

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KÜLTÜR MANTARININ (*Agaricus bisporus*) DEĞİŞİK BüYÜME
DÖNEMLERİNDE BAZI İÇSEL HORMONLARIN VE DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ ÜZERİNDE ARAŞTıRMALAR**

Ersin POLAT

**DOKTORA TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
1999**

T 1067/1-1

AKADEMİK
MERKEZİ

**KÜLTÜR MANTARININ (*Agaricus bisporus*) DEĞİŞİK BüYÜME
DÖNEMLERİNDE BAZI İÇSEL HORMONLARIN VE DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ ÜZERİNDE ARAŞTıRMALAR**

Ersin POLAT

**DOKTORA TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

1999

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KÜLTÜR MANTARININ (*Agaricus bisporus*) DEĞİŞİK BüYÜME
DÖNEMLERİNDE BAZI İÇSEL HORMONLARIN VE DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR**

Ersin POLAT

DOKTORA TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 29.10.1999 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından (2.) not takdir edilerek
oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Yrd.Doç.Dr. Mustafa AKILLI
(Danışman)

Prof.Dr. Lami KAYNAK

Prof.Dr. Kaya BOZTOK

ÖZ

KÜLTÜR MANTARININ (*Agaricus bisporus*) DEĞİŞİK BÜYÜME DÖNEMLERİİNDE BAZI İÇSEL HORMONLARIN VE DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Ersin POLAT

Doktora Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Danışman: Yrd.Doç.Dr. Mustafa AKILLI
Mayıs 1999, .106 Sayfa

Bu çalışmada, kültür mantarında (*Agaricus bisporus*) flaşlara bağlı olarak farklı gelişme dönemlerinde ve bu dönemler içerisinde mantar dokularındaki ABA, IAA ve GA₃ fitohormonlarının düzey ve değişimleri arasında bir ilişkinin bulunup bulunmaması ve eğer varsa bu ilişkinin şeklinin ve zamanının saptanması amaçlanmıştır. Çalışmada yaygın olarak yetiştirilen Slyvan 130 hibrit mantar çeşidi kullanılmıştır. Kültür mantarları, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama alanında bulunan ve mantar yetişticiliğine uygun olarak modifiye edilmiş soğuk hava deposunda, hazır kompost alınarak ranzalarda, torba kültürü ile yetiştirilmiştir.

Yetiştirilen mantarlarda örnekler ilk üç flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerinden (pin, 1, 2, 4, 5 Dönem) ve pin dönemi ile 1 gelişme dönemi dışında bu dönemlere bağlı olarak mantar dokularından (Sap-I, Sap-II, Şapka, Lamel) alınmıştır. Alınan örneklerde, ABA, GA₃ ve IAA'nın mantarın farklı gelişme dönemlerindeki değişimi ve etkileşimi incelenmiştir.

Araştırma sonucunda, kültür mantarının farklı gelişme dönemi ve dokularında IAA tespit edilememiş ancak önemli oranda ABA ve GA₃ saptanmıştır. ABA ve GA₃'ün flaşların öncesinde mantarda taslak oluşumu döneminde yüksek miktarda saptanması, vegetatif dönemden generatif döneme geçiş sırasında bu hormonların doğrudan etkili olabileceği fikrini ortaya koymustur. Mantarda sap uzaması ve şapka açılmasına, ABA ve GA₃'nın birlikte etki edebilecekleri ve özellikle sap uzamasında, GA₃'ün doğrudan etkili olabileceği sanılmaktadır.

ANAHTAR KELİMELER : Kültür mantarı, *Agaricus bisporus*, Slyvan 130, içsel bitki hormonları, ABA, GA₃ ve IAA, gelişme dönemleri, dokular, HPLC, biyolojik test

JÜRİ: Yrd Doç.Dr. Mustafa AKILLI (Danışman)
Prof Dr. Lami KAYNAK
Prof Dr. Kaya BOZTOK

ABSTRACT

INVESTIGATIONS ON THE DETERMINATION OF SOME ENDOGENOUS PLANT HORMONES AND LEVELS IN DIFFERENT GROWTH STAGE OF BUTTON MUSHROOM (*Agaricus bisporus*)

Ersin POLAT

**Ph.D. Thesis in Department of Horticulture
Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Mustafa AKILLI
May 1999, 106 pages**

In this research, the aim was to determine the relationships among the levels and variations of ABA, IAA and GA₃ plant hormones depending on the flushes for various stages of growth and within the tissues for button mushroom, and if then exists some relationships, then to define the type and timing of such a relationship. Slyvan 130 hybrid mushroom cultivar grown commonly in the world was used. Mushrooms were grown on shelf with plastic bags by using commercial compost materials in modified cold storage in the research and application area of Agricultural Faculty of Akdeniz University.

Samples were obtained from different development stages in the first three flushes (pin, 1, 2, 4, 5 Period) and different mushroom tissues (Stipe-I, Stipe-II, Cap, Gill) except pin stage and first development period. The variation and the relationships of the ABA, GA₃ and IAA in the different development stages of mushroom were investigated.

In the end of the research, no IAA was found in the different development stages and tissues of button mushroom but there were high levels of ABA and GA₃. The fact that ABA and GA₃ were both at high levels in the mushroom primordium before flush, indicated the direct effect of these hormones on the reversion of the mushroom from vegetative stage to generative stage. It is thought that ABA and GA₃ both might effect together the stipe elongation and cap opening of the mushroom and especially GA₃ has a effect directly on the stipe elongation of mushroom.

KEY WORDS: Button mushroom, *Agaricus bisporus*, Slyvan 130, endogenous plant hormone, ABA, GA₃ and IAA, growth stage, tissue, HPLC and bioassay

COMMITTEE: Yrd Doç Dr Mustafa AKILLI
Prof Dr Lami KAYNAK
Prof Dr Kaya BOZTOK

ÖNSÖZ

Bu çalışmada, kültür mantarında (*Agaricus bisporus*) flaşlara bağlı olarak farklı gelişme dönemlerinde ve bu dönemler içerisinde mantar dokularında ABA, IAA ve GA₃ fitohormonlarının düzey ve değişimleri arasında bir ilişki bulunup bulunmadığını incelenmek ve eğer varsa bu ilişkinin şekli ve zamanı saptanmak istenmiştir. Bu araştırma ile alınan sonuçlar doğrultusunda verime ve kaliteye etki edecek şekilde mantarın vegetatif dönemden genaratif döneme geçişini hızlandırmak, pinlerde (mantar taslaqlarının başlangıç dönemi) homojen şapka oluşumunu teşvik etmek, mantarlarda yetişiricilik sırasında kalite kriteri açısından sap uzunluğuna, şapka çapına müdahale etmek, verimin düzenlenmesinde flaş aralığını düzenlemek, bunun yanında flaş oluşum mekanizmasına açıklık kazandırmak gibi çalışmalara da zemin hazırlamak amaçlanmıştır.

Fitohormonları (bitki büyümeye hormonları) bitki bünyesinde çok az miktarlarda bulunmalarına karşın çimlenme, büyümeye, gelişme ve çiçek tomurcuğu oluşumu gibi çok önemli fizyolojik olayları yönlendirmektedir. Çok az miktarlarda bulunan fitohormonların saptanması ancak özel laboratuvar teknikleri ve HPLC, GC, GC-MS gibi gelişmiş aletler sayesinde yapılmaktadır. Bitki hormonları analizler sırasında değişik faktörler nedeniyle kaybolabildiği gibi formları da değiştirmektedir. Sonuçta elde edilen miktar tam sonucu vermemektedir. Son yıllarda etiketlenmiş maddelerle yapılan çalışmalar sonucu, bitkide bulunan hormonların % 60-70 oranında alınması başarılı kabul edilmektedir. Ayrıca son yıllarda geliştirilen immunoassay teknikleri sayesinde çalışmalar sırasında hormon kayıpları daha da aza indirilebilmektedir.

Bana bu araştırma konusunu veren sayın hocam Yrd Doç Dr Mustafa AKILLI 'ya ve araştırma sırasında yardımcılarını esirgemeyen sayın hocam Prof Dr Lami KAYNAK'a, araştırma ortamını sağlamada gereken alt yapıyı sağlayan Bölüm Başkanımız sayın hocam Prof Dr Mustafa PEKMEZCI'ye, çalışma sırasında yardım ve malzeme konusunda yardımcılarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarından Öğr Gör Dr Salih Ülger ve Öğr Gör Dr Mustafa Karkacier'e içtenlikle teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZ	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI	4
2.1 Mantarlarda Dışardan Büyümeyi Düzenleyici Maddelerin Uygulanmasına Yönelik Literatür Çalışmaları	6
2.2 Kültür Mantarında Raf Ömrü Ve Aromatik Maddeler Konusunda Literatür Çalışmaları	8
2.3 Kültür Mantarında Flaş Oluşumuna Neden Olabilecek Metabolik Faaliyetler	11
2.4 Yüksek Başınçlı Sıvı Kromatografide Fitohormonlarının Analiz Yöntemine İlişkin Literatür Çalışmaları	14
3. MATERİYAL VE METOT	18
3.1 Materyal	18
3.1.1 Kültür mantarının yetiştirilmesi	18
3.2 Metot	19
3.2.1 Kültür mantarında örneklerinin alınması	19
3.2.2 Ekstraksiyon İşlemleri	25
3.2.3 Örneklerde yapılan ön temizleme işlemleri	29
3.2.4 Hormonların belirlenmesi	30
3.2.4.1 HPLC	30
3.2.4.2 Biyolojik test	30
3.2.5 İstatistiksel değerlendirme	32
4. BULGULAR	33
4.1 ABA Sonuçları	33
4.1.1 Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak farklı mantar gelişme dönemlerindeki dokularдан elde edilen sonuçlar	33
4.1.1.1 Birinci flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen HPLC sonuçları	33
4.1.1.2 Birinci flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen Yulaf koleoptil testi sonuçları	35
4.1.1.3 İkinci flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen HPLC sonuçlar	38
4.1.1.4 İkinci flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen Yulaf koleoptil testi sonuçları	40
4.1.1.5 Üçüncü flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen HPLC sonuçları	42
4.1.1.6 Üçüncü flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen yulaf koleoptil testi sonuçları	44
4.1.2 Kültür mantarında flaşlar içerisindeki farklı gelişme dönemlerinden	

elde edilen sonuçlar	46
4 1 2 1 Birinci flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin HPLC sonuçları	46
4 1 2 2 Birinci flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin Yulaf koleoptil testi sonuçları	47
4 1 2 3 İkinci flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin HPLC sonuçları	48
4 1 2 4 İkinci flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin Yulaf koleoptil testi sonuçları	49
4 1 2 5 Üçüncü flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin HPLC sonuçları	50
4 1 2 6 Üçüncü flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin Yulaf koleoptil testi sonuçları	50
4 1 3 Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak mantar dokularının, mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen HPLC sonuçları	52
4 1 3 1 Birinci flaş içerisinde mantar dokularının mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen HPLC sonuçları	52
4 1 3 2 İkinci flaş içerisinde mantar dokularının, mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen HPLC sonuçları	54
4 1 3 3 Üçüncü flaş içerisinde mantar dokularının, mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen HPLC sonuçları	56
4 1 4 Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak ABA miktarında meydana gelen değişimler	58
4 1 4 1 HPLC sonuçları	58
4 2 IAA Sonuçları	59
4 2 1 Yulaf koleoptil testi sonuçları	59
4 3 GA3 Sonuçları	61
4 3 1 Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak farklı mantar gelişme dönemlerindeki dokulardan elde edilen sonuçları	61
4 3 1 1 Birinci flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokulardan elde edilen HPLC sonuçları	61
4 3 1 2 İkinci flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokulardan elde edilen HPLC sonuçları	63
4 3 1 3 Üçüncü flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokulardan elde edilen HPLC sonuçları	65
4 3 2 Kültür mantarında flaşlar içerisindeki farklı gelişme dönemlerinden elde edilen sonuçları	67
4 3 2 1 Birinci flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin HPLC sonuçları	67
4 3 2 2 İkinci flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin HPLC sonuçları	68
4 3 2 3 Üçüncü flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin HPLC sonuçları	69
4.3 3 Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak mantar dokularının, mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen sonuçları	70
4.3 3 1 Birinci flaş içerisinde mantar dokularının, mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen HPLC sonuçları	70
4.3 3 2 İkinci flaş içerisinde mantar dokularının, mantarda farklı	

gelişme dönemlerine göre elde edilen HPLC sonuçları	71
4.3.3.3 Üçüncü flaş içerisinde mantar dokularının, mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen HPLC sonuçları	72
4.3.4 Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak GA ₃ miktarında meydana gelen değişimler	74
4.3.4.1 HPLC sonuçları	74
5 TARTIŞMA	76
5.1 ABA Sonuçlarının Değerlendirilmesi	76
5.2. IAA Sonuçlarının Değerlendirilmesi	80
5.3 GA ₃ Sonuçlarının Değerlendirilmesi	81
6 SONUÇ	87
7 ÖZET	91
8 SUMMARY	94
9 KAYNAKLAR	97
10 EKLER	103
Ek-1. Reversed Phase HPLC'de ABA'nın çıkış zamanı	103
Ek-2 Reversed Phase HPLC'de ABA'nın kantitatif olarak hesaplanması	104
Ek-3. Reversed Phase HPLC'de GA ₃ 'nın çıkış zamanı	105
Ek-4 Reversed Phase HPLC'de GA ₃ 'nın kantitatif olarak hesaplanması	106
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

μ	: Mikrogram
ppm	: Part percent of million (milyonda bir kısım)
ng	: Nanogram
g	: Gram
kg	: Kilogram
mm	: Milimetre
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
μg/g	: Mikrogram/gram
E C	: Elektriksel kondaktivite (iletkenlik)

Kısaltmalar

ABA	: Absisic acid
ACC	: 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid
AMO-1618	: 2-isopropyl-4 dimethylamine -5- methylphenyl-1-piperidine carboxylate methyl chloride
BA	: 6-benzyladenine
cAMP	: adenosine 3', 5' – cyclic monophosphate
CCC	: Chloro ethyl trimethyl ammonium chlorid (Cycocel)
IAA	: Indole-3-acetic acid
IBA	: Indole butyric acid
GABA	: γ-aminobutyric acid
GA ₃	: Gibberellic acid
NAA	: Naphtalene acetic acid
ODA	: 10-oxo-trans-8-decenoic acid
SADH	: Succinamic acid di methyl hydrazid (Alar)
GC	: Gas Chromatography
GC-MS	: Gas Chromatography-Mass Spectrometry
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
İTK	: İnce Tabaka Kromatografi
HCl	: Hydrochloric acid
Rf	: Relative fluidity (oransal akışkanlık) değeri 0 1-1 0 arasında değişir)
UV	: Ultraviolet

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Kültür mantarının yetiştirildiği modifiye edilmiş soğuk hava deposunun genel görünümü	18
Şekil 3.2. Kültür mantarının (<i>A. bisporus</i>) 1 aşamad an 7 aşamaya kadar olan farklı gelişme dönemleri (Flegg vd (1985)'den orijinal olarak alınmıştır)	20
Şekil 3.3. Kültür mantarında (<i>A. bisporus</i>) bulunan farklı dokular (Mau vd'den (1992) değiştirilerek alınmıştır)	21
Şekil 3.4. Kültür mantarında taslak oluşumu (pin) döneminin genel görünümü	23
Şekil 3.5. Kültür mantarında 1 gelişme döneminin (nohut iriliği dönemi) genel görünümü	23
Şekil 3.6. Kültür mantarında 2 gelişme döneminin genel görünümü	24
Şekil 3.7. Kültür mantarında 4 gelişme döneminin genel görünümü	24
Şekil 3.8. Kültür mantarında 5 gelişme döneminin genel görünümü	25
Şekil 4.1. Birinci flaşın 2 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları LSD% ₁ : 0 01 *: Ortalamalar arasında 0 01 düzeyinde farklılıklar yıldızla gösterilmiştir	34
Şekil 4.2. Birinci flaşın 4 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları LSD% ₁ : 0 019	34
Şekil 4.3. Birinci flaşın 5 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları LSD% ₁ : 0 09	35
Şekil 4.4. Birinci flaşın 2 gelişme dönemindeki şapka dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA benzeri maddeler (Kesik çizgiler t=%5 olasılıkla tanığın güven sınırlarını göstermektedir)	36
Şekil 4.5. Birinci flaşın 4 mantar gelişme dönemindeki Sap-II dokusundan elde edilen örneklerde, Yulaf Koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri , IAA ve IAA benzeri maddeler	36
Şekil 4.6. Birinci flaşın 4 mantar gelişme dönemindeki şapka dokusundan elde edilen örneklerde, Yulaf Koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA benzeri maddeler	37

- Şekil 4.7.** Birinci flaşın 5 mantar gelişme dönemin deki lamel dokusundan elde edilen örneklerde, Yulaf Koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA benzeri maddeler 37
- Şekil 4.8.** İkinci flaşın 2 mantar gelişme dönemin deki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 38
LSD%₁: 0 004
- Şekil 4.9.** İkinci flaşın 4 mantar gelişme dönemin deki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 39
LSD%₁: 0 027
- Şekil 4.10.** İkinci flaşın 5 mantar gelişme dönemin deki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 39
LSD%₁: 0 156
- Şekil 4.11.** İkinci flaşın 2 gelişme dönemindeki Şapka dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA benzeri maddeler 40
- Şekil 4.12.** İkinci flaşın 4 gelişme dönemindeki Şapka-II dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA benzeri maddeler 40
- Şekil 4.13.** İkinci flaşın 4 gelişme dönemindeki Şapka dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA benzeri maddeler 41
- Şekil 4.14.** İkinci flaşın 5 gelişme dönemindeki Lamel dokusundan elde edilen örneklerde, Yulaf Koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler 41
- Şekil 4.15.** Üçüncü flaşın 2 mantar gelişme dönemin deki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 42
LSD%₁: 0 004
- Şekil 4.16.** Üçüncü flaşın 4 mantar gelişme dönemin deki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 43
LSD%₁: 0 032
- Şekil 4.17.** Üçüncü flaşın 5 mantar gelişme dönemin deki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 43
LSD%₁: 0 007
- Şekil 4.18.** Üçüncü flaşın 2 gelişme dönemindeki Şapka dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler 44

- Şekil 4.19.** Üçüncü flaşın 4 gelişme dönemindeki Sap-II dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler 44
- Şekil 4.20.** Üçüncü flaşın 4 gelişme dönemindeki Şapka dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler 45
- Şekil 4.21.** Üçüncü flaşın 5 gelişme dönemindeki Lamel dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler 45
- Şekil 4.22.** Kültür mantarında birinci flaşta, mantarın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 46
LSD_{%1}: 0 1745
- Şekil 4.23.** Birinci flaşın pin döneminden elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler 47
- Şekil 4.24.** Birinci flaşın 1 gelişme döneminden elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler 48
- Şekil 4.25.** Kültür mantarında ikinci flaşta, mantarıın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 48
LSD_{%1}: 0 1092
- Şekil 4.26.** İkinci flaşın pin döneminden elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler 49
- Şekil 4.27.** İkinci flaşın 1 gelişme döneminden elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler 49
- Şekil 4.28.** Kültür mantarında üçüncü flaşta, mantarıın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 50
LSD_{%1}: 0 0836
- Şekil 4.29.** Üçüncü flaşın pin döneminden elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler 51
- Şekil 4.30.** Üçüncü flaşın 1 gelişme döneminden elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler 51
- Şekil 4.31.** Birinci flaşta Sap-II dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 52
LSD_{%1}: 0 011

- Şekil 4.32.** Birinci flaşta Şapka dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 53
LSD_{0.01}: 0 029
- Şekil 4.33.** Birinci flaşta Lamel dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 53
LSD_{0.01}: 0 114
- Şekil 4.34.** İkinci flaşta Sap-II dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 54
LSD_{0.01}: 0 029
- Şekil 4.35.** İkinci flaşta Şapka dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 55
LSD_{0.01}: 0 02
- Şekil 4.36.** İkinci flaşta Lamel dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 55
LSD_{0.01}: 0 2
- Şekil 4.37.** Üçüncü flaşta Sap-II dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 56
LSD_{0.01}: 0 033
- Şekil 4.38.** Üçüncü flaşta Şapka dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 57
LSD_{0.01}: 0 025
- Şekil 4.39.** Üçüncü flaşta Lamel dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 57
LSD_{0.01}: 0 009
- Şekil 4.40.** Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ortalama ABA miktarları 58
LSD_{0.01}: 0 084
A : Önemli değil
- Şekil 4.41.** Birinci flaşın 2 mantar gelişme dönem içindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 61
LSD_{0.01}: 0 043
*: Ortalamalar arasında 0 01 düzeyinde farklılıklar yıldızla gösterilmiştir
- Şekil 4.42.** Birinci flaşın 4 mantar gelişme dönem içindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 62
LSD_{0.01}: 0 34

