.57	33.33	12.50	0.00	0.00	30.00	55.56	20.00	26.19
TOPLAM	Bant sayısı	17	22	23	20	26	19	22	20	26	28	24	247
	Polimorfizm bant sayısı	4	10	9	7	6	9	6	6	12	18	11	98
	% polimorfizm	23.53	45.45	39.13	35.00	23.08	47.37	27.27	30.00	46.15	64.29	45.83	39.68
*EMS uygulanmış													
Kontrol (Agria. Marfona. Lady Olimpia)	Bant sayısı	6	6	8	5	7	4	3	5	6	10	6	66
	Polimorfizm bant sayısı	0	2	3	3	1	1	0	1	2	8	3	24
	% polimorfizm	0.00	33.33	37.50	60.00	14.29	25.00	0.00	20.00	33.33	80.00	50.00	36.36
GENEL TOPLAM (EMS uygulanmış+Kontrol)	Bant sayısı	23	28	31	25	33	23	25	25	32	38	30	313
	Polimorfizm bant sayısı	4	12	12	10	7	10	6	7	14	26	14	122
	% polimorfizm	17.39	42.86	38.71	40.00	21.21	43.48	24.00	28.00	43.75	68.42	46.67	38.98

4.3.2. Sürgün uçlarına EMS uygulamalarının kümeleme analizi sonuçları

Yapılan kümeleme analizi sonuçlarına göre EMS uygulanan çeşitler arasında benzerlik oranı % 31 ile 97 arasında değişmiştir. En düşük benzerlik oranı % 31 değeri ile Marfona çeşidinin kontrol grubu (M11) ile Agria çeşidine 200 mM EMS + 60 dk uygulama yapılan grup (A5) arasında, en yüksek benzerlik oranı ise Lady Olimpia çeşidinin kontrol grubu (L10) ile 200 mM + 30 dk EMS uygulanan (A4) Agria çeşidi arasında gözlenmiştir (Çizelge 4.39).

Agria çeşidinde benzerlik oranları % 42-94 arasında değişiklik göstermiştir. Kontrol grubu (A11) 300 mM EMS + 90 dk uygulamasına (A9) % 94 oranında benzer olmuştur. Yine bu grubun (A11) benzerlikleri % 42 oran ile 200 mM EMS + 60 dk uygulamasından (A5) uzak mesafede olmuştur. 200 mM + 60 dk EMS uygulanan (A5) Agria çeşidinde mikroyumru oluşumu gözlenmiş ancak % 89 oranında kontrol grubuna benzerlik göstererek yakın bulunmuştur. Yine Agria çeşidinde farklı EMS uygulamalarının genetik benzerlikleri bakımından % 42 oran ile 200 mM + 60 dk uygulaması (A5) 100 mM EMS + 30 dk (A1), 300 mM EMS + 30 ve 60 dk (sırasıyla A7 ve A8) uygulamalarından uzak bulunmuştur. Genel olarak bakıldığında; Agria çeşidinde 200 mM + 60 dk EMS (A5) uygulaması diğer tüm uygulamalarla % 38-52 oranında benzerlikleri düşük olmuştur (Çizelge 4.39).

EMS uygulamalarının Marfona çeşidi üzerine etkisi incelendiğinde, % 73-94 arasında genetik benzerliğin meydana geldiği gözlenmiştir. Kontrol grubu (M11), 100 mM + 30 dk EMS uygulamalarına (M10) (koltuklanma meydana getiren) (Şekil 4.4) % 89 oranında benzerlik göstermiş, en uzak benzerlik indeksi ise % 75 oranında 200 ve 300 mM EMS + 60 dk uygulamalarında (sırasıyla M5 ve M8) ortaya çıkmıştır. Marfona çeşidinde farklı EMS uygulamalarının genetik benzerlikleri bakımından % 73 oran ile 300 mM + 60 dk EMS uygulaması (M8) 100 mM + 30 dk EMS uygulamasından (M1) en uzak mesafede bulunmuştur. Genel olarak bakıldığında; Marfona çeşidinde 300 mM + 60 dk EMS uygulaması (M8) diğer tüm uygulamalarla karşılaştırıldığında % 73-84 oranında genetik yakınlıkları düşük olmuştur (Çizelge 4.39).

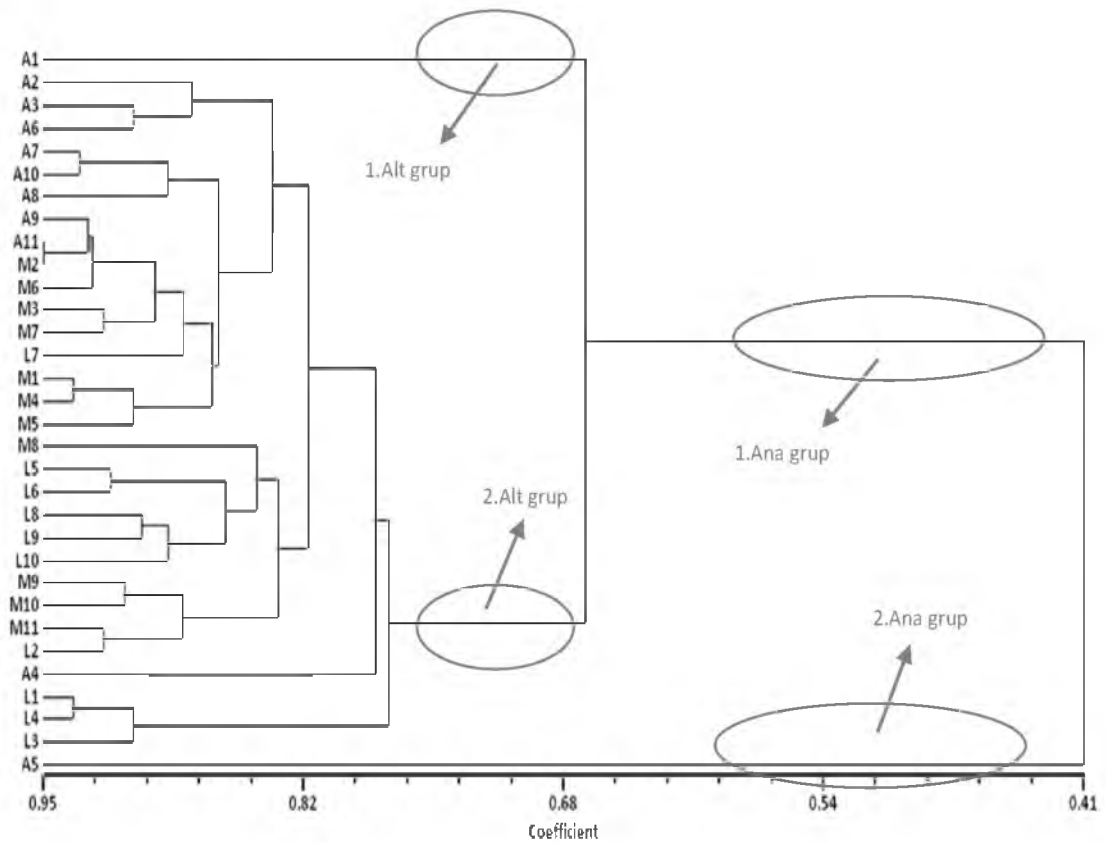
Araştırmada kullanılan Lady Olimpia çeşidinde EMS uygulamalarının genetik benzerlik oranları % 72-94 arasında değişiklik göstermiştir. 300 mM EMS + 60 ve 90 dk'lık uygulamalar

(sirasıyla L8 ve L9) kontrol grubuna (L10) % 89 oranında benzer bulunmuştur. En yakın benzerlik gösterenler (% 94) 100 ve 200 mM EMS + 30 dk'lık (sirasıyla L1 ve L4) uygulamalarda olmuştur. Genetik uzaklıkları en fazla (% 72) olanlar 100 ve 200 mM EMS + 90 dk (sirasıyla L3 ve L6) uygulama yapılan örneklerde ortaya çıkmıştır. Genel olarak, Lady Olimpia çeşidinde 100 mM EMS + 90 dk uygulaması (L3) tüm uygulamalara % 72-92 oranında genetik olarak en uzak bulunmuştur.

Çizelge 4.39. ISSR analizi sonuçlarına göre sürgün uçlarına EMS uygulanan patates bitkicikleri arasındaki genetik benzerlik matrisi

Etiket no	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10
A1	1																															
A2	0.64	1																														
A3	0.72	0.89	1																													
A4	0.59	0.86	0.81	1																												
A5	0.42	0.38	0.45	0.52	1																											
A6	0.69	0.86	0.91	0.78	0.45	1																										
A7	0.66	0.83	0.88	0.78	0.42	0.88	1																									
A8	0.66	0.80	0.84	0.78	0.42	0.84	0.91	1																								
A9	0.72	0.77	0.84	0.72	0.45	0.78	0.84	0.84	1																							
A10	0.72	0.80	0.89	0.79	0.44	0.85	0.93	0.87	0.82	1																						
A11	0.69	0.83	0.88	0.78	0.42	0.81	0.91	0.88	0.94	0.89	1																					
M1	0.70	0.78	0.86	0.70	0.41	0.83	0.83	0.86	0.89	0.84	0.86	1																				
M2	0.67	0.81	0.89	0.77	0.38	0.83	0.92	0.86	0.92	0.90	0.95	0.89	1																			
M3	0.72	0.80	0.91	0.75	0.42	0.81	0.84	0.81	0.91	0.89	0.91	0.89	0.92	1																		
M4	0.70	0.78	0.86	0.73	0.41	0.86	0.86	0.86	0.89	0.84	0.86	0.94	0.88	0.92	1																	
M5	0.73	0.81	0.86	0.78	0.44	0.83	0.86	0.86	0.86	0.89	0.86	0.91	0.84	0.86	0.91	1																
M6	0.73	0.81	0.86	0.80	0.47	0.83	0.89	0.86	0.92	0.89	0.95	0.84	0.91	0.89	0.88	0.91	1															
M7	0.67	0.78	0.89	0.77	0.41	0.83	0.89	0.86	0.86	0.87	0.89	0.84	0.91	0.92	0.91	0.84	0.88	1														
M8	0.64	0.84	0.83	0.83	0.44	0.77	0.77	0.73	0.77	0.79	0.77	0.78	0.75	0.83	0.84	0.84	0.81	0.84	1													
M9	0.67	0.78	0.86	0.77	0.41	0.80	0.83	0.83	0.83	0.85	0.89	0.81	0.88	0.89	0.84	0.81	0.88	0.91	0.81	1												
M10	0.68	0.71	0.79	0.71	0.34	0.80	0.82	0.82	0.82	0.81	0.86	0.80	0.88	0.86	0.88	0.77	0.84	0.91	0.73	0.91	1											
M11	0.64	0.72	0.77	0.70	0.31	0.77	0.80	0.80	0.77	0.85	0.80	0.78	0.81	0.83	0.81	0.75	0.78	0.84	0.75	0.84	0.89	1										
L1	0.59	0.67	0.72	0.66	0.42	0.69	0.75	0.78	0.84	0.72	0.84	0.77	0.80	0.81	0.80	0.73	0.83	0.80	0.70	0.86	0.82	0.73	1									
L2	0.66	0.78	0.81	0.78	0.39	0.78	0.84	0.78	0.81	0.85	0.84	0.77	0.96	0.88	0.83	0.77	0.83	0.92	0.83	0.89	0.89	0.92	0.78	1								
L3	0.58	0.63	0.67	0.64	0.38	0.67	0.73	0.73	0.77	0.71	0.80	0.72	0.75	0.77	0.78	0.72	0.81	0.78	0.69	0.81	0.84	0.75	0.92	0.77	1							
L4	0.63	0.70	0.75	0.69	0.39	0.75	0.81	0.78	0.84	0.79	0.88	0.80	0.83	0.84	0.83	0.77	0.86	0.83	0.73	0.89	0.86	0.80	0.94	0.84	0.79	1						
L5	0.67	0.81	0.77	0.83	0.38	0.73	0.80	0.80	0.80	0.84	0.86	0.78	0.81	0.83	0.81	0.81	0.84	0.84	0.84	0.84	0.74	0.84	0.80	0.89	0.78	0.83	1					
L6	0.71	0.79	0.80	0.77	0.36	0.74	0.79	0.79	0.80	0.79	0.80	0.79	0.79	0.80	0.82	0.80	0.80	0.89	0.87	0.84	0.78	0.87	0.74	0.90	0.72	0.77	0.92	1				
L7	0.72	0.77	0.89	0.79	0.44	0.82	0.84	0.80	0.85	0.87	0.89	0.80	0.77	0.89	0.84	0.82	0.89	0.90	0.79	0.85	0.85	0.79	0.82	0.85	0.80	0.85	0.84	0.82	1			
L8	0.66	0.87	0.85	0.89	0.41	0.79	0.87	0.84	0.82	0.87	0.89	0.77	0.87	0.85	0.80	0.82	0.89	0.90	0.89	0.89	0.85	0.85	0.75	0.92	0.74	0.79	0.90	0.89	0.87	1		
L9	0.59	0.80	0.78	0.81	0.36	0.81	0.81	0.78	0.78	0.80	0.81	0.67	0.83	0.78	0.80	0.77	0.83	0.83	0.80	0.83	0.82	0.83	0.78	0.88	0.77	0.84	0.83	0.82	0.87	0.90	1	
L10	0.64	0.81	0.77	0.97	0.34	0.73	0.80	0.80	0.80	0.82	0.86	0.75	0.81	0.77	0.75	0.81	0.88	0.78	0.81	0.78	0.73	0.78	0.77	0.80	0.75	0.80	0.88	0.84	0.85	0.89	0.89	1

