

## 2. DERS - DOKU KÜLTÜRLERİNDE BESİN ORTAMLARININ İÇERİĞİ

### Doku Kültürlerinde Besin Ortamlarının İçeriğinde Bulunan Maddeler:

#### 1) Su:

- Doku kültürlerinde besin ortamının %95'i sudur.
- Besin ortamlarının hazırlanmasında kullanılacak suyun kalitesi yüksek olmalıdır.
- Musluk suyu besin ortamlarının hazırlanmasında kullanılamaz. Musluk suyu, miktarı belli olmayan oranlarda çeşitli katyonları, anyonları, organik maddeleri, partikülleri, zararlı gazları içermektedir.
- Besin ortamlarında kullanılacak suyun bu maddelerden arındırılmış olması gerekmektedir.
- Besin ortamlarının hazırlığında kullanılacak suyun deiyonize su olmalıdır. Deiyonize suyun daha sonra iki kez destile edilmesi ise ideal olmaktadır.

#### 2) Makro ve mikro elementler:

- Besin ortamlarında makro elementler; N (25-60mM), K (20-30mM), P, Ca, S ve Mg (1-3mM) ve
- Mikro elementler; Fe, Mo (1µM), I (5µM), Zn (5-30µM), Mn (20-90µM), B (25-100µM), Cu, Co (0.1µM) bulunur.
- Makro elementler milimol düzeyinde ilave edilirken mikro elementler mikromol düzeyinde ortamlara katılır.
- Bu elementlerin kullanım miktarları farklı araştırmacılar tarafından geliştirilmiş besin ortamı reçetelerinde değişiklik göstermektedir.
- Bu reçetelerden hangisinin kullanılacağı bitki türü, kültür tipi, eksplant kaynağı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır.

#### 3) Vitaminler:

- Vitaminler enzim reaksiyonlarında katalitik etkiye sahiptir.
- Bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi olumlu yönde etkilerler.
- Thiamin (B1), nikotinik asit, pyridoksin (B6) ve myo-inositol doku kültürü ortamlarında sıkça kullanılmaktadır.
- Farklı besin ortamlarında thiamin ve pyridoksin 0.1-10 mg/l; nikotinik asit 0.1-5mg/l, myo-inositol 50-5000mg/l dozlarında kullanılmaktadır.
- Biotin, folik asit, askorbid asit, pantotenik asit (B5), tokoferol (E vitamini), riboflavin (B2) ve p-aminobenzoik asit de besin ortamlarında kullanılan diğer vitaminlerdir.

#### 4) Amino asitler:

- Hücre gelişimini uyarmak için kullanılan organik azot kaynaklarıdır.
- Glisin (2mg/l), L-glutamin, L-asparagin (100mg/l) sık kullanılan amino asitlerdir.

#### 5) Kompleks organik maddeler:

- Kazein hidrolizat (%0.05-0.1), hindistan cevizi sütü (%5-20), maya ekstraktları, malt ekstraktları, portakal suyu, domates suyu vb. kompleks maddeler de kimi kültürlerde kullanılmaktadır.
- Bu maddelerin zararlı etki yaratmaması için kullanmadan önce test edilmeleri önemlidir.

#### 6) Aktif karbon:

- Kültürlerde olumsuz etki yapabilecek toksik maddeleri (fenolik bileşikler gibi) absorbe eder,
- Kültürlerde karanlık koşul oluşturulmasını sağlar (köklendirme).
- Besin ortamlarına %0.2-3 dozlarında aktif kömür katılabilmektedir.

## 7) Büyüme düzenleyici maddeler:

- Doku kültürlerinde oksinler, sitokininler ve gibberellik asit ( $GA_3$ ) en fazla kullanılan büyüme düzenleyici maddelerdir.
- Absizik asit (ABA) ve etilen de nadir olmakla birlikte doku kültürlerinde kullanılabilen diğer büyüme düzenleyici maddelerdir.

### Oksinler:

- Oksinler hücre bölünmesini ve genişlemesini sağlar.
- Kallus kültürleri, hücre süspansiyon kültürleri, somatik embriyo ve kök oluşturmada çok etkili maddelerdir.
- Sitokininler ile birlikte düşük dozlarda kullanıldığında sürgün oluşumunu da olumlu etkilemektedir.
- İndol asetik asit (IAA), indolbütirik asit (IBA), naftalen asetik asit (NAA), 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) en yaygın kullanılan oksinlerdir.
- IAA doğal oksindir. Diğerleri sentetik olarak üretilmektedir.

### Sitokininler:

- Sitokininler hücre bölünmesi, farklılaşma, rejenerasyon ve sürgün çoğaltımında etkilidir.
- Köklenme üzerine olumsuz etkiye sahiptir.
- Kinetin, benziladenin (benzil amino purin) (BA, BAP), zeatin, thidiazuron (TDZ) en fazla kullanılan sitokininlerdir. Zeatin doğal sitokinin formudur.

### Gibberellik Asit:

- Gibberellik asit ( $GA_3$ ) boğum aralarının ve dolayısıyla sürgün boylarının uzamasını, gözlerin gelişimini, meristemlerden sürgün oluşumunu, embriyolarda ve tomurcuklarda dormansiyi kaldırarak çimlenme ve sürmeyi uyarır.
- Kallus gelişimi ve köklenme üzerine olumsuz etkiye sahiptir.

## 8- Karbon ve enerji kaynağı:

- Doku kültürlerinde eksplantlar heterotrof (kendi besinlerini yapamayan) oldukları için enerji kaynağı olarak besin ortamlarında şekere gereksinim duyarlar.
- En fazla sakaroz bu amaçla kullanılmaktadır.
- Kullanım dozu kültür tipine göre değişmekle birlikte %1-5'dir. En fazla %3 dozunda kullanılmaktadır.
- Sık olmamakla birlikte glikoz, maltoz ve fruktoz da bu amaçla kullanılabilen diğer şekerlerdir.
- Manitol ve sorbitol gibi alkol şekerleri bitki dokularında metabolize edilemezler ve bunlar genellikle protoplast kültürlerinde ozmotik dengeleyici olarak kullanılırlar.