- Şekil 4.43.** Birinci flaşın 5. mantar gelişme dönem i ndeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 62
LSD_{%1}: 0.397
- Şekil 4.44.** İkinci flaşın 2. mantar gelişme dönemi ndeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 63
LSD_{%1}: 0.422
- Şekil 4.45.** İkinci flaşın 4. mantar gelişme dönemi ndeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 64
LSD_{%1}: 0.410
- Şekil 4.46.** İkinci flaşın 5. mantar gelişme dönemi ndeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 64
LSD_{%1}: 0.343
- Şekil 4.47.** Üçüncü flaşın 2. mantar gelişme dönem i ndeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 65
LSD_{%1}: 0.32
- Şekil 4.48.** Üçüncü flaşın 4. mantar gelişme dönem i ndeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 66
LSD_{%1}: 0.74
- Şekil 4.49.** Üçüncü flaşın 5. mantar gelişme dönem i ndeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 66
LSD_{%1}: 0.337
- Şekil 4.50.** Kültür mantarında birinci flaşta, mantar ı n farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 68
LSD_{%1}: 2.599
- Şekil 4.51.** Kültür mantarında ikinci flaşta, mantar ı n farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 68
LSD_{%1}: 3.194
- Şekil 4.52.** Kültür mantarında üçüncü flaşta, manta rın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 69
LSD_{%1}: 2.628
- Şekil 4.53.** Birinci flaşta Sap-I dokusunun farklı ge lişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 70
LSD_{%1}: 0.074
- Şekil 4.54.** Birinci flaşta Lamel dokusunun farklı g elişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 71
LSD_{%1}: 1.504

- Şekil 4.55.** İkinci flaşta Sap-I dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 71 LSD%₁ :0 543
- Şekil 4.56.** İkinci flaşta Lamel dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 72 LSD%₁ :0 678
- Şekil 4.57.** Üçüncü flaşta Sap-I dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 73 LSD%₁ :0 414
- Şekil 4.58.** Üçüncü flaşta Lamel dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 73 LSD%₁ :1 036
- Şekil 4.59.** Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ortalama GA₃ miktarları 74 LSD%₁ :1.3983
A : Önemli değil
- Şekil 5.1.** Her üç flaşın ortalamasında Sap-II dokusundan farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 77
- Şekil 5.2** Her üç flaşın ortalamasında Şapka dokusu ndan farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 78
- Şekil 5.3** Her üç flaşın ortalamasında Lamel dokusundan farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları 78
- Şekil 5.4.** Kültür mantarında üç flaş ortalamasına göre mantarın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde HPLC analizinde saptanan ortalama ABA miktarları 79
- Şekil 5.5.** Kültür mantarında üç flaş ortalamasına göre mantarın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde HPLC analizinde saptanan ortalama GA₃ miktarları 83
- Şekil 5.6.** Her üç flaşın ortalamasında Sap-I dokusundan farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 83
- Şekil 5.7.** Her üç flaşın ortalamasında Lamel dokusundan farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları 84

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan kompost ve örtü toprağının (torf) yapısına ilişkin analiz sonuçları	21
Çizelge 5.1 Kültür mantarının flaşlara bağlı olarak farklı dönemler ve dokularda ABA miktarında meydana gelen değişimler ($\mu\text{g/g}$ taze ağırlık)	85
Çizelge 5.2 Kültür mantarının flaşlara bağlı olarak farklı dönemler ve dokularda GA_3 miktarında meydana gelen değişimler ($\mu\text{g/g}$ taze ağırlık)	86

1.GİRİŞ

Mantar çok eski tarihlerden beri bir besin kaynağı olarak bilinmekle beraber, yetiştirciliğine ilk kez 16 yüzyılda Fransa'da başlanmış ve 19 yüzyıldan itibaren bir kültür bitkisi özelliğini kazanmıştır İkinci dünya savaşından sonra teknığın gelişmesiyle birlikte modern tesislerde üretimi yapılmış, günümüzde ise pek çok ülkede bir tarım dalı olmaktan ziyade bir endüstri kolu haline gelmiştir (Günay 1995). Dünya'da kültür mantarı olarak üretimi yapılan bir çok mantar türü bulunmakla birlikte bunlar içerisinde üretimde en büyük paya sahip olan tür *Agaricus bisporus*'tur. Dünya toplam mantar üretimi 1.424 000 ton olup bu üretimin % 37,8'ini *A. bisporus*, % 24,2'sini *Pleurotus spp.*, % 10,6'sını ise *Auricularia spp.* oluşturmaktadır. *A. bisporus* üretiminde % 21,2 ile en büyük paya Amerika Birleşik Devletleri sahip olurken, bunu % 14 ile Fransa, % 11,9 ile Çin ve % 9,8 ile Hollanda izlemektedir (Erkel 1993).

Ülkemizde kültür mantarı ile ilgili çalışmalarla ilk olarak 1960'lı yıllarda başlanmasına rağmen, teknigine uygun kompost hazırlama ve üretim yerlerinin kurulması ve üretimdeki hızlı artış oldukça umut vericidir. Üretimi yapılan mantarın hemen hemen tamamını da *Agaricus bisporus* türü oluşturmaktadır. Ülkemizde kültür mantarı üretim alanı 171 114 m² olup, üretim miktarı 7 728 ton olarak gerçekleştirılmıştır. Mantarın bölgelere göre dağılımına baktığımızda üretimin % 43,9'u Akdeniz, % 28,3'ü Marmara, % 14'ü İç Anadolu, % 7,5'i Ege, % 6,2'si Karadeniz ve % 0,1'i de Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerine aittir. Türkiye genelinde 1991 yılında mevsimlik üretim yapan üretici sayısının oranı % 80, yıl boyu üretim yapanların oranı % 20 iken, 1995 yılında mevsimlik üretim yapanların oranı % 60'a düşmüş, yılboyu üretim yapanların oranı ise % 40'a yükselmiştir. Yıl boyu üretim yapanların sayısının artması, üreticilerin bu faaliyeti daha teknik ve daha bilinçli olarak yaptıklarını göstermektedir. Marmara, Ege, Akdeniz Bölgeleri gibi iklimin daha uygun olduğu yörelerde yıl boyu üretimin gerçekleştirilme oranı, karasal iklimin hakim olduğu diğer bölgelere göre daha yüksektir (Aksu vd 1996).

İnsan beslenmesi için gerekli olan proteinlerin yanında, B kompleks vitaminleri ve mineral maddelerce de zengin olması nedeniyle mantar yüksek bir besin değerine

sahiptir Diğer gıdaları süsleyen ve onlara lezzet katan bir yiyecek olarak bilinirse de en önemli özelliği gelişmekte olan ülkeletde protein açığını karşılayacak nitelikte olmalıdır Üretimin daha karlı bir hale getirilebilmesi için verim ve kaliteyi artırıcı yönde bir çok araştırma yapılmaktadır Ancak araştırmaların temel olması, konu üzerinde yapılacak çalışmaları daha sağlıklı kılacaktır

Bitki bünyesinde cereyan eden fizyolojik faaliyetlerin çoğunluğu hormonların kontrolü altındadır. Hormonların etkileri daima bir denge içerisinde, birbirlerini tamamlayıcı veya bir diğerinin etkisini azaltıcı olarak ortaya çıkar. Günümüzde hormonlardan, bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi yönlendirici özellikleri dikkate alınarak, çok yönlü yararlanılmaktadır (Kaynak 1996)

Saprofit olmakla beraber bir bitki olan mantarda da hormonların, diğer bitkilere benzer şekilde verim ve kaliteyi etkilemesi beklenmektedir. Kültür mantarında mantarın değişik büyümeye dönemleriyle birlikte, meyvede farklı bölgeler arasındaki etkileşime yönelik temel bilgilerin elde edilmesi, mantarda gerek içsel büyümeyenin kontrolü gereksiz büyümeyi düzenleyici maddelerin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olacaktır.

Bu nedenlerle yürütülecek olan bu araştırmanın amacı; kültür mantarının (*Agaricus bisporus*) değişik büyümeye dönemlerinde, farklı büyümeye düzenleyicilerinin düzey ve değişimleri arasında bir ilişki bulunup bulunmadığını incelemek ve eğer varsa bu ilişkinin şeklini ve zamanını saptamaktır. Buradan alınan sonuçlar doğrultusunda, mantara dışardan uygulanacak büyümeye düzenleyicilerinin uygulama zamanları ve miktarları konularında, aydınlatıcı bilgiler elde edilecek ve bunun, pratikte uygulanacak şekilde verim, kalite ve erkenciliğe etkisi araştırılacaktır. Bu çalışma ile mantarın vegetatif dönemden (misel ön gelişim dönemi) generatif döneme (şapka oluşum dönemi) geçişini hızlandırmak, pinlerde homojen şapka oluşumunu teşvik etmek, verim üzerine doğrudan etkili olan örtü toprağında yaşanan bir takım fizyolojik sorunların çözümüne yardımcı olmak, yetiştircilik sırasında kalite kriteri açısından sap uzunluğuna, şapka çapına müdahale etmek, verimin düzenlenmesinde flaş aralığını kısaltmak veya flaş süresini uzatmak ve flaşlarda verimin yanı sıra, günümüzde de halen tam olarak bir açıklık kazanmamış olan flaş oluşum mekanizmasına katkıda bulunmak,

derim sonrası mantarda raf ömrünün uzatılmasına yönelik çalışmalar yardımcı olmak gibi konulara ışık tutması amaçlanmaktadır

Elimizdeki verilere göre bu araştırma, kültür mantarının (*Agaricus bisporus*) hormon profilinin çıkartılmasına yönelik yurdumuzda yapılan ilk çalışma olup, elde edilecek bulguların daha sonraki çalışmalarla temel oluşturacağı inancındayız

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

Flegg vd (1985) *Agaricus bisporus*'da hormonlar konusunun iki kısımda ele alınması gerektiğini bildirmiştirlerdir. Bunlardan birincisi, kültür mantarında yüksek bitki hormonlarının varlığı tespit edilmiş ancak hormonların mantar üzerinde doğrudan etkisi saptanamamıştır. İkincisi ise mantarın büyümeye ve gelişmesi üzerine etkiye sahip hormon dışında bir takım maddelerin olduğunu Fleg vd 'nin belirtiklerine göre birinci kısımdaki bileşikler çok sayıda olup İndol-3-asetik asit, Fraser ve Pranje vd tarafından, değişik oksinler ise Bouillen vd ile Konishi ve Hagimoto adlı araştırmacılar tarafından mantarda tespit edilmiştir. Ayrıca bu araştırmacıların hiç biri, oksin grubu hormonların *A. bisporus* üzerine herhangi bir etkisi olduğunu bildirmemiştir.

Gruen (1965), iletim sistemine sahip bitkilerdeki aktif büyümeye hormonlarından özellikle indol grubu oksinler ile ilgili olarak, fungslarda büyümeyi hızlandırma konusunda çok az araştırma bulduğunu belirtmekle birlikte, oksinlerin funguslar üzerinde hormonal bir rol oynamadığını bildirmiştir. Araştırmacı, kültür mantarı *Agaricus bisporus*'un da içinde bulunduğu çok sayıda fungusun oksin sentezlediğini bildirmiştir. Gruen (1965)'ün belirttiğine göre Fraser, IAA'nın, belirli şartlar altında *A. bisporus*'da vegetatif misel gelişmesini hızlandırdığını saptamıştır. Gruen ayrıca test edilen birkaç mantar ırkından sadece birinde IAA'nın misel büyümeyi hızlandırdığını belirtmiş ancak *Agaricus*'un meyve sapı üzerine IAA'nın büyümeyi hızlandırdığına dair herhangi bir bulgu elde edememiştir.

Oksinler, gibberellinler veya etilen hormonunun *A. bisporus*'un herhangi bir hayat devresinde, herhangi bir hormonal etkiye sahip olduğu konusunda bir açıklık yoktur ve bu hormonların sadece metabolik ürün olması ihtimali üzerinde durulmuştur (Flegg vd 1985).

Pegg (1973), gibberellin benzeri bir maddeyi mantar meyvesinde saptamıştır. Araştırmacı, bu maddenin *A. bisporus* üzerine tespit edilebilir morfolojik herhangi bir etkisi olmadığını ve GA_1 , GA_3 , GA_5 gibi farklı gibberellin uygulamalarından da benzer sonuçlar aldığı belirtmiştir. Benzer şekilde yüksek bitkilerde kullanılan GA_3 sentezini

engelleyicilerden (2-chloroethyl) trimethylammonium chloride (CCC) ile 2-isopropyl-4-dimethylamine -5- methylphenyl-1-piperidine carboxylate methyl chloride (AMO-1618)'in büyümeye üzerine engelleyici etkisi olmadığını da belirtmiştir

Kovacs, sitokininlerin, *A. bisporus*'un değişik büyümeye dönemleri üzerine etkisini bildirilmiştir Bu araştırcı, zeatin ve zeatin ribonukleotidlerinin mantarın meyve oluşum dönemlerinde (karpofor) saptamış ve bu maddenin düşük miktarlarda bile şapkanın açılmasını uyardığını sapın uzamasına olumlu yada olumsuz herhangi bir etkisi olmadığını bildirmiştir Bu maddenin yaşılanma üzerine etkisini ileri süren Dua ve Jandaik'de benzer sonuçlar elde etmişlerdir (Flegg vd 1985)

Bir çok araştırcı lamellerde üretilen ve mantar sapının uzamasını hızlandıran bir madde tespit etmiştir Urayama (1956), şapkada bulunan lamelin yarısını uzaklaştırarak kalan kısmın bulunduğu tarafta, sapın bir eğri oluşturacak şekilde büyüdüğünü saptamıştır Hagimoto ve Konishi (1960), su, etanol, eter ve aseton ile hazırlanan lamel ekstratlarında aktif bir madde bulunduğu ifade etmişler ve benzer sonuçlar elde etmişlerdir

Gruen (1965), yaptığı araştırmada lamellerde sentezlenen bir yada daha fazla maddenin, sapın büyümesi ve şapkanın açılmasına neden olduğu sonucuna varmıştır Araştırcının *Agaricus bisporus*'un meyve gelişmesindeki içsel büyümeyenin düzenlenmesine ilişkin yaptığı araştırmada, lamelin meyvede sap uzamasını ve şapkanın açılmasını kontrol ettiğini saptamış ve ne mantar sapının ne de tek başına şapkanın bu etkiyi gösteremeyeceği belirtmiştir Yaptığı çalışmada mantarda sap üzerinde bırakılan lamel veya lamelli-şapka gibi parçaların büyümeyi ne şekilde etkilediğini saptanmıştır Aldığı 2 cm boyundaki mantar örneklerinde, sadece sap kalacak şekilde şapkayı uzaklaştırdığında, saptaki büyümeyenin çok belirgin bir şekilde azaldığını ve 3-4 gün sonra sıfır ulaştığını gözlemlemiştir Bu az orandaki büyümeye miktarı da sap içerisinde kalan bir büyümeye maddesinin yavaş yavaş tüketildiğini göstermiştir Tek başına lamel yada lamelli şapka parçasını mantar sapi üzerinde tek taraflı bıraktığında, bırakılan tarafın aksi yönüne doğru büyümeye sonucu bir eğilme meydana gelmiş, bu eğrilmeye de lamel tarafından üretilen büyümeyi hızlandırıcı bir maddenin neden

olabileceğini belirtmiştir Mantarda hem sap uzamasını hem de şapka açılmasını kontrol eden büyümeyi düzenleyici merkezin, lamellerde yoğunlaştığını ifade etmiştir.

2.1. Mantarlarda Dışardan Büyümeyi Düzenleyici Maddelerin Uygulanmasına Yönelik Literatür Çalışmaları

Bazı büyümeye düzenleyicilerinin uygulamasına ilişkin ilk görüşler, kimyasal olarak bu düzenleyicilerin üretim yastıklarında seyreltme yapması ve daha iri mantarların oluşmasıyla, hem toplama maliyetini azaltması, hem de tüketicinin bu konudaki talebini karşılamaya yönelik başlatılmıştır.

Pegg (1973), *A. bisporus*'da meyvenin gibberellin benzeri maddeler içerdigini belirtmiş, fakat mantardan elde edilen ekstratin yanısıra GA₁, GA₂, ve GA₃ 'lerin de ayrıca dışardan uygulanmasının meyve veya misele herhangi bir etkide bulunmadığını belirtmiştir İki farklı inhibitör olan Cycocel (CCC) ve AMO-1618'in sırasıyla 10 ppm ve 250 ppm'lik dozlarının mantarda misel büyümeye üzerinde az bir artış meydana getirdiğini saptamıştır

Wood (1976) tarafından yapılan araştırmada, cAMP(adenosine 3', 5' – cyclic monophosphate), cafein ve theophylline ile hazırlanmış olan agarlı ortamda *A. bisporus*'un taslak oluşturmadığını, fakat cafein ve theophylline'nin 200 ppm'lik yüksek dozlarının çok az inhibitör etkide bulunduğu belirtmiştir Bazı demir içerikli ve şelat formlu maddeler de denenmiş ancak hiçbir etkili olmamıştır

Barclay (1985) tarafından yapılan çalışmada, *A. bisporus* yetişiriciliğinde örtü toprağı üzerine dört farklı kimyasal uygulanmıştır Bunlardan flurprimidol, verimde azalmaya yol açmaksızın, mantarlarda ortalama % 15 ırılığı artırmıştır Diğer kimyasallardan ethephon, etacorizole ve paclobutrazol benzeri bir etkide bulunmamakla birlikte, paclobutrazolun 500 ppm'lik dozu mantarda meyve ırılığını artırmış ancak verimi önemli derecede azaltmıştır

White'a (1986) göre, bir böcek büyümeye düzenleyicisi olan diflubenzuron'un önerilen ticari dozda (30 µg/g) toprak örtüm zamanı örtü toprağı içeresine ilave edildiğinde, *A. bisporus*'un meyve iriliği artmaktadır

Sladky' ve Tichy' (1974) tarafından, küçük seluloz silindirlerinde kültüre alınan *Lentinus tigrinus* türü mantara, kinetin, gibberellik asit (GA₃) ve indol asetik asit (IAA) uygulanmıştır. Büyüme düzenleyicilerin uygulanması, ilk mantar taslaklarının oluşumundan sonra her bir kimyasal solüsyona, içeresine silindirlerin yerleştirilmesiyle yapılmıştır. 100 ppm IAA ve 400 ppm dozundaki GA₃ uygulaması kontrole göre verimde bir azalma olmaksızın sırasıyla % 25 ve % 16 oranında mantar iriliğini artırmıştır.

Halbert ve Schisler (1986), 9 farklı büyümeyi düzenleyici maddenin *A. bisporus* 'da ortalama meyve iriliği (g/mantar) ve verim (kg/m²) üzerine etkisini araştırmışlar. Kullanılan maddeler sırasıyla: flurpirimidol, cycocel (CCC), succinic acid dimethylhydrazide (SADH), ancymidol, gibberellic acid (GA), 6-benzyladenine (BA), α-naphthalene acetic acid, (NAA), caffeine ve theophylline'dir. Gerekli çevresel şartlar sağlanarak miselin kompostu sarmasından sonra 2 ml büyümeye düzenleyicisi ve kontrol olarak kullanılan su ilk mantar taslaklarının görüldüğü gün bir pipet yardımıyla örtü toprağının üzerine uygulanmıştır. Her bir uygulama 8 tekerrürlü yapılmış ve sonucta, bazı kimyasalların belirli konsantrasyonlarının verim ve mantar iriliği üzerine etkili olduğu görülmüştür. Bu kimyasallardan BA'nın 1 08 mg/m²lik uygulaması kontrole göre verimi % 12 azaltırken, CCC'nin 1 08, 10 8 ve 108 mg/m²lik dozları verim üzerine sırasıyla kontrole göre, % 79, % 65, ve % 55 lik bir artış sağladığı saptanmıştır. CCC'nin 1080 mg/m²lik dozu ise verimde herhangi bir değişime neden olmazken, SADH'ın uygulanan tüm dozları (1 08, 10 8, 108 ve 1080 mg/m²) kontrole göre verimde önemli bir artış sağlamış ve mantar iriliği üzerine herhangi bir etkide bulunmamıştır. Uygulanan diğer kimyasallar ise istatiksel anlamda gerek verim, gerekse meyve iriliği üzerinde önemli bir farklılık oluşturmamıştır.