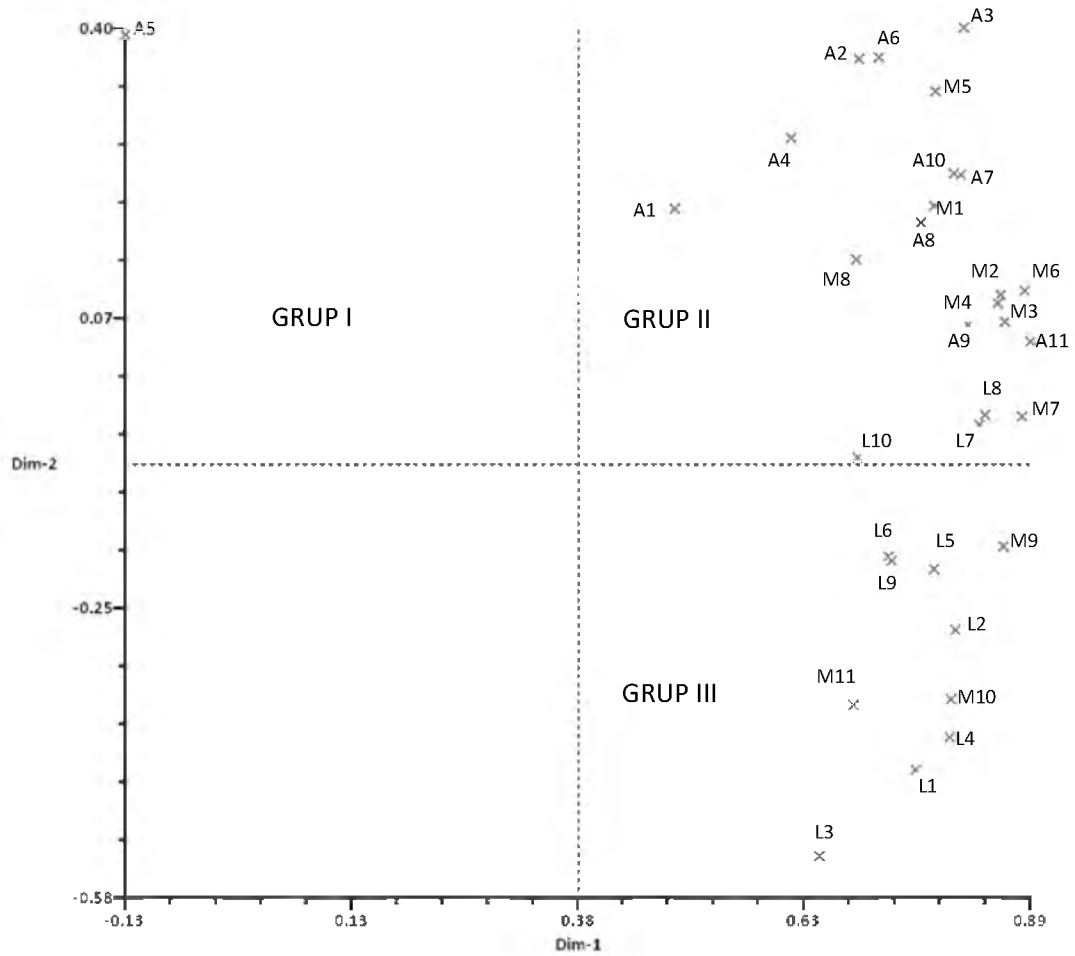
SHAN eşitliğinden elde edilen benzerlik indeksi temel alınarak oluşturulan polimorfik bantlara göre çalışılan patates çeşitlerinin iki ana gruba ayrıldığı görülmektedir (Şekil 4.95). Birinci ana grup kendi içinde iki alt gruba ayrılmakta ve Agria çeşidinde 100 mM + 30 dk EMS uygulaması (A1) tek başına bir grup oluştururken, diğer tüm çeşit ve uygulamalar (Agria çeşidine 200 mM EMS + 60 dk (A5) hariç) ayrı bir alt grubu (1. Alt grup) oluşturmaktadır. Diğer ana grup olan 2. alt grupta ise Agria çeşidine 200 mM + 60 dk EMS uygulaması (A5) dahil edilmiştir. 100 mM EMS + 60 dk uygulama yapılan Marfona çeşidi (M2) kontrol grubu olan Agria çeşidine (A11) en yakın çeşit olarak görülmekle birlikte her ikisi de 300 mM EMS + 90 dk uygulama yapılan Agria çeşidine (A9) daha yakın olmuştur. Çeşitlere ait kontrol grupları (A11, M11 ve L10), mikroyumru (A10**) ve koltuk (M10**) oluşturan çeşitler yakın çeşitler olarak görülmektedir (Şekil 4.78).



Şekil 4.78. UPGMA metoduyla oluşturulan sürgün uçlarına EMS uygulanan patates bitkicikleri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren fenogram

4.3.3. Sürgün uçlarına EMS uygulamalarının temel bileşenler analizi sonuçları

EMS uygulanan sürgün uçlarına ait bitkicikler arasındaki genetik varyasyonu belirlemek için PCA analizi yöntemi kullanılmıştır. Sonuçlara göre bitkicikler arasında genetik varyasyon bakımından üç ana grup belirlenmiştir (Şekil 4.79).



Şekil 4.79. Sürgün uçlarına EMS uygulanan patates bitkiciklerinde PCA analiz yönteminin sonuçları

GRUP I: Agria çeşidinde 200 mM ve 60 dk EMS (A5) uygulamasından,

GRUP II: Agria çeşidinde kontrol grubu (A11), 100 mM EMS + tüm uygulama süreleri (A1, A2 ve A3), 200 mM EMS + 30 ve 90 dk (sırasıyla A4 ve A6), 300 mM + tüm uygulama süreleri (A7, A8 ve A9), mikro yumru oluşturan 200 mM EMS + 60 dk uygulama (A10^{**}); Marfona çeşidinde 100 ve 200 mM EMS + tüm uygulama süreleri (sırasıyla M1, M2, M3, M4, M5, M6,, 300 mM EMS + 30 dk (M7); Lady Olimpia

çeşidinde kontrol grubu (L10), 300 mM EMS + 30 ve 60 dk (sırasıyla L7 ve L8) uygulamalarından,

GRUP III: Lady Olimpia çeşidinde 100 mM ve 200 mM EMS + tüm uygulama süreleri (sırasıyla L1, L2, L3, L4, L5, L6), 300 mM EMS + 90 dk (L9); Marfona çeşidinde kontrol grubu (M11), 100 mM EMS + 30 dk (M10^{**}), 300 mM EMS + 90 dk (M9) uygulamalarından oluşmaktadır.

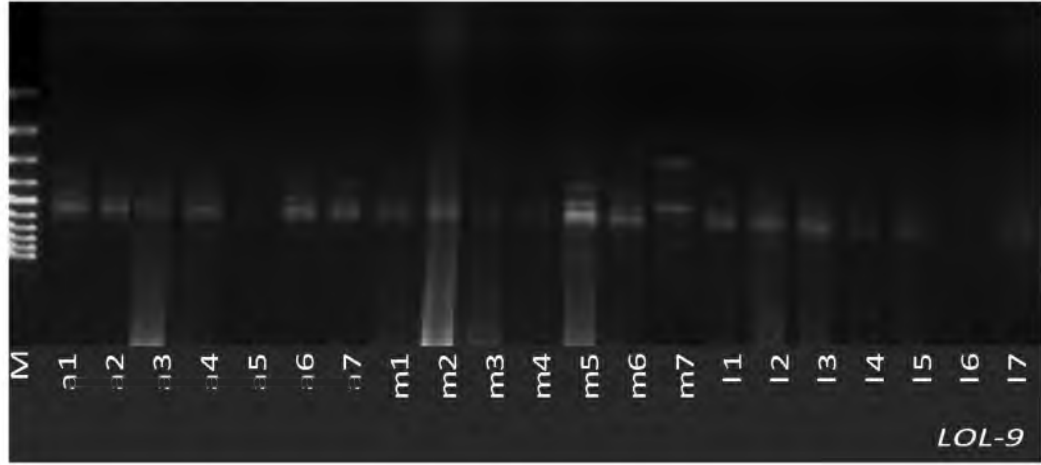
4.3.4. Yumru gözlerine EMS uygulamalarının bant görüntüleri ve özellikleri

EMS uygulanan patates çeşitlerine ait gözlerden gelişen bitkilerin etiket numaraları Çizelge 4.40'da verilmiştir.

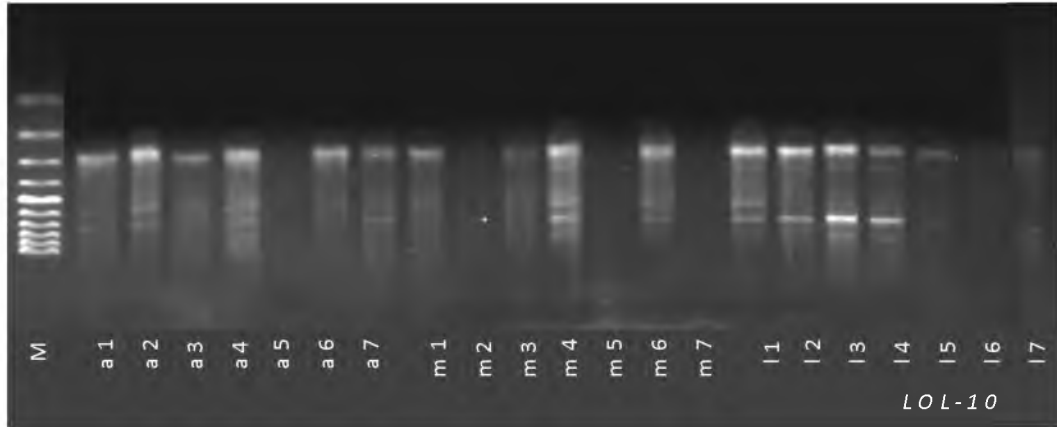
Çizelge 4.40. EMS uygulanan patates çeşitlerine ait yumru gözlerinden gelişen bitkilerin etiket numaraları

Etiket no	EMS dozu (%)	Uygulama süresi
a1	0.2	Daldırma
a2	0.4	
a3	0.6	
a4	0.2	3 saat
a5	0.4	
a6	0.6	
a7	0	
m1	0.2	Daldırma
m2	0.4	
m3	0.6	
m4	0.2	3 saat
m5	0.4	
m6	0.6	
m7	0	
l1	0.2	Daldırma
l2	0.4	
l3	0.6	
l4	0.2	3 saat
l5	0.4	
l6	0.6	
l7	0	

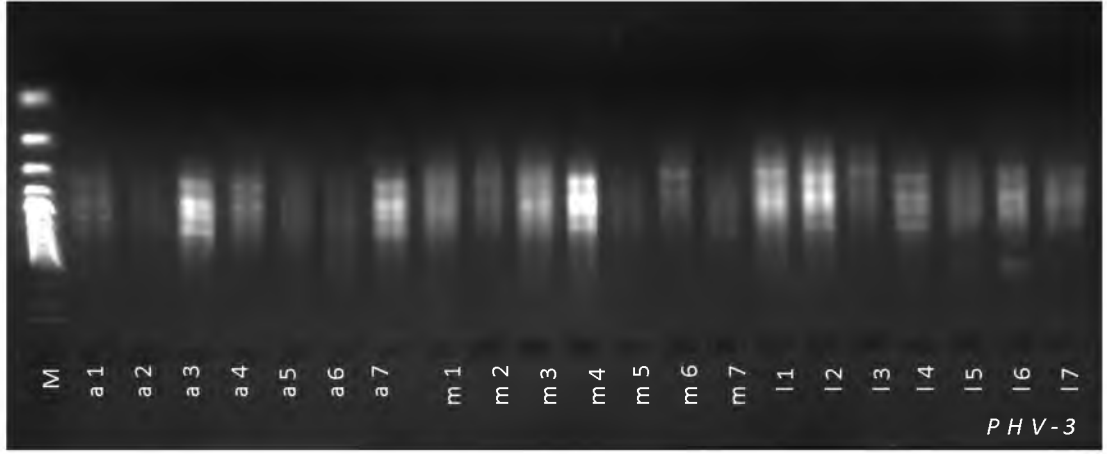
ISSR- PCR analizlerinden elde edilen jel görüntüleri (Şekil 4.80-4.88) ve ISSR primerleri kullanılarak oluşturulan bant matrisleri (Çizelge 4.41) ve özellikleri (Çizelge 4.42) aşağıda verilmiştir.