Kaur ve Lakhanpal (1995), *Lentinus edodes*'in vegetatif büyümeye besin elementleri, vitaminler ve büyümeye düzenleyicilerinin etkisini araştırdıkları çalışmada,

misel gelişmesi üzerine karbon kaynağı olarak glukozu ki bunu fruktoz ve sukroz takip etmiş, azot kaynağı olarak peptonu, vitamin olarak thiamini (20 ppm), hormon olarak da gibberellik asiti (20-40 ppm) iz elementlerden de manganın (2 ppm) etkili olduğunu bulmuşlardır

Shukla (1995) tarafından, Shiitake (*Lentinus edodes*) mantarı yetişiriciliğinde hormonların etkisi araştırılmıştır. Meşe kütükleri üzerinde yetişen *Lentinus edodes*'in ilk taslakları üzerine yapılan 5-10 ppm dozundaki IAA, IBA ve gibberellik asit uygulamaları sonucunda, kontrole (126.3 g/kütük) göre en yüksek verim 5 ppm'lik IAA'dan (331.6 g/kütük) elde edilmiştir. Mantar sayısı açısından da 5 ppm dozundaki IBA uygulaması (41.3 mantar/kütük), kontrole (12.0 mantar/kütük) ve diğer uygulamalara göre en iyi sonucu vermiştir

Tan ve Chang (1989) *Lentinus edodes*'in vegetatif gelişmesi ve meyve oluşumu (fruktifikasyon) üzerine, büyümeye düzenleyicilerinin, enzim inhibitörlerinin ve uyarıcı katkı maddelerinin etkisini araştırmışlardır. Mantarlar, destek ortamı olarak perlitin kullanıldığı ve kimyasal olarak içeriği bilinen besi solüsyonunun hazırlandığı bir ortamda yetişirilmiştir. Tannic asit (500 ve 1000 ppm), kafein (50 ve 100 ppm) ve buğday ununun (%1 ağırlık/hacim) ortama ilave edilmesi fruktifikasyonu başlatmıştır. Diazoacetyl-DL-noleucine methyl ester (8 ppm) şapka oluşumunu uyarmış ancak misel gelişmesini engellemiştir. IAA, kinetin ve gibberellik asidin 5-300 ppm'lik dozlarından hiç biri fruktifikasyon üzerine etkili olmamış, sadece gibberellik asidin 5-100 ppm'lik konsantrasyonları misel büyümeyi hızlandırmıştır

2.2. Kültür Mantarında Raf ömrü ve Aromatik Maddeler Konusunda Literatür Çalışmaları

Ajlouni vd (1992) kültür mantarının (*Agaricus bisporus*) hasadı sırasında mantar üzerinde bırakılacak sap uzunluğunun mantarın raf ömrüne etkisi konusunda bir araştırma yapmışlardır. İki hibrit mantar çeşidiyle yapmış oldukları araştırmada 2.5-3.5 cm şapka çapında olan kaliteli mantarlar hasat edildikten hemen sonra, şapkadan 5 mm ve 35 mm sap bırakılacak şekilde kesilmiş (mantarda maksimum verimlilik için

bırakılması gereken sap uzunluğu 35 mm'dir) ve havalandırma açıklığı olan PVC (polyvinyl chloride) film ile kaplı kaplar içerisinde 12 °C 'de 6 gün süre ile muhafaza edilmiştir Sonuçta sap uzunluğu 5 mm bırakılan uygulamaların şapka rengi, 35 mm bırakılanlara göre daha az kararmış ve şapkaların açılması daha da yavaşlamıştır. Muhafazanın 3 günü ortaya çıkan bu farklılık, 6 gün tam olarak kendini göstermiştir. Bu iki uygulamanın mantarlarda derim sonrası solunum hızı ve bakteriyel gelişme üzerine etkisinde farklılık bulamamışlardır Hasat sırasında mantarlarda sapların kısa bırakılması ağırlık kaybı nedeniyle verimi yaklaşık % 10 azaltmıştır Kısa saplı mantarların uzun saplı mantarlara göre şapkalarının daha geç açılmasına tam bir açıklık getirememiştir Hormonal açıdan olaya bakıldığından, uzun mantar saplarının bazı büyümeye düzenleyicilerini içermesi yada üretmesinin mantarın gelişmesi veya şapka açılmasında mantarın diğer dokularına taşınarak veya biyokimyasal sinyaller gönderilerek açıklanmaya çalışılmıştır Sapın kesilmesiyle bu hormonlar uzaklaşmış, mantarın bozulması ve de olgunlaşması gecikmiştir Bununla birlikte Ajlouni vd (1990), *Agaricus bisporus* mantarının aşağı sap bölgesinde (Sap-I) 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) içerdığını saptamışlardır Adams ve Yang (1979)'da ACC'nin bir yaşılanma hormonu olan etilenin habercisi olduğunu bildirmiştir

Ajlouni (1991) mantarlarda fazlaca bulunan ve şeker alkollü olarak bilinen manitolun mantarlardaki farklı dokuları üzerinde yapmış olduğu araştırmada, hibrıt çeşitlerde mantar sapının aşağı kısmında (Sap-I) manitol içeriğinin (kuru ağırlığın % 28), lamel (%10) ve mantar sapının yukarı kısmı (Sap-II) göre (% 19) daha yüksek miktarlarda olduğunu saptamıştır Mannitolun ve suyun mantarda aşağı sap bölgesinden yukarı sap bölgesine taşınımı buradaki hücrelerin büyümeye hacimce genişlemesine ayrıca sapın destek görevi yapmasına neden olduğu bildirilmiştir Hammond (1977), manitolun, hasat edilmiş mantarlar tarafından tüketilen solunumun ana maddesini oluşturduğunu, Schmidt (1977)'de, bu maddenin hasat edilmiş mantarlarda değişik dokular arasında taşınabileceğini ifade etmiştir Mantarda bırakılacak sap uzunluğunun kısa tutulması ve özellikle de kararma miktarının azaltılmasına olan etki mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır

Kültür mantarının depolama sırasında ve herhangi bir zararlanma karşısında kolayca kahverengileşmesi ticari bir problemdir. Kahverengileşmeye neden olan enzim, monophenol mono-oxygenase yada yaygın olarak bilinen tyrosinase, phenolase veya phenol oxidase enzimidir. Tyrosinease enzimi, (mantarda bulunan bakır içeriği bir oksidasedir) ve bu enzim monophenollerin hidroksitlerini katalizleyerek diphenollere çevirir. Diphenol olarak bilinen bu maddeler oksitlenerek kahverenginde olan melanine dönüşür. Dört farklı izoenzimi bulunur. Tyrosinease' nin mantarların karamasına neden olduğu bilinmekle beraber, mantar için fonksiyonu tam olarak aydınlığa kavuşmamıştır. Sap ve şapka dokularındaki bu enzimin varlığı, özellikle spor oluşumu sırasında melanini sentezlemesi açıklanamamakla birlikte, bu dokulardaki tyrosinease enziminin toksik fenollerin oluşumuyla zararlanan dokuların, enfeksiyonunu önlemede rol aldığı sanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada, sağlıklı mantarlarla kıyaslandığında, virusle enfekte olan mantarlarda yeni bir izoenzimin oluşumuyla birlikte, tyrosinease enzim aktivitesinde bir artış saptanmıştır (Flegg vd 1985).

Bir çok araştırmada, mantarda sapın uzamasını hızlandıran ve esasen lamellerde üretilen bir madde bulunmaktadır. Günümüze kadar da bu madde tanımlanamamıştır (Gruen 1982). Yakın bir zamana kadar, mantarlardan bir bileşik izole edilmiş ve bu bileşik 10-oxo-trans-8-decenoic acid (ODA) olarak adlandırılmıştır (Mau, 1992). Bu bileşik mantarda ana aroma bileşeni olan 1-octen-3-ol ile birlikte aynı zamanda oluşur ve de özellikle mantar dokuları, ipliksi miseller zarar gördüğünde yada parçalandığında üretilir (Grosch ve Wurzenberger 1984). 1-octen-3-ol diğer fungslardan *Aspergillus* ve *Penicillium spp* türlerinde de bulunmaktadır (Kaminski vd 1974). *Agaricus bisporus*'da üretilen ODA, ilk olarak Tressl vd (1982) tarafından linoleic asidin bir enzimatik parçalanma ürünü olarak bildirilmiştir. ODA; kralice maddesi olarak bilinen ve de bal aralarında seks feromeni olan 9-oxo-cis-2-decenoic aside benzer bir yapıya sahiptir. Aynı yapısal benzerlik yüksek bitkilerde bir yara hormonu olan 12-oxo-trans-10-dodecenoic acid (traumatin) için de geçerlidir (Zimmermen ve Coudron (1979) Mau vd (1992), ODA'nın *Agaricus bisporus*'un gelişimi üzerine yaptıkları araştırmada, mantarda hormonal etkiye sahip olan bu bileşigin, miselin büyümeye ve mantarda sapın uzamasına ilişkin uyarıcı etkide bulunduğu saptamışlardır. Patates deksroz mayasıyla hazırlanan agarlı ortamda, 18.4 ppm ve 36.8 ppm ODA ilave edildiğinde, misel büyümeye

miktarını % 50-88 oranında artmıştır. Mantarın kurutularak donduruluktan sonra belli bir metod yardımıyla elde edilen ODA, örtü toprağı serildikten sonra ve mantar taslakları (pinler) oluşumundan 24 saat önce yapılan iki farklı uygulamada, ilk flaşta verimde ve mantar sayısında, örtü toprağının serilme döneminde yapılan uygulamada kontrole göre önemli bir artış (% 27) sağlanırken, ortalama mantar iriliğinde bir artış oluşturmamıştır. Bununla birlikte daha sonraki flaşlarda bu etki görülmemiştir. Buradan, ODA'nın mantarın fruktifikasyon oluşumu sırasında gerekli olabileceği ve kısa süreli bir aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Mantarlar doğrudan besin olarak tüketildiği gibi, diğer gıdaları süslemede kullanılan bir besin özelliğine de sahiptir. Mantarda kendine has lezzetini oluşturan, uçucu olan ve olmayan birtakım bileşikler mevcuttur. Uçucu olamayan bileşikler amino asit ve nukleotitler, uçucu olanlar ise sekiz karbonlu (C8) bileşikler olan 1-octanol, 3-octanol, 3-octanone, 1-octen-3-ol, 2-octen-1-ol ve 1-octen-3-one'dir (Fisher ve Grosch 1987). Bunlardan 1-octen-3-ol mantar alkolü olarak bilinir ve taze mantarlarda bulunan en önemli uçucu bileşik olup, Linoleic yağ asidinin enzimatik parçalanmasından oluşur (Grosch ve Wurzenberg (1984). Hanssen'e göre tüm uçucu bileşiklerin % 33 ile % 78'ini 1-octen-3-ol oluşturabilir (Loch-Bonazzi ve Wolf 1991). Normalde şapkası olmuş bir mantarda yüksek miktarlarda bulunur. 1-octen-3-ol'un oluşması için lipoxygenase ve hydroperoxidelyase enzimleri gereklidir. Bu reaksiyon özellikle mantar dokusu herhangi bir şekilde zarar gördüğünde ve ya parçalandığında daha da hızlanır (Grosch ve Wurzenberg 1984).

2.3. Kültür Mantarında Flaş Oluşumuna Neden Olabilecek Metabolik Faaliyetler

Kültür mantarında ürün oluşum dönemleri olarak adlandırılan flaşlar, Flaş-I'den başlayıp flaş-VI'ya kadar devam edebilir. Ancak ilk üç flaş toplam ürünün ortalama olarak %75-80'ini oluşturduğundan, ekonomik olması açısından genelde yetişiriciliğin yapıldığı dönemler, bu üç flaş ile sınırlıdır. En yüksek verim Flaş-I'den elde edilir. Flaş-III'e kadar olan ortalama flaş verim miktarları sırasıyla % 34, % 28, % 23'tür. Flaş-IV'den elde edilebilecek olan verim miktarı ise ortalama % 9'dur (Erkel 1993).

Bir çok hipoteze rağmen mantarlarda flaş oluşumunun nedeni tam olarak açıklık kazanmamıştır. Flegg ve Manacher'e göre, flaş esnasında bir sonraki oluşumu önleyen engelleyici bir madde sentezlenmekte, diğer önemli bir hipotez ise flaş esnasında kompostta meydana gelen tüketimin, yeni mantar oluşumuna izin vermemesi şeklindedir. Chanter ve Thornley'de mantarın büyümeye ve ürün dağılımına yönelik matematiksel bir model ileri sürmüştür. Buna göre, flaş oluşumunu başlatabilecek yeterli misel substrati birikinceye kadar, misel tarafından absorbe edilen ve biriktirilen nazari bir madde vardır. Bu modelde; flaşdaki büyümeye ve gelişmeye, miseller arasında bulunan nazari maddenin, belli bir eşik seviyesinin altına ininceye kadar, tüketilmesine yol açar. Flaşta yapılan hasatlardan sonra miseller, substrati tekrar biriktirmeye başlar ve bir sonraki flaşın oluşmasına neden olur. Hammond ve Nichols yaptıkları çalışmada, ürün boyunca hasat edilen mantarlardaki karbonhidrat analizlerinde, trehalose ve glikojen karbonhidratları, Chanter ve Thornley'in hipotezindeki misellerde biriken madde gibi benzer bir dalgalanma göstermiştir. Her iki karbonhidrat, flaşlar arasında kuru ağırlığın % 20'sine ulaşacak şekilde bir pik noktaya ulaşmış ve bu birikimin, takip eden flaşın büyülükle ilişkili olduğu ortaya çıkmıştır. Bir şeker alkolü olan mannitoldeki dalgalanma daha az olup aynı flaş içerisinde 2 aşamadaki mantarlarda en yüksek miktarlarda bulunmuştur. Şekil 3.2'de 2 aşamadaki mantarın morfolojik görünümü verilmiştir. Parrish vd'ne göre bir flaşın verimi ile o flaşta hasat edilen mantarların mannnitol içeriği arasında doğrudan bir ilişki vardır. Ticari yetişticilikte flaşlar arası mantarın kalitesindeki değişim bilinmektedir. Kalitedeki bu değişimde de bazı bileşikler neden olmaktadır. Baldy vd mantarlarda üre içeriğinin birinci flaşda, beşinci flaşa göre hemen hemen 3 kat arttığını belirtmişlerdir. Serbest amino asitlerden arginine, proline, serine ve γ -aminobutyric acid (GABA) en büyük değişim göstermiştir. Serine, GABA ve toplam proteinler üçüncü flaşta en yüksek seviyeye ulaşırken, arginine ve proline'nin her ikisi de artış göstermiştir. Özellikle proline 4 kat artmıştır. Proteinlerin amino asit içeriğinde önemli bir değişim gözlenmemiştir. Hughes vd 'nin yaptıkları çalışmada, kromotogramlardan elde ettikleri ölçümler sonucu, hasat dönemleri itibarıyle son flaşlarda tyrosine içeriğindeki azalmaya işaret etmişler ve ilk flaştaki mantarlarda görülen kararmaya karşı hassasiyetin daha fazla tyrosine içeriğinden olabileceğini belirtmişlerdir. Ancak daha sonraki yıllarda yapılan kantitatif çalışmalarдан sonra üçüncü flaşın, birinci flaşa göre tyrosine içeriği açısından 3 kat

artış gösterdiği saptanmıştır. Yine uçucu olmayan asitlerden organik asit ve keto asitlerin miktarları ilk flaşlarda daha fazla bulunmuştur (Flegg vd 1985)

Örtü toprağının fiziksel ve kimyasal özelliklerinin yanısıra biyolojik yapısı da üretilen mantarın kalitesi ve kantitesi üzerine etkili olmaktadır. Saf kültürleri hazırlanan mantar miselleri herhangi bir müdahale olmadıkça vegetatif fazdan generatif faza geçmemekte yani sporlar oluşmamaktadır. Pratikte kompost içerisinde yetiştirilen miseller de aynı şekilde örtü toprağı tabakasının teşvik edici etkisi olmaksızın ürün vermemektedir. Örtü toprağında mantar misellerinin metabolik aktiviteleri sonucu O₂ ve CO₂'nin yanında havadan ağır bazı uçucu bileşikler oluşturmaktadır (Boztop 1980). Schisler meydana gelen uçucu bileşigin yüksek molekül ağırlığı ve düşük bir uçuculuğa sahip hormon benzeri bir bileşik olduğunu ileri sürmüştür. Lockard ve Kneebone büyümekte olan misellerin, CO₂'in yanısıra, uçucu bileşikler olan ethylene, acetaldehyde, ethyl alcohol ve ethyl acetate açığa çıkardığını saptamışlardır (Boztop 1980).

Curto ve Favelli (1972) tarafından bildirildiğine göre; Urayama, *Bacillus* sp varlığının *A bisporus* da sporofor oluşumu ve gelişimi üzerine uyarıcı etkisine sahip olduğunu saptamıştır. Yine aynı şekilde Hayes vd *Pseudomonas putida*'nın kültür mantarında meyve oluşumuna uyarıcı etkide bulunduğu doğrulamıştır.

Curto ve Favelli (1972) yaptıkları çalışmada, bazı bakteri ve mayala sporlarının, örtü toprağı seriminden hemen önce ve toprak örtümünden bir hafta sonra sprey, olarak yaptıkları uygulama sonrası, kontrole göre misel yoğunluğunda bir artış olduğunu gözlemişlerdir. Bunun sonucu olarak, erkenciliğin yanı sıra verimde de % 20-30 arasında bir artış sağlamışlardır.

Mantarın yetiştirilmesi esnasında, örtü toprağında kolonize olan mantar miselleri bir takım morfolojik değişimler göstererek mantarın meyvesi olarak kabul edebileceğimiz fruktifikasyon organını oluşturur. Yapılan çalışmalar sonunda topraktan izole edilen bazı bakterilerin, özellikle *Pseudomonas* türlerinin, mantarda meyve oluşumu ile ilgili olduğunu saptanmıştır. Buna göre, demir iyonları invitro çalışmalarında meyve oluşumunu teşvik etmektedir. Bunun yanında, mantar misellerinin gelişmesi esnasında

oluşan etanol (ethanol), etilen (ethylene), aset aldehit (acetaldehyde), asetonel (acetone) ve etil asetat (ethyl acetate) gibi uçucu bileşiklerin de belirli bir konsantrasyonun üzerinde olmaları halinde meyve oluşumunu önlemektedir. Yapılan araştırmalarda, *Pseudomonas putida* adlı bakterinin bu uçucu bileşiklerle beslenerek populasyonunu artırdığı ve bu arada ortamda uçucu bileşiklerin konsantrasyonunu azalttığı saptanmıştır. Populasyonu artan bu bakteri aynı zamanda ortamda bulunan organik maddelerin vegetatif fazdan generatif faza geçmesinde indirekt olarak etkili olmaktadır (Boztop 1980)

2.4. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografî ‘de Fitohormonlarının Analiz Yöntemine İlişkin Literatür Çalışmaları

Bitkilerde çok az miktarda bulunan hormonların kalitatif ve kantitatif analizleri zordur. Bununla birlikte araştırmacılar tarafından son yıllarda bitkilerden hormon ve benzeri maddelerin analizlerinde ön temizleme işlemleri, varlığının tespiti ve nano gram (ng) seviyesinde miktar tayini yapabilen çok sayıda teknik geliştirilmiştir. Kullanılan analitik yöntemlerle Mass Spektro'da olduğu gibi maddelerde 10 ng'in altındaki miktarlar saptanabilmektedir. Gramdan kilograma kadar değişen bitki örneklerinde ve bitki dokularında bulunan hormon konsantrasyonlarının saptanması, ekstraksiyon ve temizleme kombinasyonlarının etkin şekilde kullanılmasıyla olabilir. Kalitatif analizlerde daha çok analiz döneminde biriken maddelerin miktarı ve bireysel prosedürlerin içeriği çalışma süresince bulunan bileşiklere bağlıdır (Reeve ve Crozier 1980). Bununla birlikte, kantitatif analizlerde bilgi edinici tekniklerden ziyade çalışmaların selektif olarak yapılması önemlidir. Böylece kantitatif analizlerde bitkilerin küçük miktarları üzerinden ekstraksiyon yapılarak, belirlenen limitlerde saptama yapılmaktadır. Bunun sonucunda istenmeyen maddeler ortamdan kolaylıkla uzaklaştırılabilmektedir. Bu da analizlerin daha hızlı yapılmasını sağlamaktadır (Rivier ve Crozier 1987).