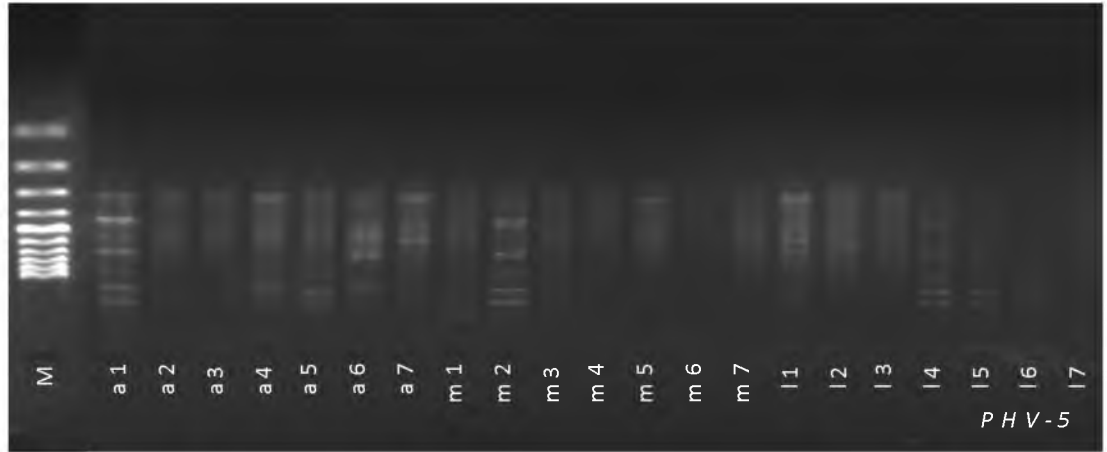
Şekil 4.80. Klonlarda LOL-9 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



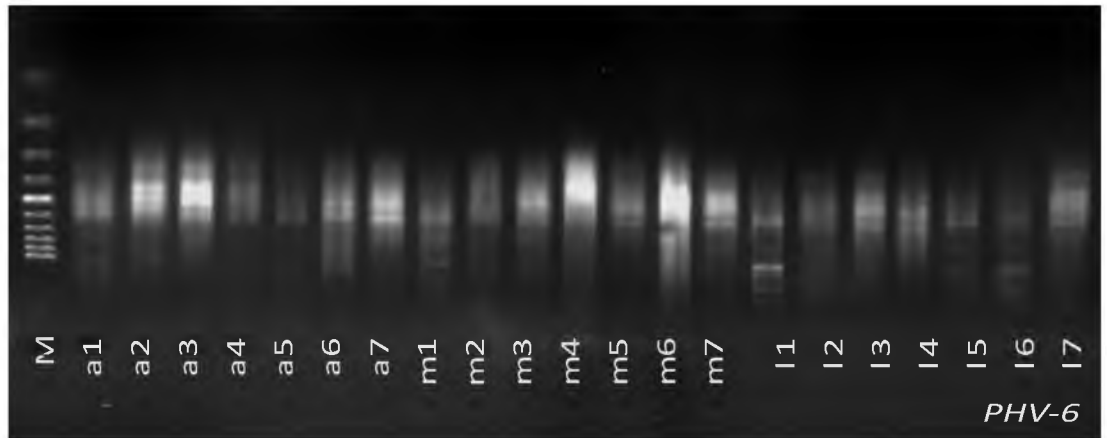
Şekil 4.81. Klonlarda LOL-10 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



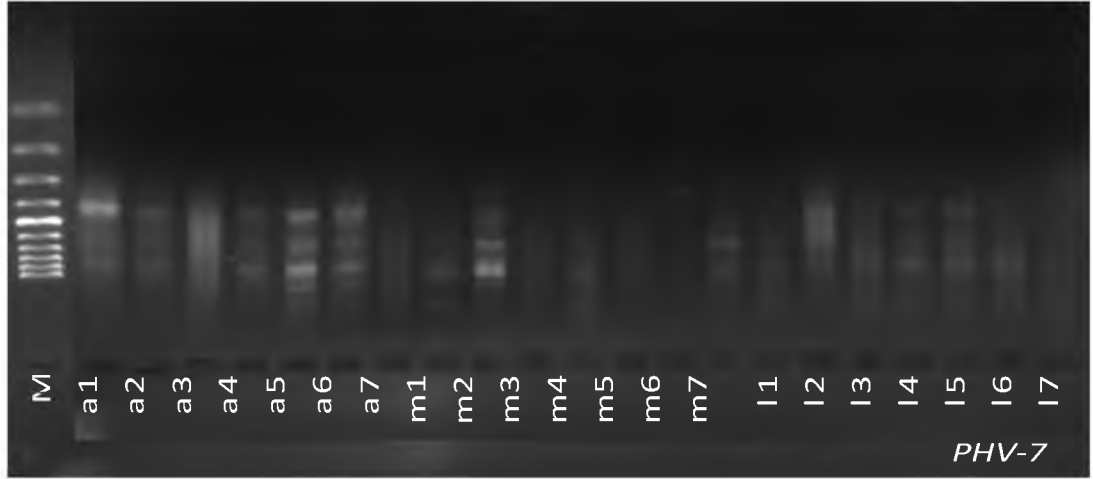
Şekil 4.82. Klonlarda PHV-3 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



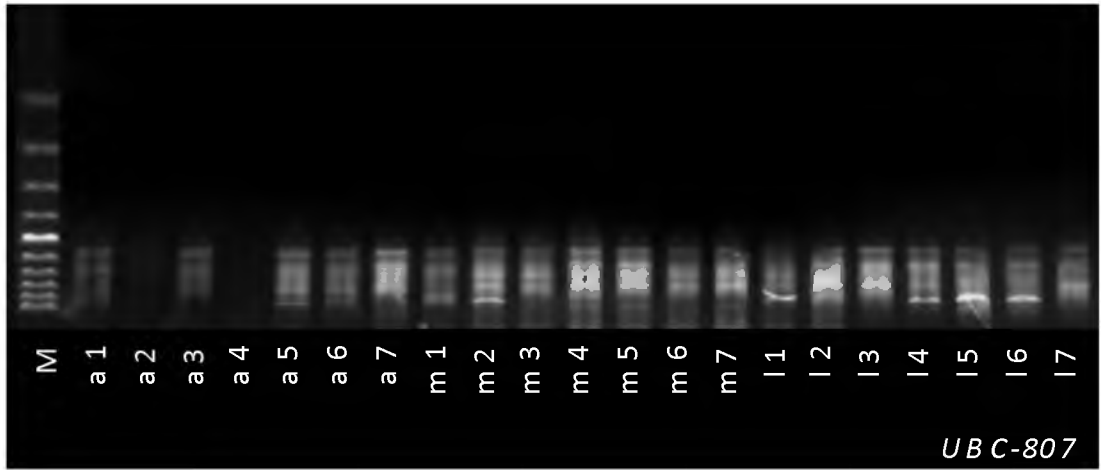
Şekil 4.83. Klonlarda PHV-5 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



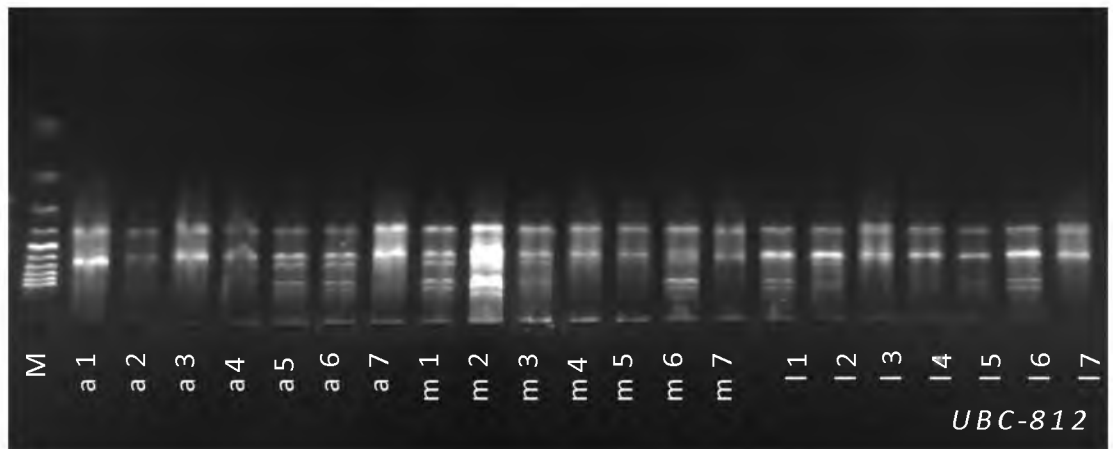
Şekil 4.84. Klonlarda PHV-6 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



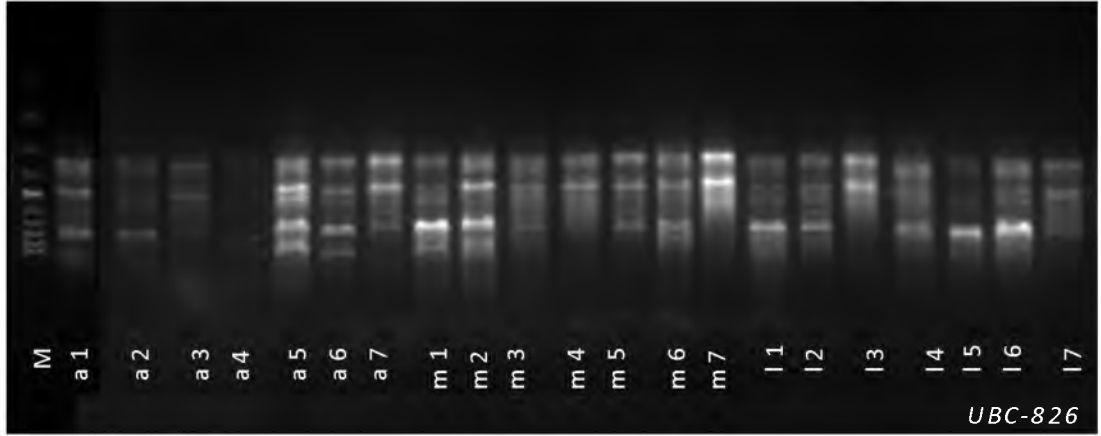
Şekil 4.85. Klonlarda PHV-7 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



Şekil 4.86. Klonlarda UBC-807 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



Şekil 4.87. Klonlarda UBC-812 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü



Şekil 4.88. Klonlarda UBC-826 primeri kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü

Araştırmanın bu bölümünde Agria, Marfona ve Lady Olimpia patates çeşitlerine ait yumru gözlerine farklı doz ve sürelerde EMS uygulanmıştır. Moleküler analizlerde 24 adet primer kullanılmış (Çizelge 3.3), ancak bunlardan sadece 9 adet primerde (Çizelge 4.42) polimorfizm, 3 adet primerde (LOL-8, UBC-814 ve UBC-854) ise monomorfizm gözlenmiştir.

Kullanılan 9 adet primerden 118 adet ile polimorfik bant, % 40.55 oran ile polimorfizm elde edilmiştir. Polimorfik primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı 13.11 (118/9) adet olarak tespit edilmiştir. En fazla polimorfik bant oluşturan primer 23 adet ile PHV-5 primeri olmuştur. En düşük polimorfizm oranı % 17.39 oranında PHV-6 en yüksek ise % 67.65 oranında PHV-5 primerinde gözlenmiştir. Toplam 7 adet primerde (LOL-9, LOL-10, PHV-3, PHV-5, PHV-7, UBC-807 ve UBS-826) % 50'nin üzerinde polimorfizm oranı meydana gelmiştir. Yumru gözlerine EMS uygulanan patates çeşitlerinde en yüksek polimorfizm oranı Agria çeşidinde (% 58.62) gözlenmiş, bu çeşidi Lady Olimpia (% 55.00) ve Marfona (% 42.19) çeşitleri izlemiştir. Genel olarak, EMS uygulanan çeşitlerde polimorfizm oranı % 51.65 iken, kontrol gruplarında % 22.02 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.42).

Çizelge 4.41. Yumru gözlerine EMS uygulanan patates çeşitlerinde fenogram çiziminde kullanılan polimorfik bant matriksleri

Etiket no	LOL-9	LOL-10	PHV-3	PHV-5	PHV-6	PHV-7	UBC-807	UBC-812	UBC-826
a1	+ - - + + -	- - + + +	+ - + - -	- + + + + - +	+ + +	+ - - -	- + +	+ - -	+ + - + +
a2	+ - - + + -	- + + + +	9 9 9 9 9	- - + - - - -	- + -	+ - - -	9 9 9	- + -	- + - - +
a3	+ - - + - -	- - + - -	+ - + - -	- - + - - - -	- - -	- + - -	- + +	- - -	- + - - -
a4	+ - - + + -	- + + + +	+ - + - -	- + + - + - -	- - -	+ - - -	9 9 9	- + -	- + - - -
a5	- - - - -	9 9 9 9 9	+ - + + +	- + + - + + +	- - -	+ - + +	+ + -	- + +	+ + + + +
a6	+ - - + + -	- - - - -	- - - - -	- - - + - - -	- + +	+ - + +	- + +	- + +	- + - + +
a7	+ - - + + -	- - + - -	+ - + - -	- + + - - - -	- - -	9 9 9 9	- + -	+ - +	- - - - -
m1	+ - - + - -	- - - - -	+ - - - -	- + + + + + +	+ + -	- - + +	- + +	- + +	- + + + +
m2	+ - - + - -	9 9 9 9 9	+ - - - -	- + + + + - +	+ - -	+ - + +	+ + -	+ + +	+ + + + -
m3	+ - - + - -	- + + - -	+ - + - -	+ - + - - - +	+ - -	- - - +	+ + -	- + -	+ + - - -
m4	+ - - + + -	+ + + - -	+ - + - -	- - + - - - -	- - -	- - - +	+ + +	- + -	- - - - -
m5	+ - - + + -	9 9 9 9 9	9 9 9 9 9	- - + - - - -	- - -	- - - -	+ + +	- + -	- + - - -
m6	+ - - + + -	- + + - -	+ - - - -	9 9 9 9 9 9	- - -	9 9 9 9	+ + +	- + +	+ + - + +
m7	- + + - - +	9 9 9 9 9	- - + - -	- - + - + - -	- - -	- - - -	+ + +	- - -	- - - - -
l1	+ - - + + -	+ + + - -	+ - + - -	+ - + + - - -	+ + +	- - + +	+ + -	- + +	+ + - + +
l2	+ - - + + -	+ - + - -	- + + - -	+ - + - - - -	+ - -	+ - - -	- + -	- + +	- + + + +
l3	+ - - + - -	+ + + + +	+ - - - -	- + + + - - -	- - -	+ - + +	+ + +	- - -	- - - - -
l4	- - - + - -	+ + + - -	- + + - -	- + - + + - +	- - -	+ - + +	+ + -	- - +	- + - - -
l5	+ - - + - -	- - + - -	- + + + -	- - + + - - +	+ + +	+ - + +	+ + -	- + +	+ + - + +
l6	- - - - -	- - - - -	- + + + -	- - - - + - -	+ + +	+ - + +	+ + +	- + +	+ + + + +
l7	- - - + - -	- - + - -	- + + - -	9 9 9 9 9 9	- - -	9 9 9 9	- - +	- + +	- + + - -

+ = PCR ürünü var

- = PCR ürünü yok 9 = Veri yok

Soldan sağa kullanılan primerleri, yukarıdan aşağıya rakamlar EMS uygulamalarına göre bitkileri gösterir.

Çizelge 4.42. Yumru gözlerine EMS uygulanan patates çeşitlerinde ISSR-PCR reaksiyonlarından elde edilen bant özellikleri

Çeşit		LOL-9	LOL-10	PHV-3	PHV-5	PHV-6	PHV-7	UBC-807	UBC-812	UBC-826	TOPLAM
Agria *	Bant sayısı	7	4	6	8	9	5	5	6	8	58
	Polimorfizm bant sayısı	3	4	4	6	3	4	3	3	4	34
	% polimorfizm	42.86	100.00	66.67	75.00	33.33	80.00	60.00	50.00	50.00	58.62
Marfona *	Bant sayısı	12	5	6	8	8	7	6	6	6	64
	Polimorfizm bant sayısı	1	3	2	7	2	3	2	2	5	27
	% polimorfizm	8.33	60.00	33.33	87.50	25.00	42.86	33.33	33.33	83.33	42.19
Lady Olimpia *	Bant sayısı	5	5	6	7	11	7	6	5	8	60
	Polimorfizm bant sayısı	3	5	4	6	3	3	2	2	5	33
	% polimorfizm	60.00	100.00	66.67	85.71	27.27	42.86	33.33	33.33	62.50	55.00
TOPLAM	Bant sayısı	24	14	18	23	28	19	17	17	22	182
	Polimorfizm bant sayısı	7	12	10	19	8	10	7	7	14	94
	% polimorfizm	29.17	85.71	55.56	82.61	28.57	52.63	41.18	41.18	63.64	51.65
Kontrol (Agria. Marfona. Lady Olimpia)	Bant sayısı	15	5	12	11	18	12	13	13	10	109
	Polimorfizm bant sayısı	6	0	2	4	0	3	3	3	3	24
	% polimorfizm	40.00	0	16.67	36.36	0	25.00	23.08	23.08	30.00	22.02
GENEL TOPLAM (EMS uygulanmış+Kontrol)	Bant sayısı	39	19	30	34	46	31	30	30	32	291
	Polimorfizm bant sayısı	13	12	12	23	8	13	10	10	17	118
	% polimorfizm	33.33	63.16	40.00	67.65	17.39	41.94	33.33	33.33	53.13	40.55

4.3.5. Yumru gözlerine EMS uygulamalarının kümeleme analizi sonuçları

Yapılan kümeleme analizi sonuçlarına göre, yumru gözlerine EMS uygulanan bitkiler arasında benzerlik oranı % 33 ile 94 arasında değişmiştir. En düşük benzerlik oranı % 33 değeri ile Lady Olimpia çeşidinde % 0.4 EMS + 3 saat uygulama (I5) ile Marfona çeşidinin kontrol grubu (m7) arasında, en yüksek benzerlik oranı (% 94) ise Marfona çeşidinde % 0.2 ve 0.4 EMS + 3 saat uygulamaları (sırasıyla m4 ve m5) arasında gözlenmiştir (Çizelge 4.43).

Agria çeşidinde benzerlik oranları % 44-88 arasında değişiklik göstermiştir. Kontrol grubunun (a7) diğer EMS uygulamalarına benzerlik oranı % 50-84 arasında olmuş, en yüksek benzerlik oranı % 0.6 EMS + daldırmada (a3) en düşük ise % 0.4 EMS + 3 saat uygulamada (a5) ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.43).

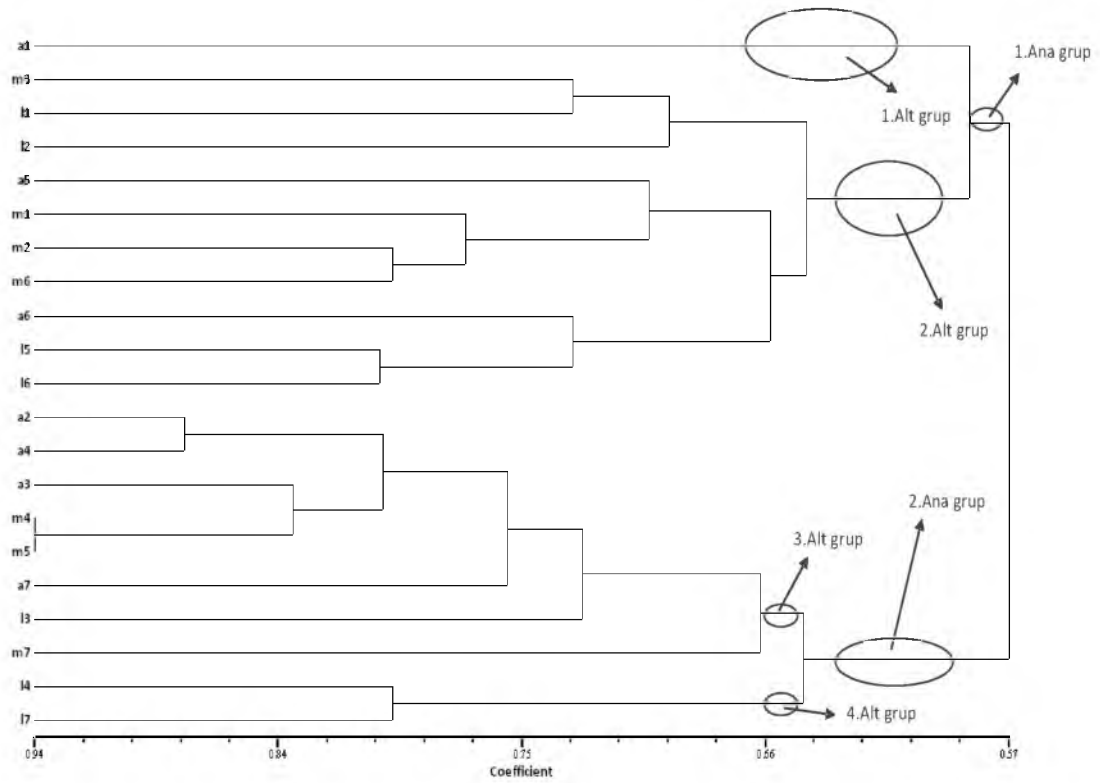
EMS uygulamalarının Marfona çeşidi üzerine etkisi incelendiğinde; % 39-94 arasında genetik benzerliğin meydana geldiği gözlenmiştir. Kontrol grubu (m7) % 39 oranında % 0.2 ve 0.4 EMS + daldırma uygulamaları (sırasıyla m1 ve m2) ile en uzak benzerlik indeksini oluşturmuş, en yakın benzerlik ise (% 72) % 0.2 EMS + 3 saat uygulamada (m4) belirlenmiştir (Çizelge 4.43).

Araştırmada kullanılan Lady Olimpia çeşidinde EMS uygulamalarının genetik benzerlik oranları % 47-80 arasında değişiklik göstermiştir. % 0.2 EMS + daldırma (I1) uygulaması kontrol grubundan (I7) % 47 oranla genetik olarak uzak bulunmuştur. Kontrol grubu (I7) ile % 80 oranında en yakın benzerlik gösteren uygulama % 0.2 EMS + 3 saat (I4) olmuştur (Çizelge 4.43).

Çizelge 4.43. ISSR analizi sonuçlarına göre yumru gözlerine EMS uygulanan patates bitkileri arasındaki genetik benzerlik matrisi

Etiket no	a1	a2	a3	a4	a5	a6	a7	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7	l1	l2	l3	l4	l5	l6	l7
a1	1																				
a2	0.67	1																			
a3	0.61	0.73	1																		
a4	0.71	0.88	0.76	1																	
a5	0.50	0.50	0.44	0.58	1																
a6	0.59	0.64	0.59	0.53	0.50	1															
a7	0.62	0.66	0.84	0.77	0.50	0.59	1														
m1	0.63	0.48	0.59	0.53	0.67	0.76	0.57	1													
m2	0.67	0.46	0.50	0.64	0.72	0.61	0.63	0.78	1												
m3	0.56	0.67	0.76	0.71	0.58	0.49	0.68	0.59	0.69	1											
m4	0.51	0.76	0.80	0.79	0.50	0.59	0.78	0.54	0.56	0.80	1										
m5	0.55	0.89	0.87	0.89	0.48	0.61	0.74	0.52	0.52	0.77	0.94	1									
m6	0.60	0.68	0.67	0.70	0.72	0.77	0.63	0.77	0.80	0.73	0.73	0.75	1								
m7	0.44	0.57	0.72	0.67	0.44	0.39	0.59	0.39	0.39	0.58	0.72	0.71	0.40	1							
l1	0.59	0.58	0.54	0.53	0.58	0.71	0.57	0.66	0.69	0.73	0.68	0.58	0.80	0.36	1						
l2	0.56	0.70	0.66	0.63	0.53	0.68	0.68	0.59	0.58	0.66	0.66	0.71	0.70	0.47	0.73	1					
l3	0.59	0.70	0.68	0.76	0.53	0.56	0.70	0.56	0.69	0.63	0.78	0.74	0.63	0.64	0.56	0.49	1				
l4	0.49	0.52	0.59	0.63	0.64	0.56	0.65	0.56	0.69	0.63	0.63	0.58	0.60	0.58	0.56	0.59	0.71	1			
l5	0.61	0.58	0.51	0.45	0.67	0.73	0.51	0.68	0.72	0.66	0.51	0.52	0.67	0.33	0.78	0.71	0.49	0.63	1		
l6	0.51	0.48	0.46	0.42	0.69	0.73	0.40	0.63	0.58	0.51	0.46	0.48	0.60	0.47	0.63	0.61	0.39	0.59	0.80	1	
l7	0.47	0.65	0.80	0.70	0.52	0.63	0.70	0.63	0.52	0.67	0.67	0.75	0.60	0.60	0.47	0.70	0.57	0.80	0.60	0.60	1