Bitki dokularında düşük konsantrasyonlarda bulunan hormonların belirlenmesinden sonra hormon ölçümleri için özel teknikler geliştirilmiştir. Hormon analizlerinde

kullanılan en hassas kromatografik yöntemler, Gas Chromatography (GC) , Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) ve High Performance Liquid Chromatografisidir (HPLC). Kapilar GC, hormon analizlerinde daha hassas ancak kolona enjekte edilen örneğin ön temizleme işleminin çok iyi yapılması gereklidir. Buna karşın HPLC'de örneklerin ön temizleme işlemleri ve analizi daha kolay yapılabilmektedir. Reversed-Phase HPLC hormon analizinde, kullanılan bitki örneklerinde ön temizleme işlemleri daha iyi sonuç vermektedir (Durley vd 1982). Bununla birlikte HPLC ile hormon analizlerinde ion-exchange (Sweetser ve Swartzfager, 1978, During 1977a), ion Pair Phase (Mousdale 1981), Partition (Ciha vd 1977) ve Normal Absorption Phase (Ciha vd 1977) yöntemleri de kullanılmaktadır.

George tarafından yüksek bitkilerde GA'ların analizinde oldukça teknik zorluklar olduğunu bildirilmiştir. Diğer büyümeye maddeleriyle kıyaslandığında özellikle vegetatif dokularda GA'ların konsantrasyonları oldukça düşüktür. Vegetatif dokulardaki GA₃ miktarı genelde 1-10 (ng/ kg taze ağırlık) arasında değişmektedir. Bu nedenle GA'ların analizinde çok hassas yöntemlerin kullanılması zorunludur. Bugüne kadar bitkilerde ve mantarlıarda 72 adet GA saptanmıştır (Rivier ve Crozier, 1987).

Biyolojik testlerle GA'lar saptanabilmektedir ancak kontaminasyonlar sonucu GA konsantrasyonlarında istenilmeyen hatalar olabilmektedir. Bu nedenle, analitik teknikler daha çok kullanılmaktadır.

Bitkideki büyümeye değişiklikleriyle GA konsantrasyonları arasında bir ilişki vardır. Bu durum analizler ve sonuçların yorumlanmasıyla ortaya çıkmaktadır. Son yıllarda bazı araştırmalar tarafından GA içermeyen mutantlarla yapılan çalışmalarda gövde uzamasının fazla olmasının GA'ların fizyolojik önemini sınırlandırdığı ve GA'ların gerçek hormonların metabolik habercileri veya diğer hormonların parçalanmasıyla ortaya çıkan bir ürün olduğu fikrini doğrumuştur (Potts ve Reid 1983, Phinney 1984).

Gas Chromatography-Mass Spectrometry ve Immunoassay gibi kullanılan modern analitik metodlar hormon fizyolojisinin anlaşılmasında önemli avantajlar sağlayacaktır. Organlar veya bireysel hücrelerin büyümeye maddeleri içeriğiyle ilgili oldukça fazla

arastırmalara ihtiyaç vardır Dünyada GA'ların analizinde kullanılan mükemmel bir yöntem yoktur Ancak, kullanılan prosedürler her bir safhada sunulan sorunların çözümüne uygun gelmektedir (Rivier ve Crozier, 1987)

Absisik asit (ABA) yüksek bitkilerden izole edilen ve engelleyici etkide olan bir bileşiktir Bitki büyümесinde fizyolojik rolü ve gelişimi açıklanmıştır. Bitki-su ilişkisinde ABA'nın önemli bir rolü olduğu çoğu araştırcı tarafından kabul edilmesine rağmen, bu konuda bazı şüpheler vardır Hiron ve Wrigth'in (1973) gözlemlerinde su sitresi döneminde yapraklarda ABA içeriğinin oldukça artmasının, ABA üretimi ile su sitresi arasında ilişkinin olduğunu ortaya çıkarmıştır

Biyolojik yöntemlerle ABA'nın tesbiti çok hassas olmamasına rağmen, yeni büyümeyi engelleyicilerin veya anti-transplant aktivitenin ortaya çıkarılmasında biyolojik yöntemlere başvurulmaktadır ABA'nın analizinde kimyasal metodların önerilmesine rağmen (Milborrow ve Noddle 1970), elde edilen sonuçların doğruluğu veya benzerliği biyoanaliz yöntemleriyle kontrol edilebilir Bitkilerde ABA sentezinin oluş biçimi hala kesin değildir ABA'nın biyosenteziyle ilgili detaylı çalışmalar Milborrow (1983), Horgan vd (1983), Neil vd (1984) tarafından açıklanmıştır ABA konusunda son yıllarda yapılan çalışmaların sayısı az olmasına rağmen, GC-MS, HPLC ve Immunoassay'la yapılan çalışmaları devam etmektedir Immunoassay'la elde edilen sonuçların daha güvenilir ve doğru çıkması çok sayıda fizyolojisti bu konuda çalışmaya sevk etmektedir 1960'lı yılların sonrasında değişik HPLC'ler biyokimya alanında kullanılmaya başlanmıştır ABA analizinde HPLC'de refractive-Index, Fluorescence ve Ultraviole monitörler kullanılabilirlikteyse de kalitif analizlerde en çok 254 nm Ultraviole dedektörler kullanılmaktadır

Darwin ve Darwin'in *Phalaris camariensis*'in koleoptillerinde fotoperiodizm üzerinde yaptıkları çalışmada bulunan madde, daha sonra auxin olarak (Kögl ve Haagen-Schmidt 1931) isimlendirilmiştir Takip eden çalışmalarında bunun Indole-3-acetic acid (IAA) olduğu ortaya çıkmıştır (Haagen-Schmidt vd 1946) Şimdi ise IAA'nın yüksek bitkilerde oluşumu ve nasıl sentezlendiği büyük ölçüde bilinmektedir Hücre uzaması ve bölünmesinde önemli bir rol almaktadır IAA'nın yapısının basit

olması bu konuda yapılan çalışma sayısını artırmaktadır Mc Dougl ve Hilmann (1978) ile Yokota vd'nin (1980) yaptığı araştırmalar, IAA'nın analitiksel analizlerinin yapılmasında oldukça yenilikler getirmiştir

1970'li yıllarda GC-MS'le yapılan çalışmalarda, IAA'nın konsantrasyonunun çoğu bitki dokularında 1-10 000 ng/g arasında değiştiği bulunmuştur HPLC'de bitki dokularında IAA'nın analizi ilk defa During (1977b) ile Sweetser ve Swartsfager (1978) tarafından yapılmıştır Reversed-Phase HPLC çoğu araştırmalarda örneklerin temizlenmesinde ve indollerin analizinde kullanılmaktadır Bunun yanısıra Normal-Phase ve Ion-Exchange HPLC'de tercih edilmektedir

Diğer kromatografik yöntemlere göre, indollerin analizlerini daha hızlı yapan HPLC, örneklerin saptanmasının basit olması ve oransal olarak maliyetin daha ucuz olması nedeniyle çok kullanılmaktadır Reversed-phase HPLC ile indollerin ayrimında kullanılan metil alkol, aseton, veya etil alkolün hangisinin daha iyi ayırım yaptığına dair fazla bir çalışma yoktur (Einar 1982)

Bitki dokularında az oranda bulunan (20-250 ng/g taze ağırlık) IAA'nın analizi oldukça zordur. Bu nedenle HPLC düşük miktarlarda bulunan maddelerin saptanmasında önemli rol oynamaktadır (Mitchell vd 1984)

3. MATERİYAL VE METOT

Çalışmada kullanılan kültür mantarları, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama alanında bulunan ve mantar yetiştirciliğine uygun olarak modifiye edilmiş soğuk hava deposunda yetiştirilmiştir (Şekil 3.1)

3.1. Materyal

3.1.1. Kültür mantarının yetiştirilmesi

Denemeyi gerçekleştirmek için gerekli olan misel, kompost materyali ve örtü toprağı, Korkuteli ilçesinde bulunan Naturel mantar A.Ş adlı özel bir firmadan nisan 1997 tarihinde temin edilmiş ve yetiştircilik ranzalarda torba kültürüyle yapılmıştır.



Şekil 3.1. Kültür mantarının yetiştirildiği modifiye edilmiş soğuk hava deposunun genel görünümü

Araştırmada kullanılan mantar örneklerini sağlıklı ve kontrollü bir şekilde temin etmek amacıyla, üretim kendi olanaklarımıza hazırlanmış olan yetiştirme ortamında yapılmıştır. Yetiştirme ortamında ısıtma, soğutma, havalandırma, sirkülasyon gibi her türlü fiziksel altyapı oluşturularak, iklimlendirme için gerekli komutlar termostat, zaman saatleri ve higrostat yardımıyla sağlanmıştır. Yetiştirme tekniği ve iklim isteklerine ilişkin düzenlemeler, Boztok (1990), Erkel (1993) ve Günay (1995)'a göre yapılmıştır.

Denemede, ülkemizde ve dünyada da yaygın olarak yetiştirciliği yapılan Sylvan 130 hibrit çeşidi kullanılmıştır. Bu çeşit iri ve düz beyaz hattın bir melezidir. Sylvan 130 hibrit mantar çeşidi düz beyaz hatlara göre daha kolay pin oluşumu, iri hatlara göre ise daha sıkı yapılı bir şapka ile hasattan sonra daha uzun bir raf ömrüne sahiptir. Şapka rengi beyaz olup, meyve orta büyülüklükten daha fazla iriliğe kadar değişebilmektedir (Anonim 1998). Kullanılan kompost materyali, ticari üretimde yaygın olarak tercih edilen ve asıl bileşenini buğday sapı ile diğer katkı materyallerinin oluşturduğu, sentetik bir komposttur.

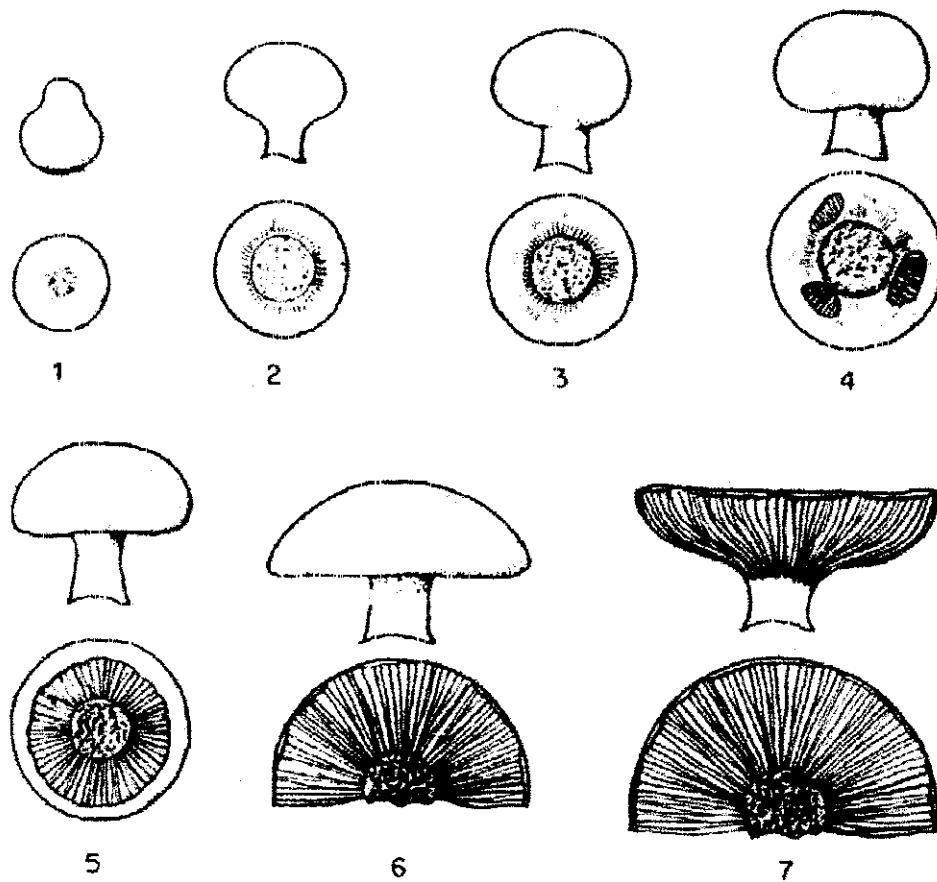
3.2. Metot

Kompost ve örtü toprağı olarak kullanılan torf da toplam azot Kacar'a (1994) göre, Elektriksel iletkenlik (EC), pH, Anonymous'a göre (1978), oransal nem ise Demiralay'a göre (1993) yapılmış ve analizler Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Analiz Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.1). Araştırma konusunu oluşturan hormon analizlerinde parçalama ve ekstraksiyon işlemleri Bahçe Bitkileri Bölümü Fizyoloji Laboratuvarında, HPLC'de okuma işlemleri ise Ziraat Fakültesi Prof Dr Tevfik Aksoy Merkez laboratuvarında yapılmıştır.

3.2.1. Kültür mantarında örneklerinin alınması

Çalışmada hasat dönemi olarak ilk üç flaş dikkate alınmış (Erkal 1993) ve analizler her üç flaşta da tekrarlanmıştır. Örnekler, kültür mantarının her flaş periyodu içerisindeki farklı gelişme dönemlerinden ve bu dönemler içerisindeki mantarın farklı dokularından alınmıştır. Mantarda farklı gelişme dönemlerine ilişkin örnek alımları

Mau vd (1993)'ne göre yapılmış (Şekil 3.2) ancak Mau vd'den farklı olarak, örnek alımlarına, mantarlarda taslak oluşumunun başladığı pin döneminden başlamış ve bunu Şekil 3.2'de gösterilen mantarın 1, 2, 4 ve 5 gelişme dönemleri izlemiştir (Şekil 3.4, Şekil 3.8)



Şekil 3.2. Kültür mantarının (*A. bisporus*) 1 aşamadan 7 aşamaya kadar olan farklı gelişme dönemleri (Flegg vd (1985)'den orijinal olarak alınmıştır)

Şekil 3.2'den de anlaşılacağı gibi mantarın farklı gelişme dönemleri Mau vd (1993)'ne göre sırasıyla aşağıda belirtilmiştir

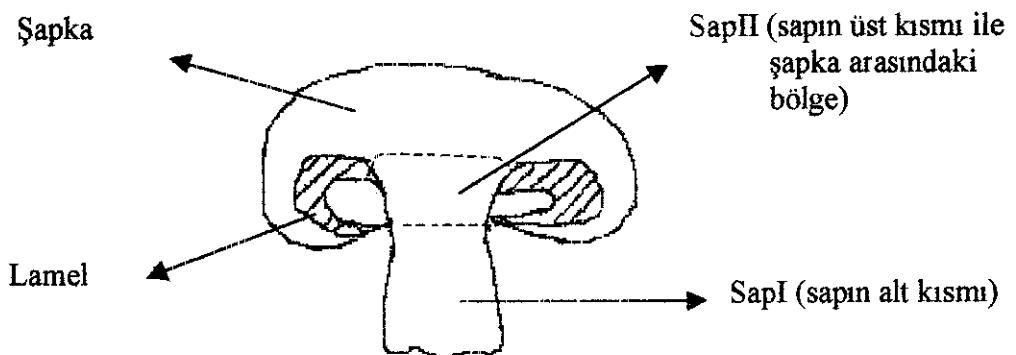
- 1 dönem: Velum partial (şapka zarı) tamamen ve sıkı bir şekilde kapalı
- 2 dönem: Velum partial (şapka zarı) kapalı ve gerçin
- 3 dönem: Velum partial (şapka zarı) kısmen yırtılmış (yarından çok az)

- 4 dönem: Velum partial (şapka zarı) kısmen yırtılmış (yarından fazla)
- 5 dönem: Velum partial (şapka zarı) tamamen yırtılmış
- 6 dönem: Velum partial (şapka zarı) zar açık, lameller iyice görünüyor
- 7 dönem: Velum partial (şapka zarı) zar açık, lamel yüzeyi düz

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan kompost ve örtü toprağının (torf) yapısına ilişkin analiz sonuçları

Ortamlar	Nem (%)	Toplam N (%)	pH	EC (mmhos/cm)
Kompost	72	1 82	6 82	0 4961
Torf	75	0 7	7 4	-

Kültür mantarında farklı doku özelliğine sahip şapka, lamel, mantar sapının annulusdan (yaka) aşağı olan kısmı (Sap-I) ve annulus ile şapka içi dokusu arası bölge (Sap-II) Schmidt'e göre yapılmıştır (Mau vd 1992) Mantardaki farklı doku özelliğine sahip bölgeler Şekil 3.3 'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3. Kültür mantarında (A bisporus) bulunan farklı dokular (Mau vd'den (1992) değiştirilerek alınmıştır)

Analizlerde ekstraksiyon için alınan örnekler aşağıda belirtilmiştir

- 1) Otoklavlanmış kuru buğday
- 2) Tohumluk materyali olan, misel sardırılmış buğday
- 3) 2-3 mm çapında mantar taslakları (pin)
- 4) 8-10 mm çaplı nohut iriliği döneminde mantar taslakları
- 5) 2 5 -4 cm çaplı hasat iriliğinde mantarlar

5.1 Şapka zarı açılmamış (lameller görünmüyor)

- a) Sap-I (şapkanın alt kısmına kadar olan doku)
- b) Sap-II (şapka içinde lamel ortasında bulunan doku)
- c) Şapka (lamel ve Sap-II dokusu dışında)
- d) Lamel

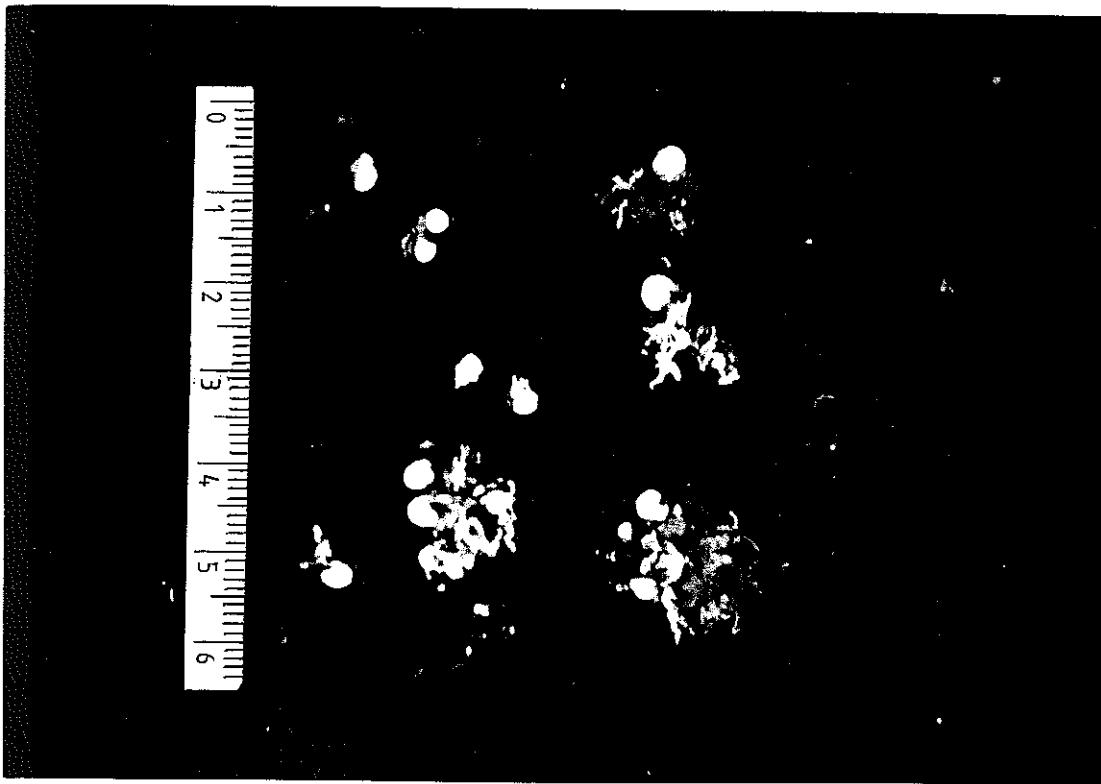
5.2 Şapka zarının % 50' si açılmış

- a) Sap-I (şapkanın alt kısmına kadar olan doku)
- b) Sap-II (şapka içinde lamel ortasında bulunan doku)
- c) Şapka (lamel ve Sap-II dokusu dışında)
- d) Lamel (sporları dağılmamış)