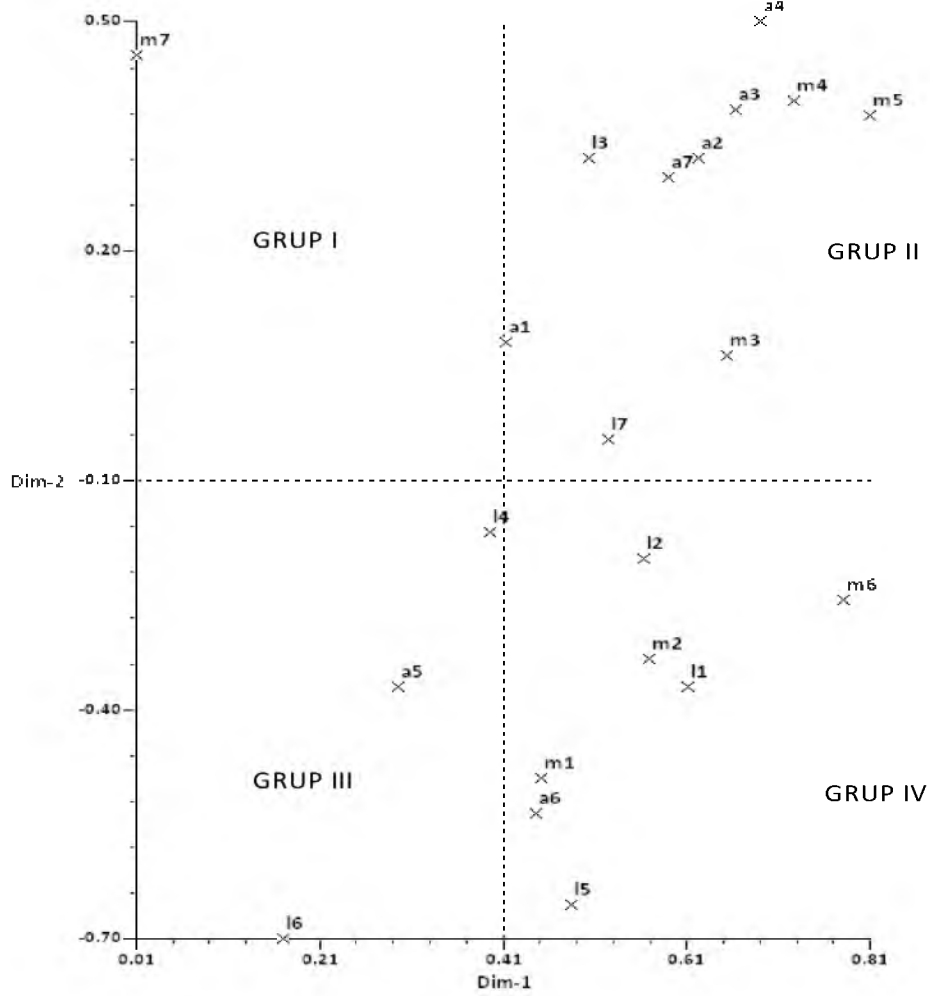
SHAN eşitliğinden elde edilen benzerlik indeksi temel alınarak oluşturulan polimorfik bantlara göre, yumru gözlerine EMS uygulanan patates bitkilerinin iki ana gruba ayrıldığı görülmektedir (Şekil 4.105). Birinci ana grup kendi içinde iki alt gruba ayrılmakta ve Agria çeşidinde % 0.2 EMS + daldırma uygulaması (a1) tek başına bir grup (1. Alt grup) oluştururken, Agria çeşidinden % 0.4 ve 0.6 EMS + 3 saat (sırasıyla a5 ve a6); Marfona çeşidinden EMS'nin tüm dozları + daldırma (m1, m2 ve m3) ve % 0.6 EMS + 3 saat (m6); Lady Olimpia çeşidinden % 0.2 ve 0.4 EMS + daldırma (sırasıyla l1 ve l2) ve % 0.4 ve 0.6 EMS + 3 saat (sırasıyla l5 ve l6) uygulamaları ayrı bir alt grubu (2. Alt grup) oluşturmaktadır. Diğer ana grup olan 2. Ana grupta 2 alt gruba ayrılmakta ve Agria çeşidinde kontrol grubu (a7) ile birlikte % 0.4 ve 0.6 EMS + daldırma (sırasıyla a2 ve a3) ve % 0.2 EMS + 3 saat (a4); Marfona çeşidinde % 0.2 ve 0.4 EMS + 3 saat (sırasıyla m4 ve m5) birbirine en yakın uygulamalar olup, kontrol grubuyla (m7) birlikte; Lady Olimpia çeşidinde ise % 0.6 EMS + daldırma (l3) 3. Alt grupta yer almış, Lady Olimpia çeşidinin kontrol grubu (l7) ile % 0.2 EMS + 3 saat (l4) uygulaması 4. Alt gruba dahil edilmiştir (Şekil 4.89).



Şekil 4.89. UPGMA metoduyla oluşturulan yumru gözlerine EMS uygulanan patates bitkileri arasındaki genetik ilişkiyi gösteren fenogram

4.3.6. Yumru gözlerine EMS uygulanan patates bitkilerinin temel bileşenler analizi sonuçları

Yumru gözlerine EMS uygulanan patates bitkileri arasındaki genetik varyasyonu belirlemek için PCA analizi yöntemi kullanılmıştır. Sonuçlara göre bitkiler arasında genetik varyasyon bakımından dört ana grup belirlenmiştir (Şekil 4.90).



Şekil 4.90. Yumru gözlerine EMS uygulanan patates bitkilerinde PCA analiz yönteminin sonuçları

GRUP I: Marfona çeşidinde kontrol grubu (m7),

GRUP II: Agria çeşidinde kontrol grubu (a7), % 0.2 EMS + daldırma ve 3 saat (sırasıyla a1 ve a4), % 0.4 ve % 0.6 EMS + daldırma (sırasıyla a2 ve a3); Marfona çeşidinde %

0.6 EMS + daldırma (m3), % 0.2 ve 0.4 EMS + 3 saat (sırasıyla m4 ve m5); Lady Olimpia çeşidinde kontrol grubu (l7) ve % 0.6 EMS + daldırma (l3) uygulamalarından,

GRUP III: Agria çeşidinde % 0.4 EMS + 3 saat (a5); Lady Olimpia çeşidinde % 0.2 ve 0.6 EMS + 3 saat (l4 ve l6) uygulamalarından,

GRUP IV: Agria çeşidinde % 0.6 EMS + 3 saat (a6); Marfona çeşidinde % 0.2 ve 0.4 EMS + daldırma (sırasıyla m1 ve m2), % 0.6 EMS + 3 saat (m6); Lady Olimpia çeşidinde % 0.2 ve 0.4 EMS + daldırma (sırasıyla l1 ve l2), % 0.4 EMS + 3 saat uygulamalarından (l5) oluşmaktadır (Şekil 4.90).

Dış görünüşü bakımından beyazımsı - mor erguvan çiçek oluşturan Agria çeşidine (a6) % 0.6 EMS + 3 saat uygulama yapıldığı ve kontrolden farklı grupta (Grup IV) yer aldığı tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Çeşitler arasında *in vitro*da bitki gelişimi, incelenen tüm morfolojik özellikler bakımından farklı bulunmuştur (Çizelge 4.1, 4.3, 4.5, 4.7, 4.9 ve 4.11). Bu farklılıkların çeşitlerin genetik özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim daha önce yapılan çalışmalarda *in vitro*da bitki gelişiminde çeşitler bazında farklılık olduğu belirlenmiştir (Gunn ve Shepard., 1981).

Sürgün ucuna uygulanan EMS dozları *in vitro*da bitkicik gelişiminin seyrini değiştirmiş olup, genelde 100 mM EMS dozu bitkicik gelişimini teşvik etmiş, takip eden dozlarda ise bitkicik gelişimi (bitkicik boyu, boğum sayısı, sap sayısı, yan dal sayısı ve kök sayısı bakımından) gerilemiştir (Çizelge 4.1, 4.3, 4.5, 4.7 ve 4.11). Bu değişimin EMS'nin enzim aktivitesini değiştirerek (Kurobane vd., 1979) büyüme ve gelişmeyi engellemesinde, oksin ve benzeri bitki büyüme hormonlarını etkilemesinden (Skoog, 1935; Girija ve Dhanavel, 2009) kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer şekilde *in vitro*da soya fasulyesinde (Karthika ve Subba Lakshmi, 2006) ve aromatik bitkilerden tefarik bitkisinde (Ramachandra vd., 2008) yapılan çalışmada EMS'nin uygulama dozlarının morfolojik gelişmeyi olumsuz etkilediği tespit edilmiştir.

EMS'nin *in vitro*da bitkicik gelişimi üzerine etkisinin uygulama zamanı ve çeşide göre önemli değişim gösterdiği belirlenmiştir. Genel olarak, uygulama zamanı uzadıkça ve aynı zamanda doz arttıkça bitkicik gelişiminde gerileme daha fazla olmuştur (Çizelge 4.1, 4.3, 4.5, 4.7 ve 4.9). Bu etkinin Marfona çeşidinde daha belirgin olduğu görülmüştür (Çizelge 4.3, 4.5, 4.7 ve 4.9). Diğer çeşitlerde stabil bir değişim görülmemiştir.

EMS dozlarının etkisinin uygulama süresi (Luan vd., 2007), çeşit (Gunn ve Shepard, 1981) ve türlere (Ryan vd., 1987) göre de değiştiği daha önce yapılan çalışmalarda da belirlenmiştir.

EMS uygulama süreleri bitkiciklerin *in vitro*da vejetatif gelişmelerini etkilemiş olup bunun nedeninin, EMS uygulama sürelerine bağlı olarak etkilenme derecelerinin farklı olduğu düşünülmektedir. Nitekim mısırdaki (Kumar ve Kumar Rai, 2007), tatlı patates (Luan vd., 2007) ve muzda (Bidabadi vd., 2012) yapılan çalışmalarda incelenen özelliklerin EMS dozlarından etkilendiği ve uygulama süresinin önemli farklılıklara neden olduğu ortaya konulmuştur

*In vitro*da bitkicik gelişimi bakımından, EMS dozları ve uygulama sürelerinin birlikte çeşit üzerine etkileri değişkenlik göstermiş ve her üç çeşitte gerilemeye sebep olmuştur.

Çeşit ve doz, çeşit ve uygulama süresi arasındaki etkileşim *in vitro*da bitkicik boyu, boğum sayısı, sap sayısı, yaprakçık sayısı ve kök sayısı bakımından önemli çıkmıştır (Çizelge 4.1, 4.3, 4.5, 4.9 ve 4.11). Genellikle incelenen bu özelliklerde EMS'nin 0-100 dozuna kadar artış varken, doz arttıkça azalma gözlenmiştir. Bunun nedeninin çeşitlerin dozlara karşı tepkilerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim Khan ve Goyal (2009), fasulyede yaptıkları çalışmada çeşitlere bağlı olarak uygulanan EMS dozlarının etkilerinin farklı olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmamızda da bitki boyu ve kök sayısı bakımından çeşitlerin tepkisi uygulama süresine göre değişkenlik göstermiştir. Kumar ve Kumar Rai (2007), tarafından farklı mısır hatlarında yapılan çalışmada fazla sürede EMS uygulamasının bitki boyu bakımından bazı bitkilerde hafif artışa neden olduğu, genellikle birçok çeşitte olumsuz etki yaptığı ortaya konulmuştur.

Yapılan araştırmalarda EMS dozu ve uygulama sürelerinin etkileşimi sonucunda artan doz ve sürelerde *in vitro*da bitkicik gelişiminde gerilemeler gözlenmiştir. Araştırmada, doz ve uygulama süreleri incelenen tüm özellikleri etkileme bakımından önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1, 4.3, 4.5, 4.7, 4.9 ve 4.11). Muzda (Bhagwat ve Duncan, 1998), biberde (Jabeen ve Mirza, 2002) ve ayçiçeğinde (Sabetta vd., 2011) yapılan araştırmalarda bitki gelişimi bakımından incelenen karakterlerde artan doz ve sürelerle birlikte önemli derecede azalmalar gözlenmiş,

araştırmamızda da elde edilen gözlemler yapılan çalışmaların sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.

Rejenerasyon ortamında 4-5 cm boya ulaşan bitkiciklerin toprak ve torf (1:1) bulunan saksılara şaşırtılarak dış koşullara uyumu sağlanmış ve daha sonra hasat zamanında morfolojik gözlemlerin yapılması için dış ortama aktarımları yapılmış, ancak yaklaşık 1 hafta sonra bitkiler canlılıklarını yitirmişlerdir. Bunun nedeninin, bitkilerin epidermislerinde bulunan kutikula tabakası ve stomaların tam olarak gelişemediği, görevini yapamadığı ve bitkiler heteretrof olduklarından (Onay, vd., 2012) dolayı, dış ortamda fazla su kaybettiği ve bu koşullara uyum sağlayamayıp öldüğü düşünülmektedir.

Tarla koşullarında çeşitler arasında bitki gelişimi sap sayısı, ocak başına orta boy yumru sayısı ve verimi hariç incelenen morfolojik özellikler bakımından farklı bulunmuştur (Çizelge 4.17, 4.21, 4.25, 4.27, 4.29, 4.33 ve 4.35). Bu farklılıkların çeşitlerin genetik özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim Bhat vd. (2011), nohutta yaptıkları çalışmalarda çeşitlere bağlı olarak uygulanan EMS dozlarının etkilerinin farklı olduğunu tespit etmişlerdir.

Üç farklı patates çeşidinin yumru gözlerine uygulanan EMS dozları, bitki boyu ve sap sayısı hariç diğer tüm incelenen özellikleri önemli seviyede etkilemiştir. EMS'nin yüksek dozu (% 0.6), bitki boyunda (Çizelge 4.17) artışa sebep olmuştur. Maş fasüyesin'de EMS'nin etkilerinin incelendiği bir araştırmada % 0.4 ve 0.6 EMS dozlarında bitki boyunda artışlar meydana gelmekle birlikte (Roychowdhury vd., 2012), çalışmamızla da paralellik göstermektedir. EMS uygulanan yumru gözlerinden elde edilen bitkilerin ocak başına yumru sayıları ve verimi EMS'nin yüksek dozlarından etkilenmiş ve genellikle doz arttıkça yumru sayıları ve verimlerinde azalmalar meydana gelmiştir. Bu değişimin EMS'nin enzim aktivitesini değiştirerek (Kurobane vd., 1979) büyüme ve gelişmeyi engellemesinden, (Skoog, 1935; Girija ve Dhanavel, 2009) kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yumru gözlerine farklı EMS dozları ve uygulama süreleri bitki boyu ve ocak başına orta yumru verimini etkilemiş olup, süre uzadıkça bitki boyu artarken (Çizelge 4.17), ocak başına orta yumru verimi azalmıştır (Çizelge 4.31). Jabeen ve Mirza (2002) tarafından biberde farklı doz ve sürelerde EMS'nin etkilerinin incelendiği çalışmada, süre ve doz arttıkça bitki boyunda artışlar meydana geldiği bildirilmiştir.

Çeşit ve EMS dozlarının birlikte etkisi bitki boyu, ocak başına büyük yumru sayısı ve verimi, ocak başına küçük yumru verimi ve toplam verimi önemli seviyede etkilemiştir. Agria ve Marfona çeşitlerinde bitki boyu bakımından aralarında farklılık olmamakla birlikte, doz arttıkça stabil olmayan artmalar ve azalmalar meydana gelmiştir.

Patateste yapılan bir çalışmada, çeşitlere göre değişmekle birlikte farklı EMS dozlarının yumru sayısı, büyüklüğü ve verimini etkilediği, genel olarak EMS uygulamalarının kontrol bitkilerine göre bahsedilen özellikleri olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (Afrasiab, 2006)

Yapılan araştırmalarda EMS dozu ve uygulama sürelerinin etkileşimi sonucunda artan doz ve sürelerin tarla koşullarında bitki boyunu arttırdığı gözlenmiştir. (Çizelge 4.17). Ancak, araştırma sonuçlarımızın aksine biberde (Jabeen ve Mirza, 2002) ve ayçiçeğinde (Sabetta vd., 2011) yapılan araştırmalarda bitki gelişimi bakımından incelenen karakterlerde artan doz ve sürelerle birlikte önemli derecede azalmalar belirlenmiştir.

Yumru gözlerine EMS uygulamalarında çeşitlere göre tüm klonlarda incelenen morfolojik özellikler bakımından varyasyonlar tespit edilmiştir. *In vivo* sistemde meristematik dokulara uygulanan mutagenlerin işleme gücü zayıf olduğundan dolayı vejetatif olarak üretilen bitkilerde etkinliğinin düşük olduğu bu nedenle çalışmamızda varyasyonların yüksek oranda meydana geldiği düşünülmektedir. Nitekim, dormant gözler kimyasal solusyonlarla muamele edildiğinde, mutagenin

tomurcuk meristemine ulaşamadığı Rathjen ve Robinson (1992) tarafından bildirilmiştir.

Ocak başına toplam yumru verimi Agria çeşidinde % 0.2 + daldırmada elde edilmiş ve klonların çoğunluğu normal değerler göstermiştir. Marfona çeşidinde ise EMS uygulamaları toplam yumru verimini düşürmüş, en yüksek verim % 0.6 + daldırma uygulamasından elde edilmiş ve tüm klonlarda normal değer çok altında toplam yumru verimi belirlenmiştir. Lady Olimpia çeşidinde 6 klon normal değer çok üzerinde yumru verimini oluşturmuş; % 0.6 daldırma, % 0.2 ve 0.4 + 3 saat uygulamaları toplam yumru veriminde artışa neden olmuştur.

Araştırmada, farklı eksplantlara farklı doz ve sürelerde EMS uygulaması sonucu oluşan bitki ve bitkiciklerin DNA düzeyinde varyasyonunu belirlemek için ISSR yöntemi kullanılmıştır.

ISSR yöntemi DNA çalışmalarında etkili bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Bu metot özellikle mutasyon ıslahında bitkilerde gizlenen varyasyonu belirlemede güvenilir ve hızlı sonuca ulaşılan araçlardan birisidir (Shufang vd., 2010).

Araştırmada patates çeşitlerine ait sürgün uçlarına ve yumru gözlerine EMS uygulamalarının etkisi moleküler düzeyde incelendiğinde; sırasıyla genetik benzerlik oranları % 31-95 ve % 33-94 arasında değişmiştir. Marfona çeşidinde yumru gözlerine tüm EMS uygulamalarının kontrol grubuyla benzerlik oranları düşük olmuş (%39-72) (Çizelge 4.43) ve bu uygulamalar farklı grupta yer almıştır (Şekil 4.90)

Hem sürgün uçlarına hem de yumru gözlerine EMS uygulamalarında moleküler analiz sonucu değerlendirmelerine göre; ortak bir ataya sahip olan çeşitlerin aynı grupta yer aldığı bunun aksine bazılarının da farklı grupları oluşturduğu gözlenmiştir. Ortak atayı paylaşan Agria ve Lady Olimpia çeşitlerinin aynı grupta yer alması beklenen bir sonuçtur. Fakat, aynı çeşitlerin farklı gruplarda ve aynı orijinli farklı

çeşitlerin de aynı grupta yer alması farklı doz ve sürelerde EMS uygulamalarının bir sonucu olarak görülebilir.

Dış koşullarda aynı çeşitlerde, aynı doz ve sürelerde EMS uygulanan bitkilerde incelenen morfolojik gözlemler ve moleküler analiz sonuçlarında varyasyonun ortaya çıkmasında yumru gözlerinin bir klon olarak varsayıldığı düşünülebilir. Bu konuda Shufang vd. (2010), *Gladiolus hybridus* Hort. bitkisinde EMS'nin etkilerini inceledikleri araştırmalarında hem fikir olmuşlardır.

In vitro ve dış şartlarda, bitkicik ve bitki gelişiminin uygulanan EMS dozları ve sürelerinden etkilendiği, yapılan DNA analizlerine göre her iki koşulda da EMS dozları ve uygulama sürelerinin belirli ölçülerde varyasyona sebep olduğu, bu varyasyonun çeşitler bazında farklılık gösterdiği belirtilmiştir. *In vitro* şartlarında EMS uygulanan sürgün uçlarında çeşitler bazında kontrol gruplarına en düşük benzerlik oranları Agria'da 200 mM EMS + 60 dk (% 42), Marfona'da 200 ve 300 mM EMS + 60 dk (% 75) ve Lady Olimpia çeşidinde ise 100 mM EMS + 90 dk (% 75) uygulamalarında belirlenmiştir. Yumru gözlerine EMS uygulamalarında kontrol gruplarına en düşük benzerlik oranı, Agria'da % 0.4 EMS + 3 saat (% 50), Marfona'da % 0.2 ve 0.4 EMS + daldırma (% 39) ve Lady Olimpia çeşidinde ise % 0.2 EMS + daldırma (% 47) uygulamalarında tespit edilmiştir.

Tarla koşullarında çeşitler içinde incelenen morfolojik gözlemler bakımından çok fazla varyasyon meydana gelmiştir. Bilindiği üzere aynı türe ait bitkiler arasında az çok farklar mevcuttur. Bu nedenle, bir populasyon içerisinde birbirine tamamiyle benzeyen iki bitkiyi bulmak mümkün değildir. Bitki türleri içerisinde varyasyon çevresel faktörler, genetik faktörler ya da iki faktörün birbirleriyle etkileşimi sonucu meydana gelmektedir. Genetik yapıdan ve çevre koşullarından ileri gelen varyasyonları birbirinden ayırmak imkansızdır. Çünkü bu faktörlerin etkileri iç içedir. Basit karakterlerde varyasyonların genetik yapıdan yada çevre faktöründen kaynaklandığını tespit etmek kolay olduğu halde verim, bitki boyu gibi kantitatif karakterler yönünden zordur (Tosun ve Sağsöz, 2003). Araştırmada EMS

uygulamalarının etkileri moleküler düzeyde incelendiğinde ise Agria çeşidinde % 0.4 ve 0.6 EMS + 3 saat uygulama, Marfona'da tüm uygulamalar ve Lady Olimpia çeşidinde ise % 0.6 + daldırma uygulaması dışındaki tüm uygulamalar kontrollerinden farklı gruplarda yer almıştır (Şekil 4.90). Moleküler düzeyde kontrolden farklı olarak uygulamalar tespit edilse de incelenen morfolojik özellikler bakımından çeşitlerin klonları arasında normal değerlerin de mevcut olduğu gözlenmiştir. Bu durum, EMS'nin etkisi sonucunda genlerde özelliğin kendisini tam olarak ifade edemediği şeklinde açıklanabilir. Nitekim kimyasal mutagenler genelde fenotipik olarak kolaylıkla ayırt edilemeyen mikro mutasyonlara neden olmakta ve bu tip mutasyonlar daha çok kantitatif karakterler (verim ve kalite gibi) için etkili olmaktadır. Kalitatif karakterleri idare eden genlerdeki mutasyonlar kolaylıkla belirlenirken, kantitatif karakterleri idare eden genlerdeki mutasyonlar ise zor test edilmektedir. Çünkü, kantitatif karakterler üzerine çok gen etkili olmakta ve ancak bu genlerin çoğunda mutasyon olursa etkisi görülebilmektedir (Baydar, 2002). Araştırmada, moleküler düzeyde EMS uygulamaları kontrol grupları ile aynı grupta yer almasına karşın incelenen özellikler yönünden meydana gelen farklılığın, kantitatif karakterlerin çevreden kaynaklı faktörlerden etkilendiğinin bir sonucu olarak düşünülmektedir.

Sonuç olarak, *in vitro* ve tarla koşullarında gerek sürgün uçlarına gerekse yumru gözlerine EMS uygulamalarının mutasyon oluşturduğu, *in vitro*da 100 mM EMS dozu ve 30 dk EMS süresinin olumlu etkide bulunduğu, dış koşullarda ise genellikle EMS uygulamalarının bitki gelişimini olumsuz etkilediği, çeşitlerin EMS uygulamalarına tepkilerinin farklı olduğu tespit edilmiş ve patatesta mutasyon oluşturmada farklı doz ve sürelerde EMS'nin kullanılabileceği belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Afrasiab, H., 2006. Biochemical and Molecular Markers of Somaclonal Variants and Induced Mutants of Potato (*Solanum tuberosum* L.). Department of Botany University of the Punjab Lahore, Ph.D Thesis, pp.281, Pakistan.
- Albani, M.C., Wilkinson, M.J., 1998. Inter Simple Sequence Repeat Polymerase Chain Reaction for the Detection of Somaclonal Variation. *Plant Breeding*, 117, 573-575.
- Alphonse, M., Badawi, M.A., Eldin, T.M.N., Elfar, M.M., 1999. Morphological, Cytological and Biochemical Variations of Regenerated Potato Cultivars from Various Types of *In Vitro* Cultures. *Egypt. Journal of Horticulture*, 26(3), 303-322.
- Altındal, D., 2005. Patateste (*Solanum tuberosum* L.) *İn vitro* Şartlarında Değişik Sakkaroz ve Maltoz Konsantrasyonlarının Mikro Yumru Oluşumu Üzerine Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 38 sayfa, Isparta.
- Anonim, 2014a. Ülkemizde Tescilli Çeşitler. Erişim tarihi: 29.05.2014. <http://www.patates.gov.tr/articles.php?lng=tr&pg=28>.
- Anonim, 2014b. Lady Olimpia. Erişim Tarihi: 29.05.2014. <http://www.anka-meijer.com/tr/%C3%87e%C5%9Fitlerimizden-/Parmak-Patates/Lady-Olympia.html>.
- Anonymous 2014a. Ethyl Methanesulfonate. Erişim Tarihi: 29.05.2014. (http://en.wikipedia.org/wiki/Ethyl_methanesulfonate).
- Anonymous, 2014b. The European Cultivated Potato Database. Erişim tarihi: 29.05.2014.http://www.europotato.org/display_description.php?variety_name=agria
- Anonymous, 2014c. The European Cultivated Potato Database. Erişim tarihi: 29.05.2014.http://www.europotato.org/display_description.php?variety_name=MARFONA.
- Anonymous, 2014d. The European Cultivated Potato Database. Erişim tarihi: 29.05.2014.http://www.europotato.org/display_description.php?variety_name=Lady%20Olympia.
- Arihara, A., Kita, T., Igarashi, S., Goto, M., Irikura, Y., 1995. White Baron: A Non-Browning Somaclonal Variant of Danshakuimo (Irish cobbler). *American Journal of Potato Research*, 72, 701-705.