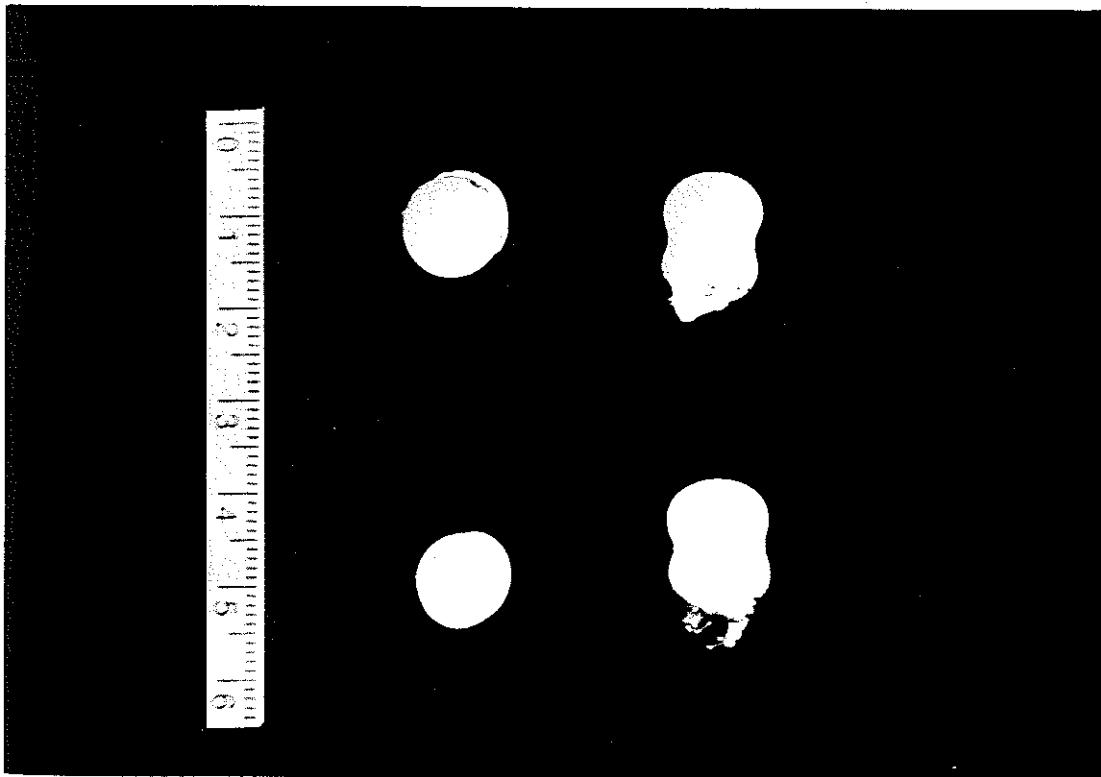
5.3 Şapka zarı tamamen açılmış (lameller tamamen görünür)

- a) Sap-I (şapkanın alt kısmına kadar olan doku)
- b) Sap-II (şapka içinde lamel ortasında bulunan doku)
- c) Şapka (lamel ve Sap-II dokusu dışında)
- d) Lamel (sporları dağılmamış)

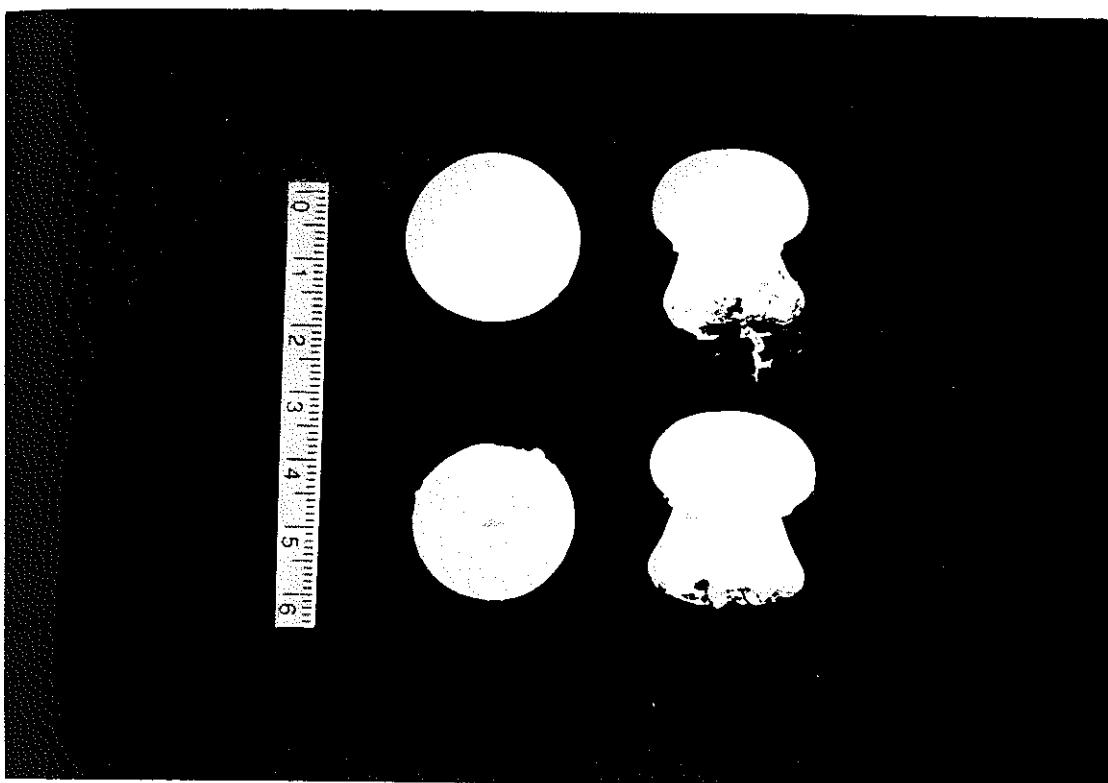
Kültür mantarında yapılan hormon analizlerinde, pinlerden ve hasat olgunluğuna gelmiş (2 5-4 cm şapka çaplı) mantarların, şapka zarı henüz açılmamış (velum partiel) olanların (mantarın 2. gelişme dönemi) lamellerinden 1 g, diğer bütün dönemlerden ise 10 g örnek alınarak metot kısmında belirtildiği gibi ekstraksiyon işlemlerine geçilmiştir. Alınan örnekler -20 °C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiş, böylece analizlerin yapılacağı zamana kadar bozulmaları önlenmiştir. Örnek alımına mantarların 3. flaş döneminde son verilmiştir. Ekstraksiyonda kullanılacak örneklerin miktarının tespiti gerek bundan önce çalışan araştırmacıların kullandıkları miktarlar ve gerekse denemeye başlamadan önce yapılan ön çalışmalar göz önüne alınarak belirlenmiştir.



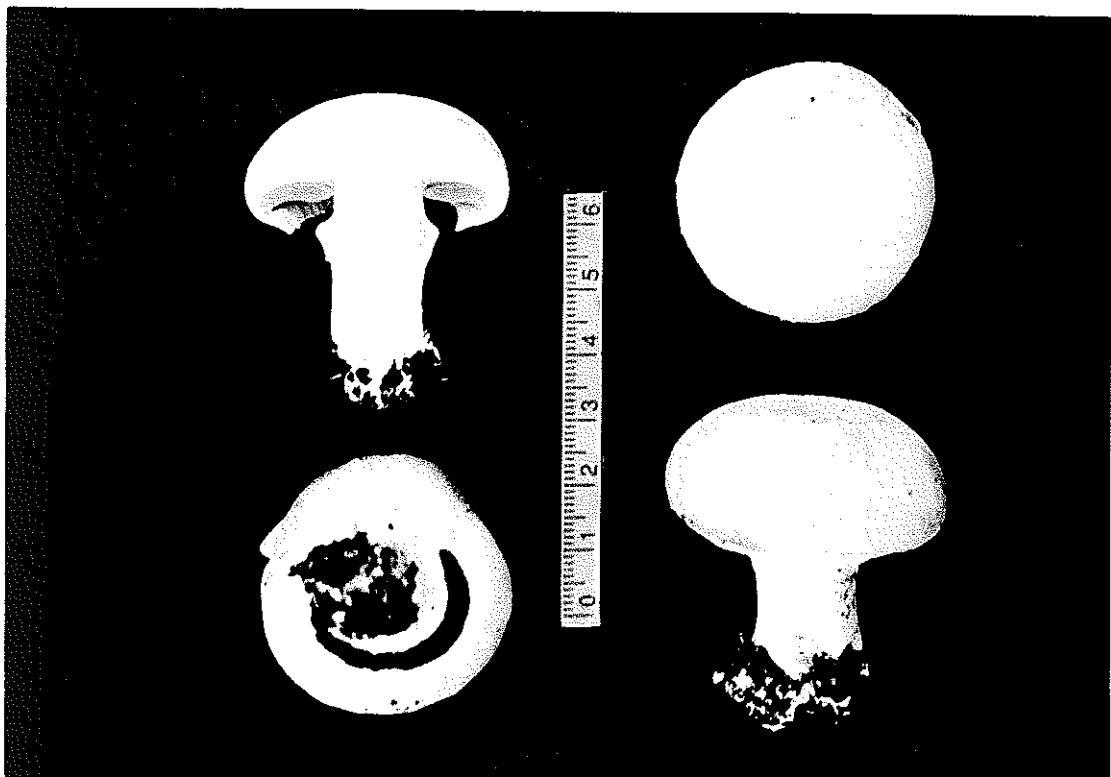
Şekil 3.4. Kültür mantarında taslak oluşumu (pin) döneminin genel görünümü



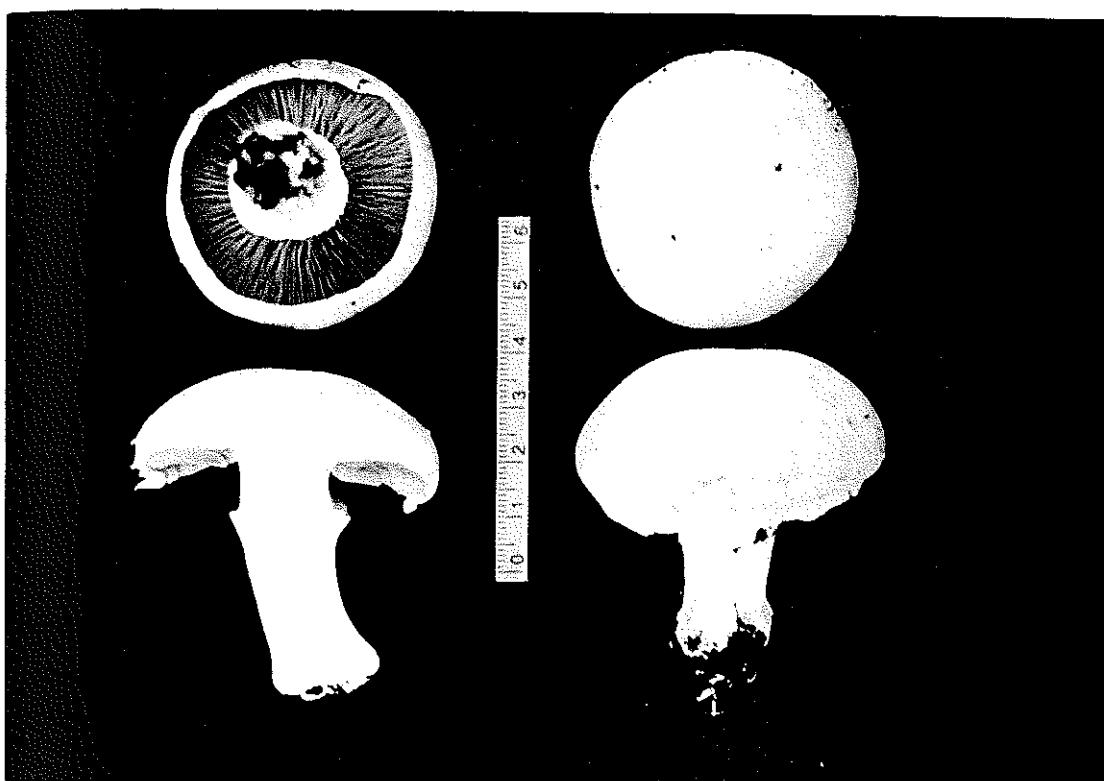
Şekil 3.5. Kültür mantarında 1 gelişme döneminin (nohut iriliği dönemi) genel görünümü



Şekil 3.6. Kültür mantarında 2. gelişme döneminin genel görünümü



Şekil 3.7. Kültür mantarında 4. gelişme döneminin genel görünümü



Şekil 3.8. Kültür mantarında 5 gelişme döneminin genel görünümü

3.2.2. Ekstraksiyon İşlemleri

Elde edilen ekstrakların ön temizleme işlemleri ince tabaka kromatografisinde (İTK) yapılmıştır. Daha sonra örneklerde bulunan içsel hormonları kantitatif olarak HPLC ile hormon benzeri maddeler ise kalitatif olarak biyolojik testle saptanmıştır. Hormon benzerlerinin saptanması, birçok araştırcının yaptığı gibi özel test bitkileriyle yapılmıştır. Kullanılan örneklerin canlı olması nedeniyle, çalışmalar sırasında örneklerde bozulma, bulaşma gibi olumsuz durumlar ortaya çıkabilemektedir. Bu nedenle hormon benzerlerinin kantitatif olarak verilmesinin yanlış sonuçlara neden olabileceği göz önüne alınarak, değerler kalitatif olarak sunulmuştur.

Bitki hormon analizlerinin yapıldığı ve örneklerin test edildiği bütün zamanlarda çalışmalar, siyah perdeyle gölgelendirilmiş çok az ışıklı ortamda yapılmıştır. Böylece, hormonların ışık görerek bozulmaları önlenmeye çalışılmıştır.

Diger materyallerden alınan örneklerde kültür mantarının dokularından absisik asit, gibberellin ve oksin hormonlarının analizleri yapılmıştır Hormon analizleri; Allan vd (1977), Philip ve Dennis (1978), Joyce ve Charles (1981), Junichi vd (1986), Einar vd (1987), Laurent ve Crozier 'in (1987) kullandıkları yöntemlerden yararlanılarak ve gerektiğinde modifiye edilerek gerçekleştirılmıştır Araştırcıların kullandıkları yöntemlerin bazı yerlerinin modifiye edilmesinin nedeni, bizim çalışmamız için gerekli olmayan kısımların iptali veya yapılan bazı yanlış uygulamaların ortadan kaldırılması amacıyla yapılmıştır Böylece kısa zamanda daha fazla işlem yapabilme kapasitesine ulaşılmıştır

Hormon analizlerinin yapıldığı yöntemin akış şeması aşağıda verilmiştir

ABA, GA VE IAA ANALİZLERİ

Örnek

| %70'luk Metanol

|

homogenizasyon (Soğukta)

| 24 saat bekletme

Süzme

|

+-----+

|

|

Süzüntü

kalıntı

|

|

Homogenizasyon (soğukta)

|

|

|

Süzme

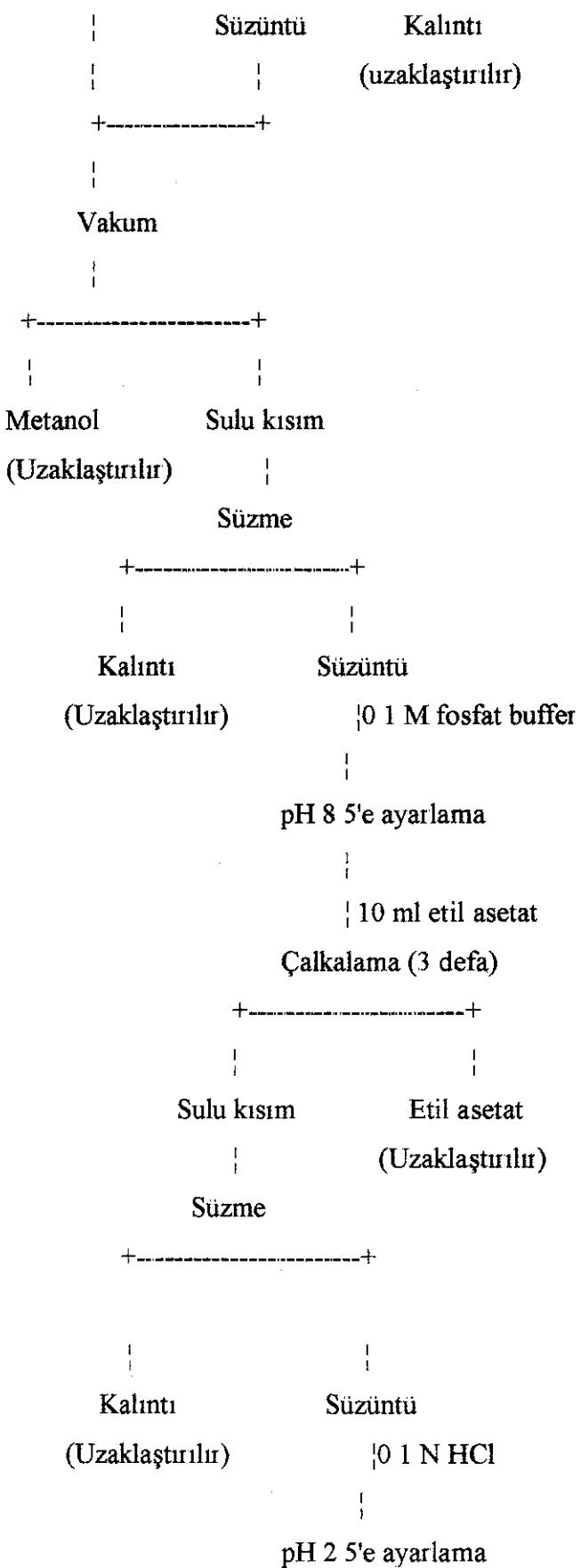
|

|

+-----+

|

|



|Di-ethyl-eter

Çalkalama (3 defa)

Eter Sulu kısım

(Uzaklaştırılır)

Susuz sodyum sülfat'la

eterdeki suyu alma

Vakum

Kuru kalıntı

(Uzaklaştırılmış) Metanol (1 ml)

Eritme (Çözme)

İnce tabaka kromatografi

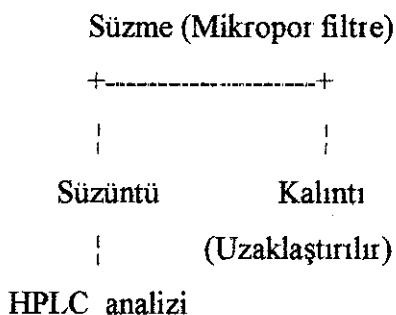
UV ışık altında bant ayırma

ABA, GA ve IAA'ya karşılık gelen

Rf bantlarının kesilerek alınması

| Metanol (1 ml)

(Bantların metil alkollerle yıkandırmış çözeltisi)



Günümüze kadar hormonlarla ilgili yapılan çalışmalarda, bitki hormonlarının alkolde daha iyi çözünmesi nedeniyle (Ulger 1997), ekstraksiyon işleminde % 70'lik metil alkol kullanılmıştır. İnce tabaka kromatografide alüminyum plakalar (Merck G60 F254) kullanılmıştır. Bunun nedeni, istediğimiz Rf bantlarının makasla kesilerek alınmasının çok kolay olmasından kaynaklanmaktadır. Cam plakalar kullanılması durumunda, örnekler plakalardan kazınmak suretiyle alınmakta ve kazıma sırasında en ufak hava hareketinde parçacıklar uçabilmektedir. Sonuçta istenilen amaca tam ulaşışlamamaktadır.

3.2.3. Örneklerde yapılan ön temizleme işlemleri

Absisik asit, gibberellik asit ve indol asetik asit analizlerinde HPLC'ye uygulamadan ve biyolojik test çalışmalarına geçmeden önce, ön temizleme yöntemi olarak İTK yöntemi kullanılmıştır. İTK çalışmalarında çok sayıda yükseltici solvent denenmiş ve en uygun solvent olarak, isopropil alkol:amonyak:su (84:8:8) karışımı kullanılmıştır. 10 cm yüksekliğindeki İTK plakası alt ve üst kısımlardan 1 cm, içteki bölge ise 0,8 cm olacak şekilde 10 eşit kısma ayrılacak şekilde kurşun kalemlle işaretlenmiştir. IAA, GA₃ ve ABA hormonlarının saf maddeleri İTK'daki her bir kolona enjekte edilmiş ve tankta bulunan solventin en üst çizgiye ulaşması beklenmiştir. Yükselme sonucunda İTK plakası üzerinde IAA R_f_{0,5}, GA₃ R_f_{0,6} ve ABA R_f_{0,7} 'de olduğu saptanmıştır.