- Avery, N.C., Jain, G.S., 1996. Influence of Uranyl Nitrate on Seed Germination and Early Seedling Growth of *Vigna radiata* L. Wilczek. *Binotes*, 15(2), 79-83.
- Badoni, A., Chauhan, J.S., 2010. Conventional *vis-a-vis* Biotechnological Methods of Propagation in Potato: A Review. *Stem Cell*, 1(1), 1-6.
- Balık, D.T., Akat, A., 2012. Mutasyonlar. Karataş, M. (Ed.), *Moleküler Biyoloji İçinde* (102-116). Nobel Akademik Yayıncılık, 445s, Ankara.
- Baydar, H., 2002. Genetik. Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları, Ziraat Fakültesi, 155s, Isparta.
- Behnke, M., 1980. General Resistant to Late Blight of *Solanum tuberosum* Plants Regenerated from Callus Resistant to Culture Filtrates of *Phytophthora infestans*. *Theoretical and Applied Genetics*, 56, 151-152.
- Berljak, J., 1991. Variation in Plants Regenerated from Potato Somatic Cells. *Acta Horticulturae* (ISHS), 289, 217-218.
- Bhagwat, B., Duncan, E.J., 1998. Mutation Breeding of Banana cv. Highgate (*Musa* spp., AAA Group) for Tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* using Chemical Mutagens. *Scientia Horticulturae*, 73, 11-22.
- Bhat, M-U-D., Khan, S., Kozgar, M.I., 2011. Studies on Induced Mutations in Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) I. Responses of the Mutagenic Treatments in M₁ Biological Parameters. *Electronic Journal of Plant Breeding*, 2(3), 422-424.
- Bidabadi, S.S., Meon, S., Wahab, Z., Subramaniam, S., Mahmood, M., 2012. Induced Mutations for Enhancing Variability of Banana (*Musa* spp.) Shoot Tip Cultures using Ethyl Methanesulphonate (EMS). *Australian Journal of Crop Science*, 6(3), 391-401.
- Bordallo, P.N., Silva, D.H., Maria, J., Cruz, C.D., Fontes, E.P., 2004. Somaclonal Variation in *In Vitro* Callus Cultures of Potato Cultivars. *Horticultura Brasileira*, 22(2), 34-44.
- Bürün, B., 2002. Somaklonal Varyasyon. Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S. (Ed.), *Bitki Biyoteknolojisi. Doku Kültürü ve Uygulamaları İçinde* (345-367) Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374s. Konya.
- Cassells, A.C., Deadman, M.L., Brown, C.A., Griffin, E., 1991. Field Resistance to Late Blight (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) in Potato (*Solanum tuberosum* L.) Somaclones Associated with Instability and Pleiotropic Effects. *Euphytica*, 56, 75-80.

- Cvejić S., Afza R., Jocić, S., Prodanović S., Miklić, V., Škorić, D., Dragin, S., 2011. Radiosensitivity of Sunflower Inbred Lines to Mutagenesis. *HELIA*, 34(54), 99-106.
- De Klerk, G.J., 1990. How to Measure Somaclonal Variation. *Acta Botanica Neerlandica*, 39(2), 129-144.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., 1987. A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15.
- Duron, M., 1992. Induced Mutations through EMS Treatment After Adventitious Bud Formation on Shoot Internodes of Weigela cv. Bristol ruby, *Acta Horticulture*, 320, 113-118.
- Ehsanpour, A.A., Madani, S., Hoseini, M., 2007. Detection of Somaclonal Variation in Potato Callus Induced by UV-C Radiation using RAPD-PCR. *General and Applied Plant Physiology*, 33, 3-11.
- Er, C., Uranbey, S., 1998. Nişasta ve Şeker Bitkileri. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın no 1504, 334 s., Ankara.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2014. Erişim Tarihi: 29.05.2014. <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E>.
- George E.F., 1993. Plant Propagation by Tissue Culture. Part 1, The technology, Exegetics Ltd., England.
- Girija, M., Dhanavel, D., 2009. Mutagenic Effectiveness and Efficiency of Gamma Rays Ethyl Methane Sulphonate and Their Combined Treatments in Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Global Journal of Molecular Sciences*, 4(2), 68-75.
- Gong, S., Fu, H., Wang, J., 2010. ISSR Analysis of M₁ Generation of *Gladiolus hybridus* Hort. Treated by EMS. *Journal of Northeast Agricultural University*, 17(2), 22-26.
- Greene, E.A., Codomo, C.A., Taylor, N.E., Henikoff, J.G., Till, B.J., 2003. Spectrum of Chemically Induced Mutations from a Large-Scale Reverse-Genetic Screen in Arabidopsis. *Genetics*, 164, 731-740
- Gunn, R.E., Shepard, J.F., 1981. Regeneration of Plants from Mesophyll-Derived Protoplasts of British Potato (*Solanum tuberosum* L.) Cultivars. *Plant Science Letters*, 22, 97-101.

- Hadi, M.Z., Bridgen, M.P., 1996. Somaclonal Variations as a Tool to Develop Pest Resistant Plants of *Torenia fournieri* Compacta Blue. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 46, 43-50.
- Hartman, C., Knous, T., McCoy, T., 1984. Field Testing and Preliminary Progeny Evaluation of Alfalfa Regenerated from Cell Lines Resistant to Toxins Produced by *fusarium oxysporum* sp. *Medicaginis*. *Phytopathology*, 74, 818.
- Jabeen, N., Mirza, B., 2002. Ethyl Methane Sulphonate Enhances Genetic Variability in *Capsicum annuum*. *Asian Journal of Plant Science*, 1(4), 425-428.
- Jain, S.S., Ahloowalia, B.S., Veilleux, R.E., 1998. Somaclonal Variation in Crop Improvement. In: *Somaclonal Variation and Induced Mutations in Crop Improvement*. (Eds. Jain, M.S., Brar, D.S. and Ahloowalia, B.S.). Kluwer Academic Publishers, London, 203-217.
- Jelenic, S., Berljak, J., Drazena, P., Jelaska, S., 2001. Mixploidy and Chimeric Structures in Somaclones of Potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Bintje. *Food Technology and Biotechnology*, 39, 13-17.
- Kaeppler, S.M., Kaeppler, H.F., Rhee, Y., 2000. Epigenetic Aspects of Somaclonal Variation in Plants. *Plant Molecular Biology*, 43, 179-188.
- Karadoğan, T., Özer, H., 1997. Patatesin Besin Değeri ve İnsan Beslenmesi Yönünden Önemi. *Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28, 306-317.
- Karp, A., 1990. On the Current Understanding of Somaclonal Variation, *Oxford Survey of Plant. Molecular and Cell Biology*, 7, 1-58.
- Karp, A., 1994. Origins, Causes and Uses of Variation in Plant Tissue Cultures. In: Vasil IK Thorpe TA (eds), *Plant Cell and Tissue Culture*, pp. 139-151, Kluwer Academic Publishers Dordrecht, The Netherlands.
- Karthika, R., Subba Lakshmi, B., 2006. Induced Genetic Variability for Quantitative Traits in M₂ Soybean Population. *Plant Archives*, 6(1), 325-327.
- Kavithamani, D., Kalamani, A., Vanniarajan, C., Uma, D., 2008. Mutagenic Effectiveness and Efficiency of Gamma Rays and EMS in Soybean (*Glycine max*. (L.) Merrill). *Madras Agricultural Journal*, 95(7-12), 448-451.
- Kavithamani, D., Kalamani, A., Vanniarajan, C., Uma, D., 2010. Development of New Vegetable Soybean (*Glycine max* L. Merrill) Mutants with High Protein and Less Fibre Content. *Electronic Journal of Plant Breeding*, 1(4), 1060-1065.
- Khan, M.H., Tyagi, S.D., 2010. Studies on Effectiveness and Efficiency of Gamma Rays, EMS and their Combination in Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill.]. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 2(3), 055-058.

- Khan, S., Goyal, S., 2009. Improvement of Mungbean Varieties Through Induced Mutations. *African Journal of Plant Science*, 3(8), 174-180.
- Kumar, G., Kumar Rai, P., 2007. EMS Induced Karyomorphological Variations in Maize (*Zea mays* L.) Inbreds. TUBİTAK, *Turkish Journal of Biology*, 31, 187-195.
- Kumar, G., Singh, K.K., 2004. Mutagenic Potential of EMS and Sodium Azide in Narendra Mung-1. *Journal of Phytological Research*, 17, 21-24.
- Kurobane, T.H., Yanaguchi, H.Y., Sander C., Nilan R.A., 1979. The Effects of Gamma Irradiation on the Production and Secretion of Enzymes and Enzymatic Activities in Barley. *Environmental and Experimental Botany*, 19, 75-84.
- Landsmann, J., Uhrig, H., 1985. Somaclonal Variation in *Solanum tuberosum* Detected at the Molecular Level. *Theoretical and Applied Genetics*, 71, 500-505.
- Larkin, P.J., Scowcroft, W., 1983. Somaclonal Variation and Eyespot Toxin Tolerance in Sugarcane. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2, 11-121.
- Lee, M. Phillips, R.L., 1988. The Chromosomal Basis of Somaclonal Variation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 39, 413-437.
- Lestari, E.G., 2012. Combination of Somaclonal Variation and Mutagenesis for Crop Improvement. *Journal AgroBiogen*, 8(1), 38-44.
- Lewis-Smith, A.C., Chamberlain M., Smith S.M., 1990. Genetic and Chromosomal Variation in *Petunia hybrida* Plants Regenerated from Protoplast and Callus Cultures. *Biologia Plantarum*. 32 (4): 247-255.
- Luan, Y-S., Zhang, J., Gao, X-R., An, L-J., 2007. Mutation Induced by Ethylmethanesulphonate (EMS), *In Vitro* Screening for Salt Tolerance and Plant Regeneration of Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 88, 77-81.
- Maraschin, M., Sugui, J.A., Wood, K.V., Bonham, C., Buchi, D.F., Cantao, M.P., Carrobrez, S.G., Araujo, P.S., Peixoto, M.L., Verpoorte, R., Fontana, J.D., 2002. Somaclonal Variation: A Morphogenetic and Biochemical Analysis of *Mandevilla velutina* Cultured Cells. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* Ribeirao Preto, 35, 633-643.
- Marotti, I., Alessndra, B., Mineli, M., Catizone, P., Dineli, G., 2007. Characterization of Some Italian Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces by RAPD, Semi-Random and ISSR Molecular Markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54, 175-188.

- McCoy, T.J., Phillips, R.L., Rines, H.W., 1979. Comparative Cytogenetics of Regenerated Plants from Maize and Oat Tissue Cultures. *Agronomy Abstracts*, 68p.
- Minocha, J.L., Arnason, T.J., 1962. Mutagenic Effectiveness of Ethyl Methane Sulphonate in Barley. *Nature*, 196, 499.
- Misra, N., Mehrotra, S., 2006. Effect of Mutagens on Production of Secondary Metabolites in Callus Culture of Indian Sarsaparilla (*Hemidesmus indicus*). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 47(1), 23-27.
- Murashige T., Skoog F., 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
- Nicolle, H., Rajiv, R., Randall, N., Schuyler, K., 2003. Response of Embryogenic Cultures of Soybean to Chemical Mutagenesis. *Plant Breeding*, 32, 23-27.
- Okagaki, R.J., Neuffer, M.G., Wessler, S.R., 1991. A Deletion Common to Two Independently Derived Waxy Mutations of Maize. *Genetics*, 127, 425-431.
- Onay, A., Yıldırım, H., Piriç, V., Tilkat, E., Çiftçi, Y.Ö., Akdemir, H., Süzer, V., Çalar, N., Binici, M., Akdemir, Ö.F., Kılıç, F.M., 2012. Bitkilerin Biyoteknolojik Yöntemlerle Ticari Çoğaltımı; Mevcut ve Gelecekteki Durum. *Batman Üniversitesi, Yaşam Bilimleri Dergisi*, 1(2), 11-28.
- Osipova, E.S., Koveza, O.V., Troitskij, A.V., 2003. Analysis of Specific RAPD and ISSR Fragments in Maize (*Zea mays* L.) and Development of SCAR Markers on Their Basis. *Russian Journal of Genetics*, 39 (12), 1412-1419.
- Pasqualone, A., Lotti C., Bruno A., De Vita P., Di Fonzo N., Blanco A., 2000. Use of ISSR Markers for Cultivar Identification in Durum Wheat. In : Royo C. (ed.), Nachit M. (ed.), Di Fonzo N. (ed.), Araus. J. L. (ed.). *Durum wheat improvement in the Mediterranean region: New challenges*. Zaragoza: CIHEAM, 157 -161
- Pharmawati, M., Guijun Yan, G., Patrick M. Finnegan, P. M., 2005. Molecular Variation and Fingerprinting of Leucadendron Cultivars (*Proteaceae*) by ISSR Markers. *Annals of Botany*, 95, 1163–1170.
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., Rafalski, A., 1996. The Comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR Markers for Germplasm Analysis. *Molecular Breeding*, 2, 225-238.
- Ramachandra, K.M., Srinivasappa, K.N., Farooqi, A.A., 2008. Mutagenic Effect of Ethyl Methane Sulphonate on Growth, Yield and Composition of Oil in Patchouli (*Pogostemon patchouli* Pellet.). *Biomed*, 2(4), 341-344.