İTK'da hormonların Rf değerleri belirlendikten sonra HPLC'de yapılacak analiz için, pinlerden ve mantarın 2. gelişme dönemindeki lamel örneklerinden elde edilen ekstraklardan (1 g taze ağırlık), 500 µl, diğer mantar örneklerinden (10 g taze ağırlık) 50 µl, biyolojik test analizinde ise sırasıyla 200 µl ve 20 µl İTK'ya uygulanmış ve İTK

tankında örnekler belirtilen çözelti içinde yükseltilmiştir ABA, GA₃ ve IAA'ya karşılık gelen bantlar kesilerek 1 cc metil alkol içerisinde çözülmüş ve HPLC'ye uygulanmıştır. Zamanın yeterli olmadığı dönemlerde plakalar analize kadar buz dolabında bekletilmiştir Biyolojik test çalışmalarında İTK plakası 10 eşit Rf bandına ayrılmış ve her Rf bandında bulunan hormon ve hormon-benzeri maddeler saptanmıştır

3.2.4. Hormonların belirlenmesi

3.2.4.1. HPLC

Örnekler Auto sampler (Marathon), Karıştırıcı ve Pompa sistemi (Varian 9010), Kolon Fırını (Mistral) ve UV Dedektörü (Varian 9050) kapsayan Reversed-Phase HPLC'de analiz edilmişlerdir HPLC'deki analizler C₁₈ kolonunda yürütülmüştür Kolondan önce ABA, GA₃ ve IAA'nın saf maddeleri geçirilmiş ve bunların kolonda tutulma süreleri (retention time) belirlenmiştir Daha sonra mantarlardan elde edilen ve İTK'da bantlara ayrılan örnekler kolona mikro filtreden geçirilerek uygulanmıştır

Sentetik IAA, GA₃ ve ABA'nın kolonda tutulma süreleri belirlenerek, örneklerde aynı tutulma sürelerindeki hormonlar saptanmışlardır

ABA analizinde; sürükleyici faz olarak % 55 metil alkol (0.1 M asetik asitli suyla hazırlanmış) kullanılmış ve UV absorbansı 265 nm'ye ayarlanmıştır (Ülger 1997)

GA₃ analizinde; sürükleyici faz olarak % 30 metil alkol (H₃PO₄'le pH'3 ayarlanmış) kullanılmış, UV absorbansı 208 nm'ye ayarlanmıştır

IAA analizinde; sürükleyici faz olarak % 35 metil alkol (% 1 asetik asit içeren suyla hazırlanmış) kullanılmış, UV absorbansı 280 nm'ye ayarlanmıştır (Rivier and Crozier 1987)

3.2.4.2. Biyolojik test

Biyolojik testlerde amaç belirli maddelere duyarlı, buna karşın bu maddeler dışındakilere duyarsız olan bitkilere, özel koşullar altında uygulanan hormon benzeri bileşiklerin, bitkilerde oluşturduğu ölçülebilir verilerin saptanması ile hem uygulanan maddenin varlığı ve yokluğu ve hem de var olanların oransal miktarlarının ölçülmesidir

ABA ve IAA analizinde yulaf koleoptil testi kullanılmıştır Bu yöntem ilk defa Nitsch ve Nitsch tarafından ortaya konulan ve yulaf koleoptil parçalarının büyümelerindeki artışın veya yavaşlamanın oransal olarak belirtilmesine dayanmaktadır (Kaynak 1992)

Denemede Tarla Bitkileri Bölümü'nden temin edilmiş olan ve 1997 yılında hasadı yapılmış, Ürgütlü'de yerel popülasyon olarak adlandırılan yulaf çeşidi kullanılmıştır. Yulaf tanelerinin çimlendirilmesini kolaylaştırmak amacıyla, tohumlar ılık su içinde yaklaşık 12 saat bekletilmiş ve içerisinde 6 cm kalınlıkta perlit:kum (1:1) bulunan kaplara tohum embriyoları alta gelecek şekilde ekilmiştir Kab içerisinde az miktarda su ile ıslatıldıktan sonra üzeri cam plaka ile kapatılmış ve 25 °C'ye ayarlı etüv içerisinde konularak, etüvün kapağı kapatılmış ve böylece içeri ışık girmesi engellenmiştir. Yaklaşık 3-4 gün sonra çimlenen tohumların kököptilleri 2-3 cm boyaya ulaşmışlardır

Yulaf kököptilleri kesilerek daha önceden yapılan pleksiglas (plexiglass) üzerinde açılan deliklere köleoptilin ucu alta gelecek şekilde konulmuştur Her pleksiglas üzerinde 10 delik bulunmaktadır Koleoptillerin yukarıda kalan kısmı keskin bir jiletle kesilmiş ve köleoptillerin düşmesini önlemek için alta düzgün bir cam plaka konularak pleksiglas 180 derece döndürülmüş ve pleksiglasdan dışarı doğru uzanan 3 mm'lik kısmı yine jiletle tıraşlanmıştır Böylece köleoptilden gelebilecek hormonlar elimine edilmiştir Pleksiglas içinde bulunan ABA ve IAA'ya duyarlı 10 adet köleoptil daha önceden hazırlanan örnek şişelerine ince uçlu igne ile düşürülmüş (örnek şişeleri içinde 2 ml saf su ve İTK'dan elde edilen Rf bandı bulunmaktadır) ve şişenin ağzi kapatılmıştır Bütün örnek şişelerine köleoptiller konulduktan sonra şişeler bir kap içine alınarak 25 °C'deki etüv içine konulmuş ve bir gece bekletilmiştir Örnekler etüvden alınarak köleoptiller düzgün bir lam üzerine konulmuş ve binoküler altında boyları ölçülmüştür Her Rf bandındaki % büyümeye aşağıdaki formülün kullanılmasıyla saptanmıştır (Kaynak 1992)

Örnekteki koleoptil boylarının ortalaması X 100

% Büyüme =

Kontroldeki koleoptil boylarının ortalaması

Örneklerden elde edilen büyümeye miktarları, kontrolden elde edilen büyümeye miktarıyla karşılaştırılmış, boy uzaması kontrolden uzun olan Rf bantlarında IAA gibi büyümeyi uyarıcı etkide bulunan maddeler ($Rf_{0.5}$ bandında IAA-benzerleri), boy uzaması kontrolden kısa olan Rf bantlarında, ABA gibi büyümeyi engelleyici etkide bulunan maddeler (Rf_7 bandında ABA-benzerleri) var diye kabul edilmiştir

3.2.5. İstatistiksel değerlendirme

Araştırma tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrütlü olarak kurulmuş ve elde edilen bulguların değerlendirilmesinde, COSTAT istatistiksel analiz programından yararlanılmıştır

İstatistiksel olarak önemli bulunan değerlerin karşılaştırılmasında asgari önemli fark testi ($LSD_{\alpha=1}$) kullanılmıştır (Düzgüneş vd 1993) Biyolojik testle ilgili sonuçların değerlendirilmesinde ise histogramlara ait güven sınırları $t=\% 5$ düzeyinde hesaplanmıştır (Yıldırım 1994)

4. BULGULAR

Bu araştırmada, yaygın olarak yetiştirilen Slyvan 130 hibrít kültür mantarında (*Agaricus bisporus*) değişik büyümeye dönemlerinde ve farklı dokularda ABA, GA₃ ve IAA fitohormonlarının varlığı ve miktarlarındaki değişimler saptanmıştır. Yapılan çalışmanın sonucunda, içsel bitki hormonlarının kültür mantarında flaş oluşumuna, flaşlar arasındaki değişime, meyve gelişmesine, mantarın dokuları arasındaki etkileşime, mantarda kalite kriterlerinden sap uzaması ve şapka açılması gibi konular yorumlanmıştır. Araştırmada örneklerden elde edilen içsel hormonların miktarları, kantitatif ve kalitatif olarak verilmiştir.

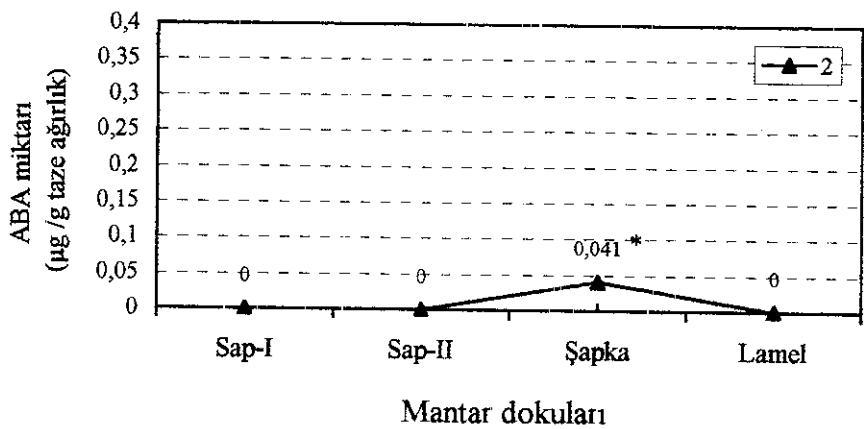
4.1. ABA Sonuçları

HPLC'de yapılan analizler sonucu, gerek otoklavlanmış-bağday örneklerinde, gerekse mantar yetiştirciliğinde başlangıç materyali olarak kullanılan ve tohumluk materyal olarak adlandırılan misel sardırılmış bağday örneklerinde, ABA tespit edilememiştir.

4.1.1. Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak farklı mantar gelişme dönemlerindeki dokulardan elde edilen sonuçlar

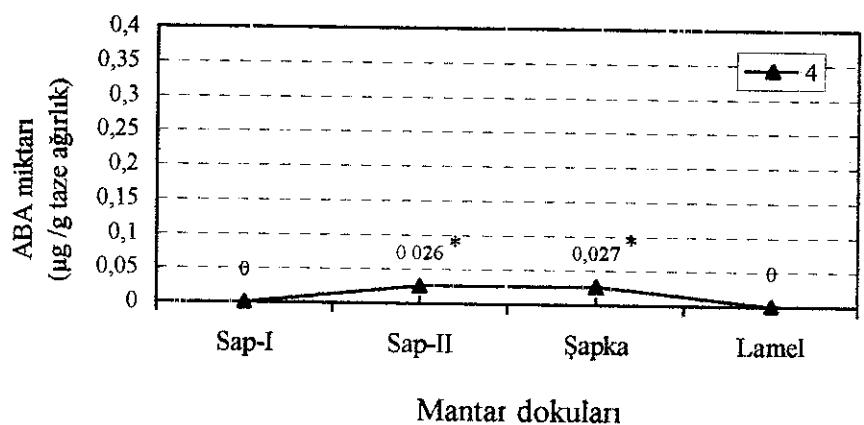
4.1.1.1. Birinci flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen HPLC sonuçları

Kültür mantarında HPLC'de yapılan analizler sonucunda birinci flaşın 2. gelişme döneminde, mantarda şapka dokusunun ABA içeriği saptanmıştır. Şekil 4.1 de görüleceği gibi yapılan istatistiksel analizde 2. gelişme dönemindeki şapka dokusunda tespit edilen 0.041 µg/g ABA miktarının, diğer dokulara göre farklılığı önemli bulunmuş, mantarın diğer dokularında ise ABA saptanmamıştır.



Şekil 4.1. Birinci flaşın 2 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları
 $\text{LSD}_{\%1} : 0,01$

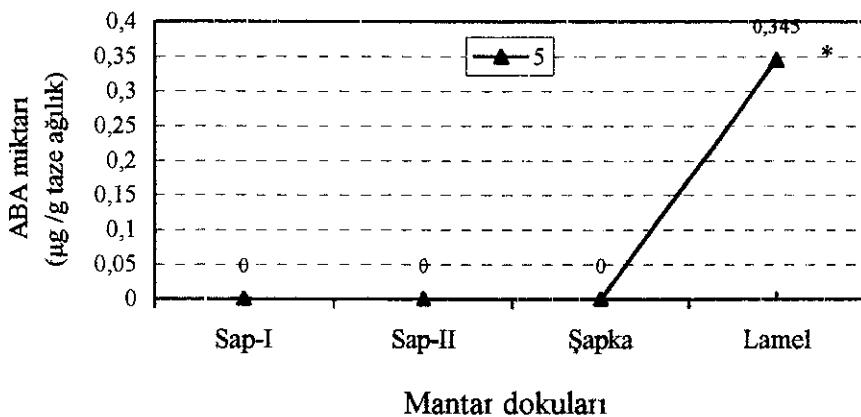
*: Ortalamalar arasında 0,01 düzeyindeki farklılıklar yıldızla gösterilmiştir



Şekil 4.2. Birinci flaşın 4 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları
 $\text{LSD}_{\%1} : 0,019$

Birinci flaşın 4 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerle ilişkin HPLC'de saptanan ABA sonuçları, Şekil 4.2'de verilmiştir. Bu şekilde de görüldüğü gibi mantarda 4 gelişme dönemi olarak belirtilen, şapka zarının yarısının açıldığı bu aşamada, gerek Sap-II gerekse şapka dokularında ABA tespit edilmiştir. Sırasıyla $0,026 \mu\text{g/g}$ taze ağırlık ve $0,027 \mu\text{g/g}$ ABA miktarları ile her iki doku da

yapılan LSD testi sonucu örnekler aynı grup içerisinde yer almış, Sap-I ve lamel dokularında bu dönemde ABA'ya rastlanmamıştır

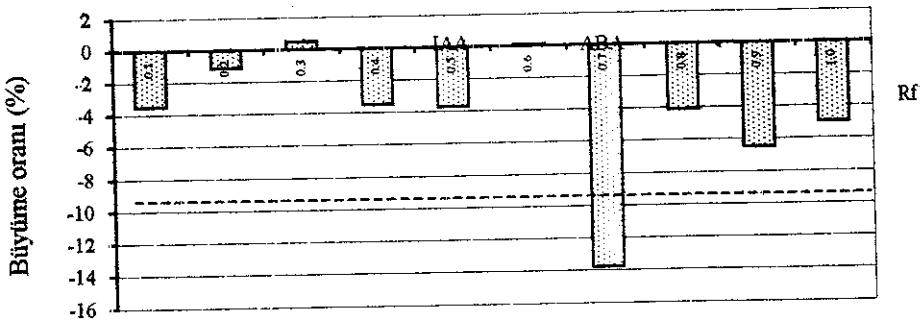


Şekil 4.3. Birinci flaşın 5 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları
LSD%1 : 0.09

Birinci flaşın 5 gelişme dönemindeki dokulardan sadece lamelde ABA ($0.345 \mu\text{g/g}$) saptanmış ve istatistiksel anlamda, diğer dokulardan farklı bir grup oluşturmuştur (Şekil 4.3) Birinci flaş içerisinde en yüksek ABA miktarı, şapka zarının tamamen açıldığı 5 gelişme dönemindeki lamel dokusundan elde edilmiştir

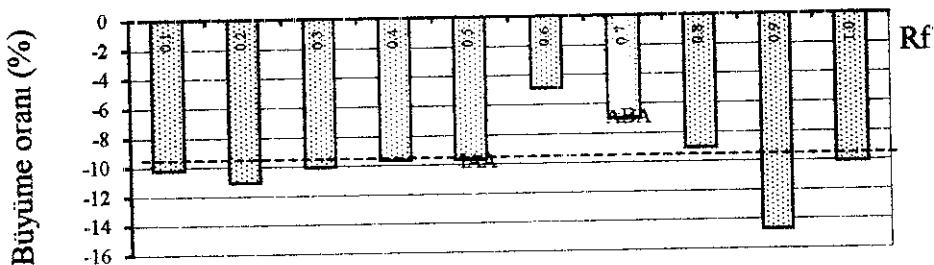
4.1.1.2. Birinci flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen Yulaf koleoptil testi sonuçları

Kültür mantarında HPLC analizi sonucunda birinci flaşın 2 mantar gelişme döneminde, şapka dokusunda ABA saptanırken, aynı örnekte yulaf koleoptil testi sonucunda da ABA ve ABA gibi engelleyici etki gösteren madde saptanmıştır (Şekil 4.4)



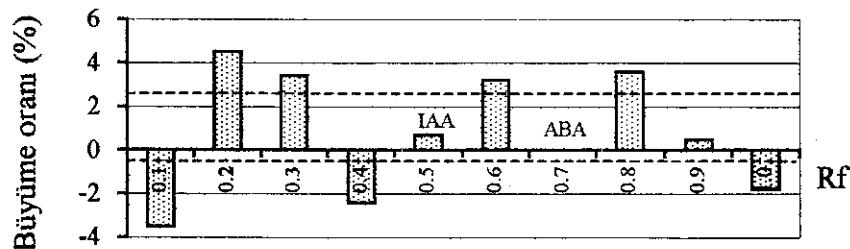
Şekil 4.4. Birinci flaşın 2. gelişme dönemindeki şapka dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA benzeri maddeler
(Kesik çizgiler $t=5\%$ olasılıkla tanığın güven sınırlarını göstermektedir)

Şekil 4.4.'den de anlaşılacağı gibi $Rf_{0.3}$ bandı dışındaki bütün bantlarda, ABA gibi engelleyici etki gösteren maddelere rastlanmış ancak ABA-benzeri maddeler % 14 büyümeyenin engellendiği ve güven sınırları dışında bulunan $Rf_{0.7}$ bandında bulunmuştur. Diğer bantlarda saptanan ABA gibi engelleyici etki gösteren maddeler, güven sınırları içerisinde kaldığından, önem arz etmemektedir. Yulaf koleoptil testi sonucu $Rf_{0.7}$ bandında saptanan ABA, HPLC'de saptanan ABA'ya ilişkin bulguları desteklemektedir.



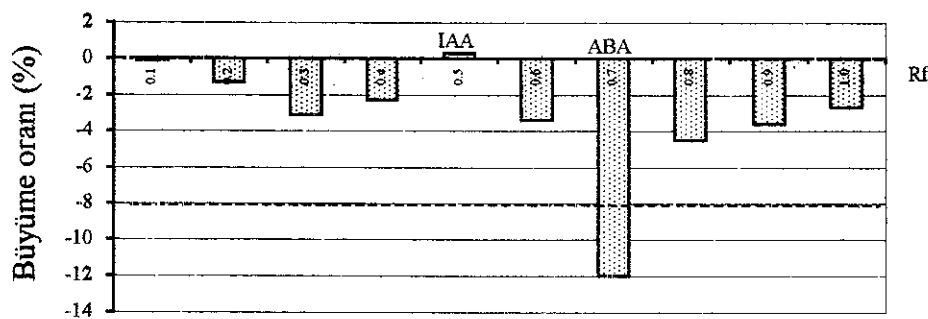
Şekil 4.5. Birinci flaşın 4 mantar gelişme dönemindeki Sap-II dokusundan elde edilen örneklerde, Yulaf Koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA benzeri maddeler

Birinci flaşın 4. mantar gelişme dönemindeki Sap-II dokusunda, Şekil 4.5 görüldüğü gibi bütün bantlarda engelleyicilere rastlanmış ancak sadece $Rf_{0.9}$ bandı güven sınırları dışında kalmıştır. $Rf_{0.7}$ bandında engelleyici saptanmasına rağmen, koleoptildeki büyümeyi yavaşlatıcı etkisi, güven sınırları içinde yer almıştır.



Şekil 4.6. Birinci flaşın 4 mantar gelişme dönemindeki şapka dokusundan elde edilen örneklerde, Yulaf Koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA benzeri maddeler

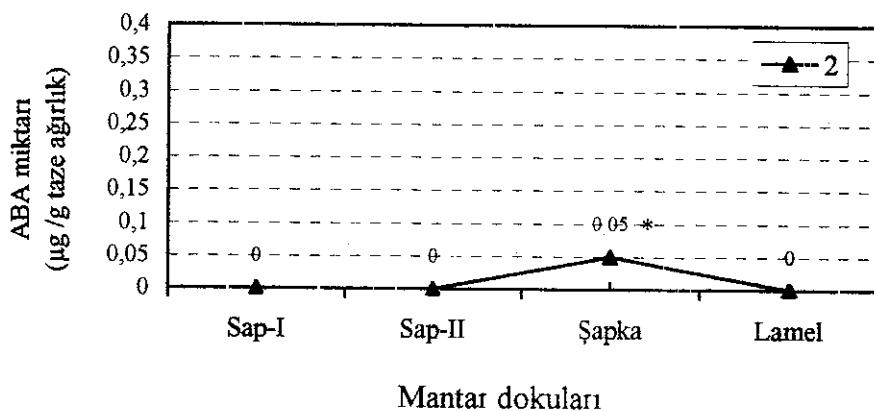
Şapka dokusundan elde edilen örneklerde, birinci flaşın 4 gelişme döneminde $Rf_{0.1}$, $Rf_{0.4}$ ve $Rf_{0.9}$ bantlarında, güven sınırları dışında olacak şekilde ABA olmayan engelleyicilere rastlanmıştır (Şekil 4.6). Bu bantlardan en fazla büyümeyi geciktirici etki $Rf_{0.1}$ bandında (% 3.8) saptanmıştır



Şekil 4.7. Birinci flaşın 5 mantar gelişme dönemindeki lamel dokusundan elde edilen örneklerde, Yulaf Koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA benzeri maddeler

Lamel dokusuna ilişkin sonuçlar Şekil 4.7'de verilmiştir. Bu şekilde de görüldüğü gibi $Rf_0.7$ bandında saptanan ABA-benzerleri, büyümeyi % 12 oranında azaltmıştır. $Rf_{0.5}$ bandının haricinde diğer bantlarda da engelleyicilere rastlanmış ancak büyümeyi geciktirme oranları güven sınırları içinde kalmıştır

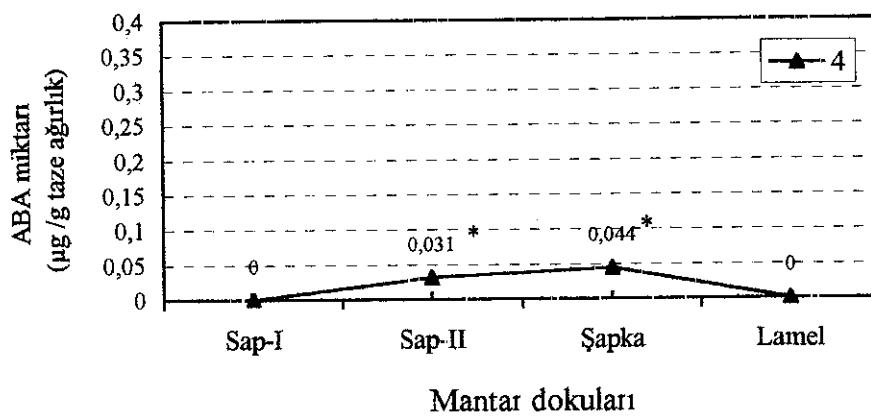
4.1.1.3. İkinci flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen HPLC sonuçları



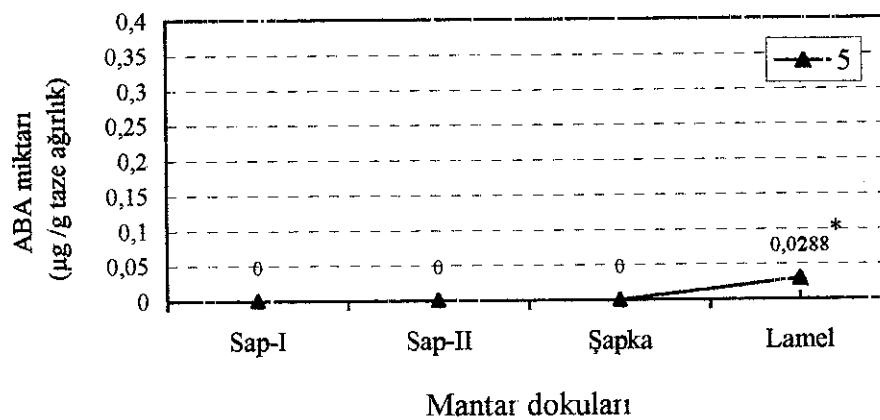
Şekil 4.8. İkinci flaşın 2 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları
LSD_{%1}: 0,004

İkinci flaş içerisindeki 2 gelişme dönemine ait mantar dokularında HPLC'de yapılan analiz sonucu (Şekil 4.8) mantarın Şapka dokusunda ABA miktarı $0,05 \mu\text{g/g}$ saptanmıştır. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu bu doku, diğer dokulardan farklı bir grup oluşturmuştur. Birinci flaşta olduğu gibi ikinci flaşta da Şapka dokusu dışındaki dokularda ABA'ya rastlanmamıştır. Bulgularımız, gerek mantar dokuları gerekse ABA miktarı açısından, birinci flaş ile paralellik arz etmektedir.

İkinci flaşın 4 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından elde sonuçlar Şekil 4.9'da verilmiştir. Şekil 4.9'da görüleceği gibi sadece Sap-II ve Şapka dokularında sırasıyla $0,031 \mu\text{g/g}$ ve $0,044 \mu\text{g/g}$ ABA saptanmış ve bu iki doku yapılan istatistiksel analiz sonucu aynı grub içinde yer almıştır. Şapka zarının yarısının yırtıldığı 4 gelişme dönemine ilişkin bu sonuçlar, bir önceki örnekte olduğu gibi birinci flaştaki aynı dönemde benzerlik göstermiştir. Sap-II ve Şapka dokularına karşın Sap-I ve Lamel dokularında bu aşamada ABA saptanmamıştır.



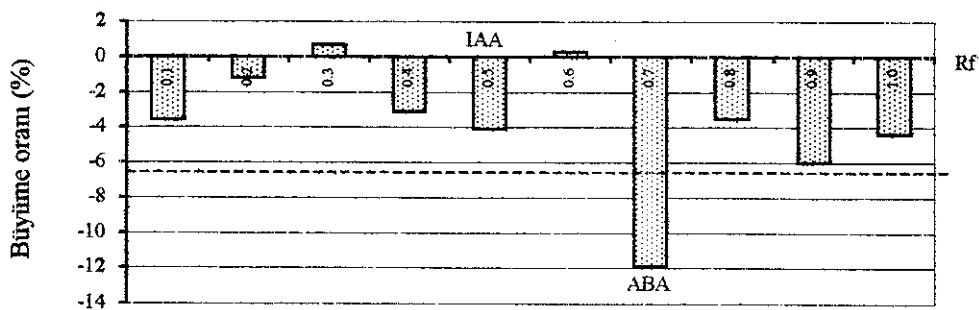
Şekil 4.9. İkinci flaşın 4 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları
LSD_{%1}: 0 027



Şekil 4.10. İkinci flaşın 5 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları
LSD_{%1}: 0 156

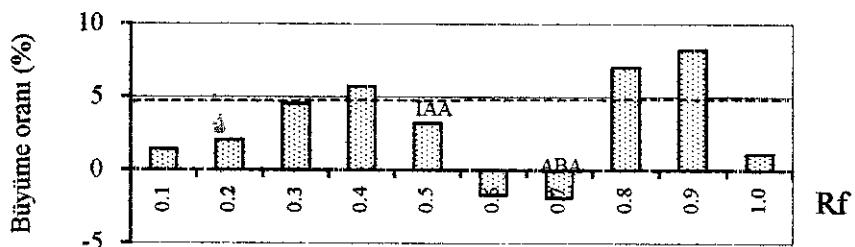
İkinci flaşın 5 mantar gelişme dönemine ilişkin HPLC'de saptanan ABA sonuçları Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Bu şekilden de anlaşılacağı gibi mantarın Sap-I, Sap-II ve Şapka dokularında ABA'ya rastlanmazken, Lamel dokusunda saptanan 0 288 µg/g ABA diğer dokulara göre faktılığı önemlilik arz etmiştir. Şapka zarının tamamen açıldığı ve lamelerin bütünüyle görüldüğü (5 gelişme aşaması) bu aşamada, lamellerde saptanan ABA miktarı, aynı flaş içerisinde diğer gelişme dönemlerindeki dokularla kıyaslandığında, en yüksek değere ulaşmıştır.

4.1.1.4. İkinci flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen Yulaf koleoptil testi sonuçları



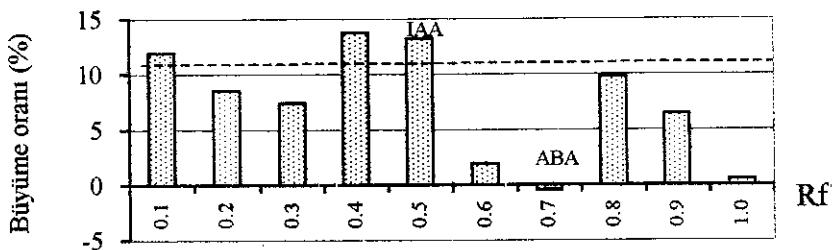
Şekil 4.11. İkinci flaşın 2. gelişme dönemindeki Şapka dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA benzeri maddeler

Şapka dokusunda $Rf_{0.3}$ ve $Rf_{0.6}$ dışındaki bantlarda, engelleyiciler saptanmış ancak $Rf_{0.7}$ bandı güven sınırları dışında kalarak önemlilik arz etmiştir (Şekil 4.11).



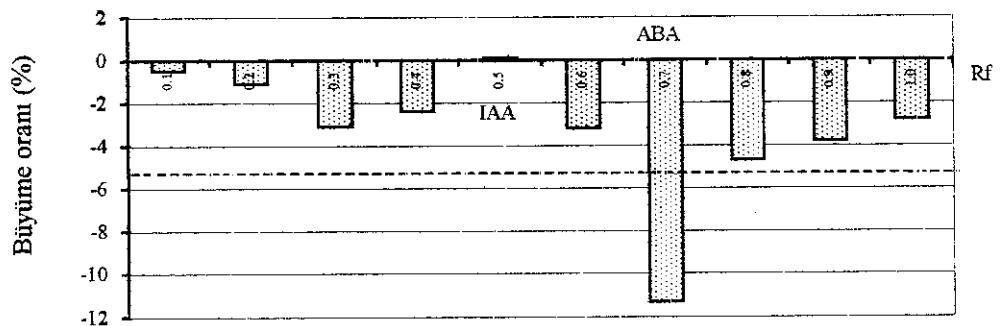
Şekil 4.12. İkinci flaşın 4. gelişme dönemindeki Sap-II dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA benzeri maddeler

Kültür mantarında ikinci flaşın 4 gelişme dönemindeki Sap-II dokusunda saptanan ABA-benzerlerine ilişkin yulaf koleoptil testi sonuçları Şekil 4.12'de verilmiştir. Şekil 4.12'den de anlaşılacağı gibi $Rf_{0.6}$ ve $Rf_{0.7}$ de büyümeye yaklaşık % 2 oranında engellenmiş ancak $Rf_{0.7}$ bandında saptanan ABA-benzerleri güven sınırları içinde yer almış ve önemsiz bulunmuştur.



Şekil 4.13. İkinci flaşın 4 gelişme dönemindeki Şapka dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA benzeri maddeler

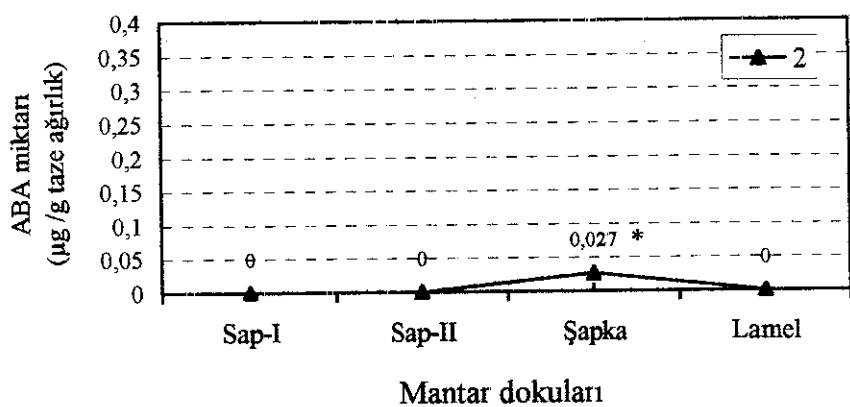
Şapka zarının yarısının açılmasıyla lamellerin göründüğü 4 gelişme dönemindeki Şapka dokusunda (Şekil 4.13), $Rf_{0.7}$ bandında koleoptillerdeki büyümeye ömensiz düzeyde engellenmiştir. Çok az miktarda tespit edilen ABA-benzeri, yulaf koleoptillерinde büyümeye üzerindeki engeli güven sınırları içinde kalmıştır



Şekil 4.14. İkinci flaşın 5 gelişme dönemindeki Lamel dokusundan elde edilen örneklerde, Yulaf Koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler

Mantarda 5 gelişme dönemindeki Lamel dokularında, $Rf_{0.5}$ dışındaki bantlarda engelleyiciler, yulaf koleoptillерinde genelde büyümeyi engellemiştir (Şekil 4.14). Bununla birlikte $Rf_{0.7}$ bandındaki ABA-benzerlerinin varlığı, büyümeyi % 11 oranında engelleyerek diğer bantlardan belirgin bir farklılık oluşturmuştur

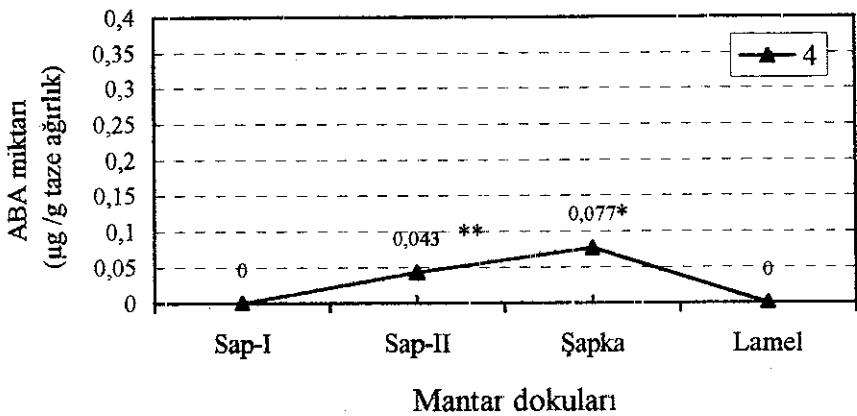
4.1.1.5. Üçüncü flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen sonuçlar HPLC sonuçları



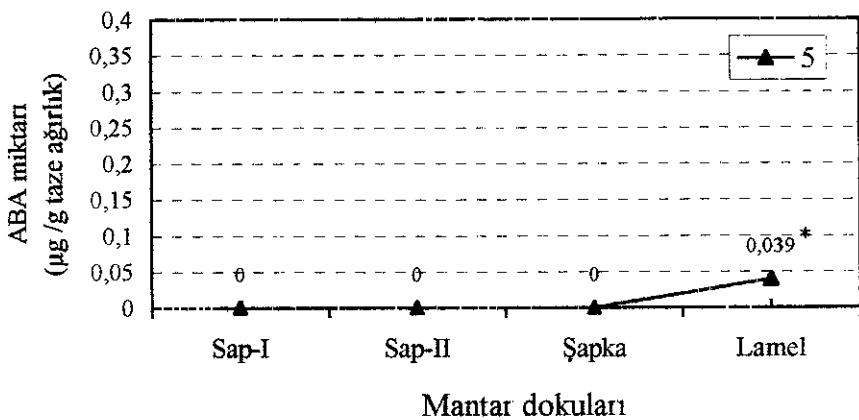
Şekil 4.15. Üçüncü flaşın 2 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları
LSD%₁: 0,004

Üçüncü flaş içerisinde Şapka zarının tamamen kapalı olduğu 2 mantar gelişme dönemindeki dokulara ilişkin sonuçlar Şekil 4 15'de gösterilmiştir. Bu şekilden de anlaşılabileceği üzere yalnızca Şapka dokusunda ($0,027 \mu\text{g/g}$) ABA saptanmış ve bu dokunun diğer dokular farklılığı önemli bulunmuştur. Sap-I, Sap-II ve Lamel dokusunda ABA'ya rastlanmamıştır.

Üçüncü flaşın 4 mantar gelişmesine ilişkin sonuçlar Şekil 4 16'da gösterilmiştir. Şekilden de anlaşılabileceği gibi mantar dokularından Sap-II ve şapkada saptanan, sırasıyla $0,043 \mu\text{g/g}$, $0,077 \mu\text{g/g}$ ABA miktarları, Sap-I ve Lamel dokularına göre farklılığı önemli bulunmuştur.



Şekil 4.16. Üçüncü flaşın 4. mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları
LSD_{%1}: 0,032



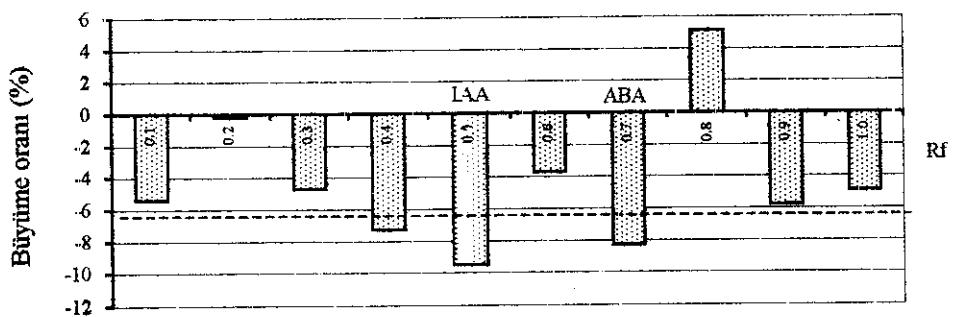
Şekil 4.17. Üçüncü flaşın 5. mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları
LSD_{%1}: 0,007

Şekil 4.17'de, üçüncü flaş içerisinde Şapka zarının bütünüyle açıldığı 5 mantar gelişme dönemine ilişkin bulgular gösterilmiştir. Bu şimdiden de anlaşılacağı gibi mantarda yalnızca Lamel dokusunda ABA saptanmış ($0,039 \mu\text{g/g}$) ve diğer dokulardan farklılığı önemli bulunmuştur.

Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak farklı mantar gelişme dönemlerindeki dokulardan elde edilen HPLC sonuçları göstermiştir ki her üç flaşta da aynı

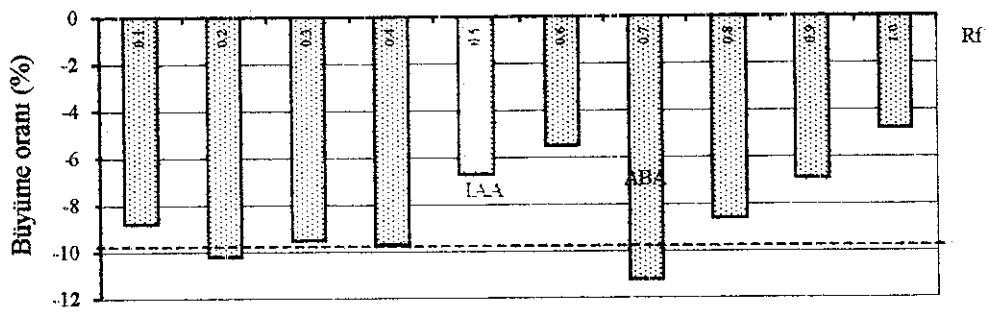
gelişme döneminde ve aynı dokular değişen miktarlarda ABA saptanmış flaşlar bir bakıma tekerrür özelliği göstermiştir

4.1.1.6. Üçüncü flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen yulaf koleoptil testi sonuçları



Şekil 4.18. Üçüncü flaşın 2 gelişme dönemindeki Şapka dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler

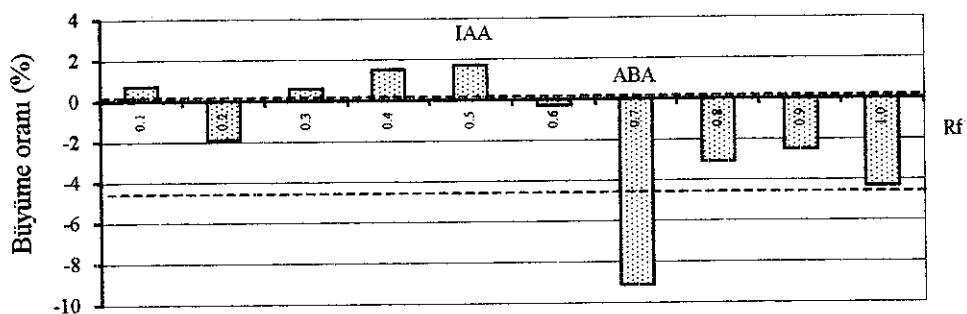
Yulaf koleoptil testi sonucu yapılan ölçümelerde Şekil 4.18'de de görüleceği gibi, $Rf_{0.8}$ bandının dışında tüm bantlarda engelleyicilere rastlanmış, $Rf_{0.5}$ ve $Rf_{0.7}$ bantları güven sınırları dışında kalarak önemlilik göstermiştir



Şekil 4.19. Üçüncü flaşın 4 gelişme dönemindeki Sap-II dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler

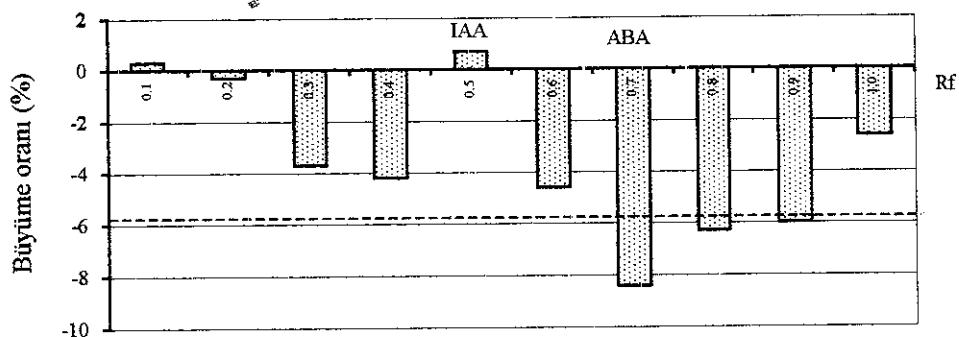
Mantarın 4 gelişme dönemindeki Sap-II dokunda yulaf koleoptil sonucu elde edilen bulgular Şekil 4.19'da gösterilmiştir. Şekilden de anlaşılacağı gibi bütün bantlarda büyümeyi geciktirici etki görülmüş, $Rf_{0.2}$ ve $Rf_{0.7}$ bandındaki bu etki güven sınırları

dışında kalmıştır. Aynı örneğe ilişkin HPLC sonuçları $Rf_{0.7}$ bandındaki kalitatif değerleri desteklemektedir.