- Rao, I.M., Roca, W.M., Ayarza, M.A., Tabares, E., Garcia, R., 1992. Somaclonal Variation in Plant Adaptation to Acid Soil in the Tropical Forage Legume *Stylosanthes guianensis*. *Plant and Soil*, 146, 21-30.
- Rathjen, H., Robinson, P.S., 1992. Characterisation of a Variegated Grapevine Mutant Showing Reduced Polyphenol Oxidase Activity. *Australian Journal Plant Physiology*, 19 (1), 4 3-54.
- Rietveld, , R.C., Bressan, R.A., Hasegawa, P.M., 1993. Somaclonal Variation in Tuber Disc-derived Populations of Potato. II. Differential Effect of Genotype. *Theoretical and Applied Genetics*, 87, 305-313.
- Rines, H., Luke, H., 1985. Selection and Regeneration of Toxin Insensitive Plants from Tissue Cultures of Oats (*Avena sativa*) Suscebtible to *Helminthosporium victoriae*. *Theoretical and Applied Genetics*, 71, 16-21.
- Rodríguez, N.V., Kowalski, B., Rodríguez, L.G., Caraballoso, I.B., Suárez, M.A., Pérez, P.O., Quintana, C.R., González, N., Ramos, R.Q., 2007. In Vitro and Ex Vitro Selection of Potato Plantlets for Resistance to Early Blight. *Journal of Phytopathology*, 155, 582–586.
- Rohlf, F. J., 1991. NTSYS-pc, Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Exeter Software, Setauket, NY.
- Roychowdhury, R., Tah, J., 2011. Mutation Breeding in *Dianthus caryophyllus* for Economic Traits. *Electronic Journal of Plant Breeding*, 2(2), 282-286.
- Roychowdhury, R., Datta, S., Gupta, P., Tah, j., 2012. Analysis of Genetic Parameters on Mutant Populations of Mungbean (*Vigna radiata* L.) After Ethyl Methane Sulphonate Treatment. *Notulae Scientia Biologicae*, 4(1), 137-143.
- Ryan, S.A., Larkin, P.J., Ellison, F.W., 1987. Somaklonal Variation in Some Agronomic and Quality Characters in Wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 74, 77-82.
- Sabetta, W., Alba, V., Blanco, A., Montemurro, C., 2011. sunTILL: A Tilling Resource for Gene Function Analysis in Sunflower. *Plant Methods*, 7, 20.
- Saunders, J.W., Acquaah, G., Renner, K.A., Doley, W.P., 1992. Monogenic Dominant Sulfonylurea Resistance in Sugarbeet from Somatic Cell Selection. *Crop Science*, 32, 1357-1360.
- Semal, J., Lepoivre, P., 1990. Application of Tissue Culture Variability to Crop Improvement In: Bhojwoni, S.S. (ed), *Plant Tissue Culture: Applications and Limitations, Developments in Crop Science*, 19, 301-315, The Netherlands.

- Sharma, S., Bryan, G., Winfield, M., Millam, S., 2007. Stability of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Plants Regenerated via Somatic Embryos, Axillary Bud Proliferated Shoots, Microtubers and True Potato Seeds: A Comparative Phenotypic, Cytogenetic and Molecular Assessment. *Planta*, 226, 1449–1458.
- Shufang, G., Huijuan, F.U., Jingang, W., 2010. ISSR Analysis of M₁ Generation of *Gladiolus hybridus* Hort Treated by EMS. *Journal of Northeast Agricultural University*, 17(2), 22-26.
- Singh, B.D., Harvey, B.L., 1975. Cytogenetic Studies on *Haplopappus gracilis* Cells Cultured on Agar and Liquid Media. *Cytologia*, 40, 347-354.
- Skoog, F., 1935. The Effect of X-Irradiation on Auxin and Plant Growth. *Journal of Cellular and Comparative Physiology*, 7, 227-270.
- Soroka, A., Lyakh, V., 2009. Genetic Variability in Sunflower After Mutagen Treatment of Immature Embryos of Different Ages. *HELIA*, 32(51), 33-46.
- Sparrow, A.H., 1961. In: *Mutation and Plant Breeding*. National Academy of Sciences, National Research Council Publ. Washington D.C., 892, 55-119.
- Svetleva, D.L, Crino, P., 2005. Effect of Ethyl Methane Sulfonate (EMS) and N-Nitrose- $\bar{N}$ -Ethyl Urea (ENU) on Callus Growth of Common Bean. *Journal of Central European Agriculture*, 6(1), 59-64.
- Taylor, R.J., Secor, G.A., Ruby, C.L., Orr, P.H., 1993. Tuber Yield, Soft Roy Resistance, Bruising Resistance and Processing Quality in a Population (cv. Crystal) Somaclones. *American Potato Journal*, 70, 117-130.
- Thieme, R., Griess, H., 1996. Somaclonal Variation of Haulm Growth, Earliness, and Yield in Potato. *Potato Research*, 39(3), 355-365.
- Thieme, R., Griess, H., 2005. Somaclonal Variation in Tuber Traits of Potato. *Potato Research*, 48, 153–165.
- Thilagavathi, C., Mullainathan, L., 2009. Isolation of Macro Mutants and Mutagenic Effectiveness, Efficiency in Black Gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper). *Global Journal of Molecular Sciences*, 4(2), 76-79.
- Tosun, F., Sağsöz, S., 2003. Bitki Islahı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları, 163s, Erzurum.
- Uranbey, S., 2010. *In Vitro* Bulblet Regeneration from Immature Embryos of *Muscari azureum*. *African Journal of Biotechnology* 9(32), 5121-5125.
- Van Den Bulk, R.W., 1991. Application of Cell and Tissue Culture and In Vitro Selection for Disease Resistance Breeding-a Review. *Euphytica*, 56, 269- 285.

- Van Harten, A.M., Bouter, H., Broertjes, C., 1981. In Vitro Adventitious Bud Techniques for Vegetative Propagation and Mutation Breeding of Potato (*Solanum tuberosum* L.). II. Significance for Mutation Breeding. *Euphytica*, 30, 1-8.
- Van Harten, A.M., 1998. Mutation Breeding Theory and Practical Applications. Cambridge University (Press Cambridge United Kingdom), 127-140.
- Vogel, E.W., Natarajan, A.T., 1995. DNA Damage and Repair in Somatic and Germ Cells In Vivo. *Mutation Research*, 330, 183-208.
- Wakui, K., Hiroyoshi, W., Takahashi, Y., Takahashi, Y., Fujigaki, J., 2009. Assessment of the Congruity of Genetic Relationships and Variation Revealed by Individual- and Bulk-Samples-Based Approaches Using RAPD and ISSR Markers in Japanese turnip (*Brassica rapa* ssp. *rapa*) Cultivars. *Breeding Science*, 59, 447-452.
- Wang, J., Guo, Y., Che, D., Liu, S., Yang, C., 2009. RAPD Analysis of M₁ Generation of *Gladiolus hybridus* Hort. Treated by EMS. *Journal of Northeast Agricultural University*, 16(1), 5-9.
- Wendt, S.N., Peters, J.A., Oliveira, A.C., Bobrowski, V.L., Costa, F.L.C., Madruga, C.S., Vighi, I.I., Madruga, C., de-Oliveira, A.C., da-Costa, F.L.C., 2001. Plant Regeneration and Molecular Characterization of Potato Cultivar Macaca, Obtained from Gamma-Irradiated Explants. *Journal of New Seeds*, 3(2), 17-37.
- Yıldırım, Z., 2002. Patateste Somaklonal Varyasyon Üzerinde Bir Araştırma. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 39(1), 33-40.
- Yıldırım, Z., Tugay, E., Yıldırım, M.B., 2003. Somaclonal Variation in Potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Turkish Journal of Field Crops*, 8(1), 33-38.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, J.A., Labuda, D., 1994. Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics*, 20, 176-183.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nüket ALTINDAL

Doğum Yeri ve Yılı: Dalaman-Köyceğiz/MUĞLA, 1976

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : nuketaltindal@gmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Dalaman Lisesi, 1993

Lisans : Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, 1999

Yüksek Lisans : Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, 2005

Mesleki Deneyim

S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü (Araştırma Görevlisi) 2006-2013

Uşak Üniversitesi Sivaslı MYO (Öğretim Görevlisi) 2013-.....(halen)

Yayınları (SCI ve diğer makaleler)

Hakemli dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makale

Altındal, N., Karadoğan, T. 2008. Patates Yumrularında Görülen Fizyolojik Anormallikler. DERİM. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 25 (1), 12-25.

Ulusal toplantıda sunularak tam metin olarak yayımlanan bildiri

Akgün, İ., Altındal, N., 2007. Çavdarda (*Secale cereale* L.) Karbon Kaynağı, Soğuk Uygulaması Ve Genotipin Anter Kültürü Üzerine Etkisi. Türkiye VII. Tarla Bitkileri Kongresi, 25-27 Haziran 2007, Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü. ERZURUM.

Akgün, İ., Altındal, N., Karadoğan, T., 2007. Korungada (*Onobrychis sativa* Lam. ve *Onobrychis* ssp.) Tohum Çimlenmesi Üzerine GA₃ Ve KNO₃ Uygulamalarının Etkisi Türkiye VII. Tarla Bitkileri Kongresi, 25-27 Haziran 2007, Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü. ERZURUM.

Altındal, D., Altındal N., 2010. Patates (*Solanum tuberosum* L.) Yetiştiriciliğinde Atık Mantar Kompostunun (AMK) Kullanım Olanakları.VIII. Sebze Tarımı Sempozyumu, 23-26 Haziran 2010, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü. VAN. Sayfa 46.

Uluslararası toplantıda sunularak tam metin olarak yayımlanan bildiri

Unlu, H., Altındal, N., Ozdamar Unlu, H., Altındal, D., Padem, H., 2009. Effect of Salicylic Acid on Salinity Stress in Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). International Symposium on Sustainable Development, June 9-10 2009, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, Proceedings Additional Volume, 62-66.

SCI, SSCI ve AHCI tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makale

Karadoğan, T., Akgün, İ., Altındal, N. 2009. Effect of Removal on Sunflower Yield and Yield Components and Some Quality Characters. Turkish Journal of Field Crops. 14 (2), 45-54.

Akgün, İ., Altındal, N., 2010. Relationships among Aneuploidy, Germination Rate and Seed Shrivelling in 6x-triticales. Turkish Journal of Field Crops, 15(1), 25-28.

Altındal, D., Altındal, N., 2011. The effects of sage volatile oil (*Salvia officinalis*) and Turkish oregano volatile oil (*Origanum onites*) on stored cowpea (*Vigna nissensis* L.) seed. Journal of Medicinal Plants Research 5(20), 5017-5020.

Altındal, N., Altındal, D., 2013. Allelopathic Effect of Sage and Turkish Oregano Volatile Oils on *In Vitro* in Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*). Journal of Essential Oil Bearing Plants. 16 (3), 328-333.

Alanında, yurtdışında yayımlanan kitapta bölüm ve ünite yazarlığı

Altındal, D., Altındal, N., 2014. Sage (*Salvia officinalis* L.) Oils. Preedy, V.R., Essential Oils in Production, Preservation, Flavour and Safety. Part 2 Named Essential Oils. (Elsevier Science Publications) (Basımnda).

Alanı ile ilgili olarak panel, konferans, seminer, açık oturum ve söyleşi gibi etkinliklerde konuşmacı yada panelist olarak görev yapmak

Laboratuvar Güvenliği Eğitim Semineri. 28 Mart-2 Nisan 2004. S.D.Ü. Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İSPARTA.