Şekil 4.20. Uçüncü flaşın 4. gelişme dönemindeki Şapka dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler

Şapka dokusuna ilişkin sonuçlar Şekil 4 20'de verilmiştir. Bu şekilde de görüleceği gibi $Rf_{0.7}$ bandında, % 9'luk yulaf koleoptillerinde büyümeyi geciktirici etki önemli bulunmuş



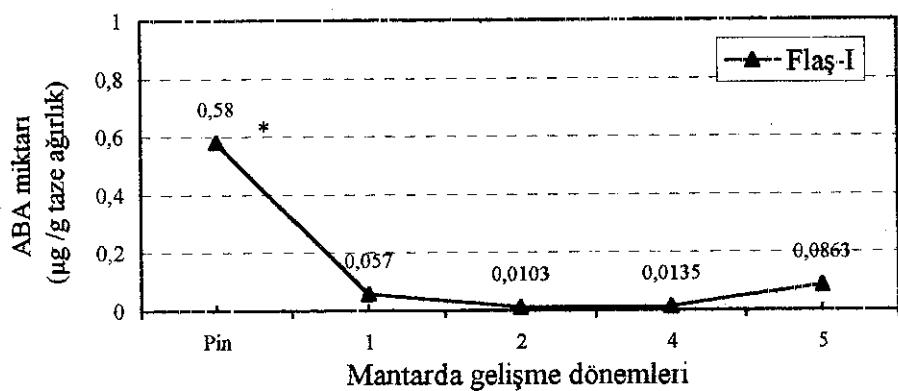
Şekil 4.21. Uçüncü flaşın 5. gelişme dönemindeki Lamel dokusundan elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler

Uçüncü flaş içerisinde şapkada lamellerin tamamen göründüğü 5 gelişme dönemindeki Lamel dokusunda, engelleyiciler saptanmıştır (Şekil 4 21). Şekil 4 21'de de görüldüğü gibi $Rf_{0.7}$ 'de ABA-benzeri ve $Rf_{0.8}$ bandında engelleyicilerin büyümeye üzerine geciktirici etkisi önemli bulunmuş

4.1.2. Kültür mantarında flaşlar içerisindeki farklı gelişme dönemlerinden elde edilen sonuçlar

Kültür mantarında her bir flaş içerisinde, ABA hormonun mantarda farklı gelişme dönemlerindeki miktarı ve değişimi saptanmış, bulgular flaşlara bağlı olarak şekillerle ifade edilmiştir. Bu bölümde mantar dokularından ziyade, mantarın farklı gelişme dönemlerindeki toplam ABA miktarı dikkate alınmıştır.

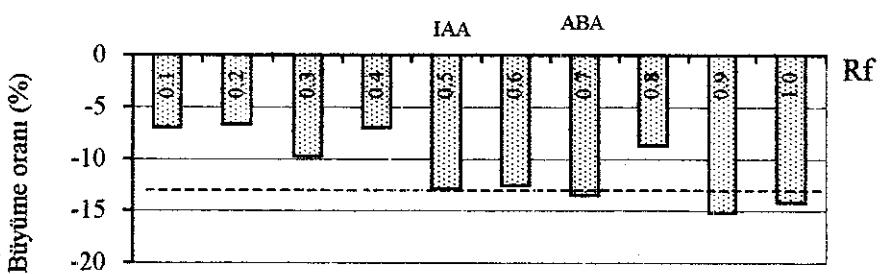
4.1.2.1. Birinci flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin HPLC sonuçları



Şekil 4.22. Kültür mantarında birinci flaşta, mantarın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları
LSD_{1%}: 0 1745

Birinci flaş içerisinde mantarın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde ABA'ya ilişkin sonuçlar Şekil 4.22'de gösterilmiştir. Bu şeilden de anlaşılacağı gibi yaklaşık 2-3 mm çapındaki mantar taslaqlarının olduğu pin dönemindeki ABA içeriği, (0,58 µg/g) diğer bütün dönemlerden yüksek bulunmuş ve LSD testi sonucu farklılığı önemli bulunarak ayrı bir grup oluşturmuştur. ABA içeriğinde, pin döneminden sonra mantarın 1 gelişme dönemine doğru (0,057 µg/g) hızlı bir düşüş gözlenmiş, bu düşüş 2 gelişme döneminde (0,0103 µg/g) az miktarda devam ederek, Şapka zarının tamamen açıldığı 5 gelişme döneminde (0,0863 µg/g) tekrar artmıştır.

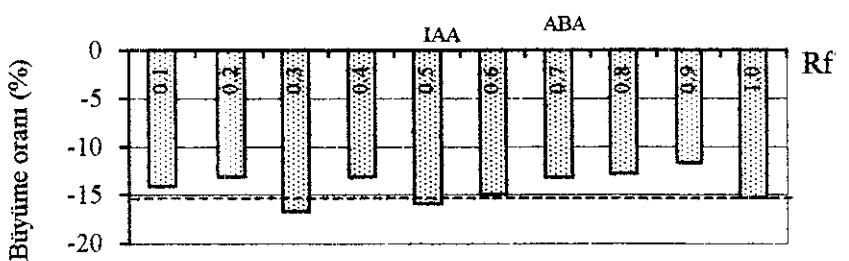
4.1.2.2. Birinci flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin Yulaf koleoptil testi sonuçları



Şekil 4.23. Birinci flaşın pin döneminden elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler

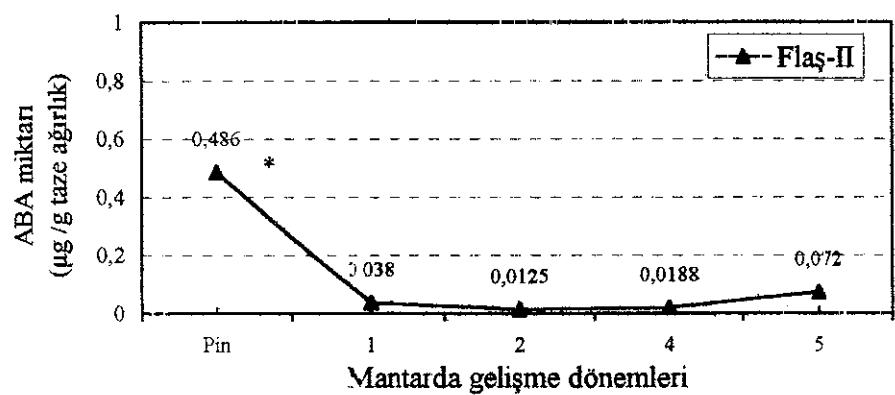
Birinci flaşta pin dönemine ilişkin yulaf koleoptil testi sonuçları Şekil 4.23'de verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi $Rf_{0.7}$, $Rf_{0.9}$ ve $Rf_{1.0}$ bantlarında engelleyiciler güven sınırları dışında kalarak önemlilik arz etmiştir. Bununla birlikte bütün bantlarda büyümeyi geciktirici yönde engelleyicilere rastlanmış ancak değerler güven sınırları içinde kalmıştır. $Rf_{0.7}$ deki bulgular HPLC sonuçlarını desteklemiştir.

Birinci flaşın 1 gelişme dönemine ilişkin sonuçlar Şekil 4.23'de verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi bütün bantlarda engelleyicilere rastlanmış fakat $Rf_{0.3}$ ve $Rf_{0.5}$ bantlarındaki bulgular önemlilik arz etmiştir. Bütün bantlarda büyümeye ortalama olarak % 13 oranında engellenmiştir.



Şekil 4.24. Birinci flaşın 1 gelişme döneminden elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler

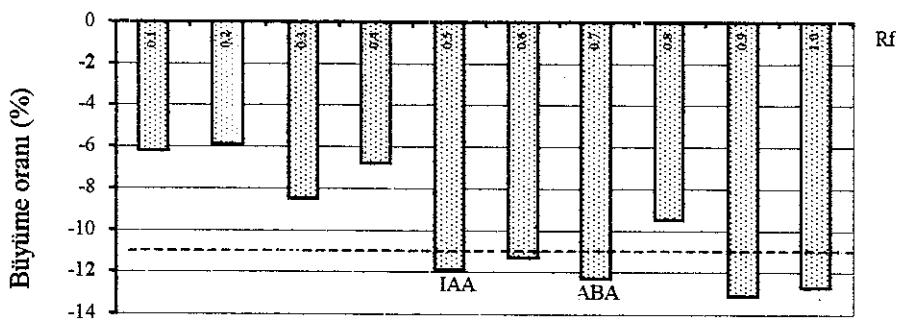
4.1.2.3. İkinci flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin HPLC sonuçları



Şekil 4.25. Kültür mantarında ikinci flaşta, mantarın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları
LSD_{0.01}: 0,1092

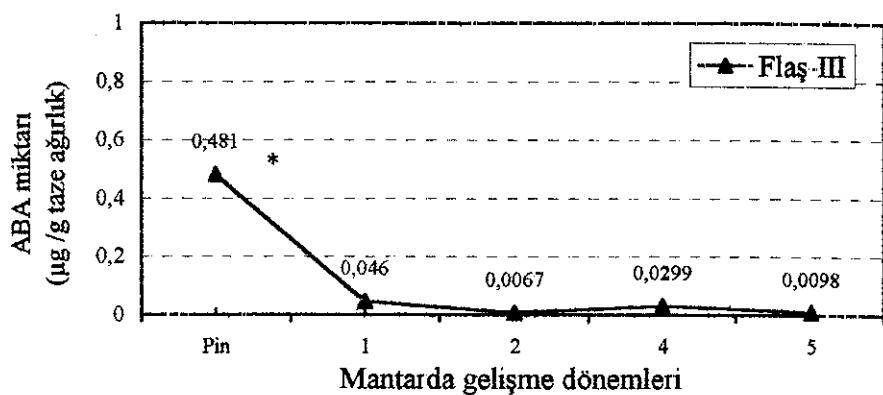
Kültür mantarında 2 flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde, ABA miktarını gösteren sonuçlar Şekil 4.25'de gösterilmiştir. Şekilde de görüleceği gibi mantarın pin aşamasının oluşturduğu gelişme dönemi diğer dönemlerden daha yüksek ABA içermiştir ($0,486 \mu\text{g/g}$) ve farklılığı önemli bulunmuştur. Buna karşın mantarın 1., 2., 4. ve 5. gelişme dönemlerindeki ABA miktarları, istatistiksel anlamda aynı grup içerisinde değerlendirilmiştir. İkinci flaş içerisinde elde edilen araştırma bulguları, birinci flaş bulguları ile uyum içerisinde bulunmuştur.

4.1.2.4. İkinci flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin Yulaf koleoptil testi sonuçları



sınırları dışında kalarak, önemli bulunmuştur Bunlar ABA olmayıp farklı engelleyici etki gösteren diğer maddelerdir

4.1.2.5. Üçüncü flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin HPLC sonuçları



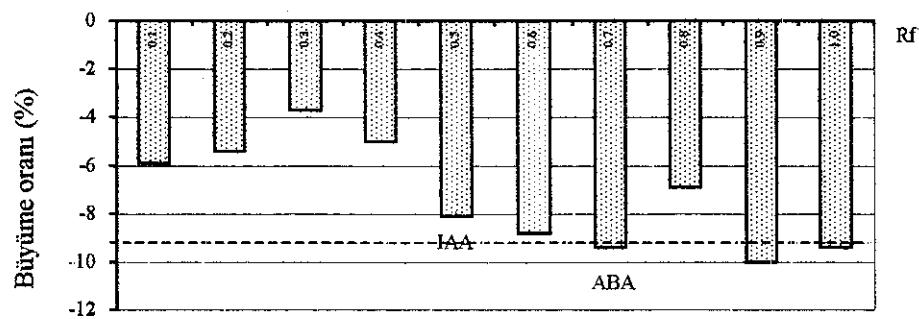
Şekil 4.28. Kültür mantarında üçüncü flaşta, mantarın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları
LSD%₁: 0 0836

Üçüncü flaş içerisindeki mantarın farklı gelişme dönemlerinde, HPLC'de saptanan ABA miktarları Şekil 4.28'de verilmiştir Bu sekilden de anlaşılacağı gibi pin dönemi ABA miktarı en yüksek dönem olmuş ve diğer dönemlerden farklılığı istatistiksel anlamda önemlilik arz etmiştir Pin döneminden sonra mantarın 1 gelişme döneminde içerisinde ABA miktarı düşüş göstermiş ve 5 gelişme dönemine kadar az bir dalgalanma ile devam etmiştir Bulgular 1 ve 2 flaşla kıyaslandığında, her iki flaşla da paralellik göstermiştir

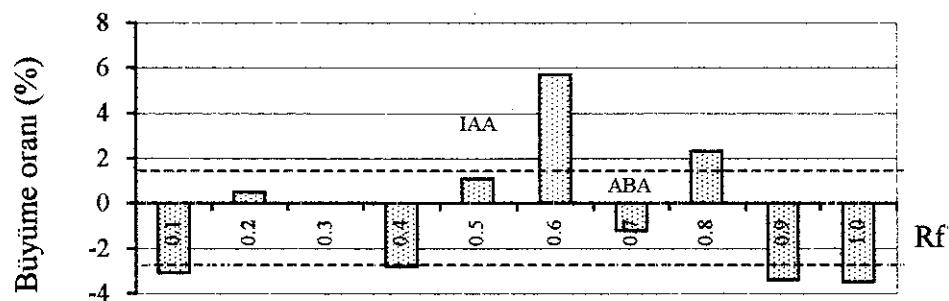
4.1.2.6. Üçüncü flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin Yulaf koleoptil testi sonuçları

Üçüncü flaşın pin dönemine ilişkin yulaf koleoptil sonuçları Şekil 4.29'da gösterilmiştir Sekilden de görüleceği gibi bütün bantlarda engelleyicilere rastlanmış

ancak $Rf_{0.7}$, $Rf_{0.9}$ ve $Rf_{1.0}$ bantlarından elde dilen değerler güven sınırları dışında kalarak önemli bulunmuştur. $Rf_{0.7}$ 'ye ilişkin bulgular HPLC sonuçlarını desteklemektedir (Bkz Şekil 4.28, Şekil 4.29)



Şekil 4.29. Üçüncü flaşın pin döneminden elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler



Şekil 4.30. Üçüncü flaşın 1 gelişme döneminden elde edilen örneklerde, yulaf koleoptil testi sonucu bulunan ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddeler

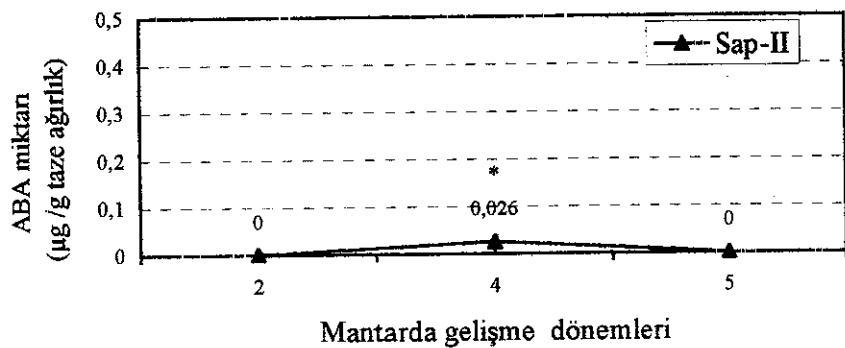
Üçüncü flaş içerisindeki 1 gelişme döneminden elde edilen sonuçlar Şekil 4.30'da verilmiştir. Bu şekilde de görüldüğü gibi bazı bantlarda engelleyicilere rastlanmış ancak $Rf_{0.1}$, $Rf_{0.9}$ ve $Rf_{1.0}$ bantları güven sınırları dışında kalmıştır. $Rf_{0.7}$ bandında da ABA-benzeri saptanmış ancak önemli bulunmamıştır.

4.1.3. Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak mantar dokularının, mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen sonuçları

Kültür mantarında her bir flaş dönemi içerisinde, dokularda saptanan ABA miktarının, mantarda gelişme dönemlerindeki değişimi, grafiklerle ifade edilmiştir. Bu bölümde tek bir dokuda saptanan ABA ile mantarda farklı gelişme dönemlerindeki değişiminin genel bir değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

4.1.3.1. Birinci flaş içerisinde mantar dokularının mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen HPLC sonuçları

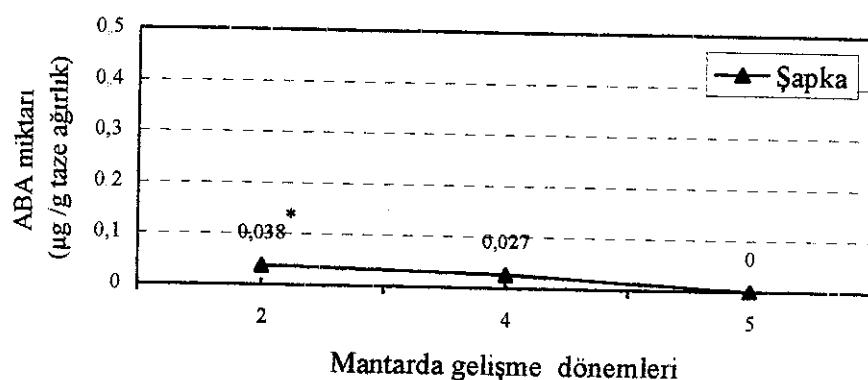
Her üç flaşta da Sap-I dokusu içerisinde ABA hormonu saptanmadığından, bununla ilgili grafikler verilmemiştir. Bu bölümde flaşlar içerisinde Sap-II, Şapka ve Lamel dokularına ilişkin sonuçlar değerlendirilmiştir.



Şekil 4.31. Birinci flaşta Sap-II dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları
LSD%₁: 0,011

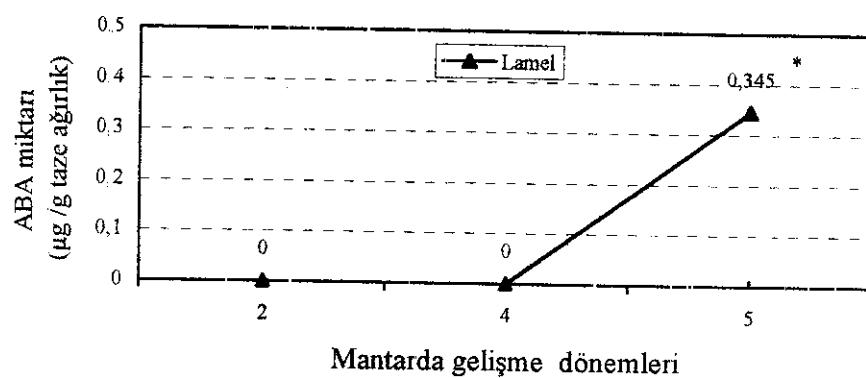
Mantarda üç farklı gelişme döneminde Sap-II dokusunda saptanan ABA miktarları Şekil 4.31'de verilmiştir. Bu şekilden de anlaşılacağı gibi Sap-II dokusu, Şapka zarının yarısının açıldığı 4 gelişme döneminde 0,026 µg/g olarak saptanan ABA miktarı, diğer iki gelişme döneminden farklı bir grup oluşturmuş ve bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Buna karşın 4 gelişme döneminin aksine 2 ve 5 gelişme dönemlerinde, Sap-II dokusunda ABA saptanamamıştır.

Şapka dokusuna ilişkin ABA sonuçları Şekil 4.32'de verilmiştir. Bu şeviden den de anlaşılacağı gibi Şapka dokusunda saptanan ABA miktarı, 2 gelişme döneminde 0 038 µg/g 'dan, 4 gelişme döneminde 0 027 µg/g 'a düşmüş ve 5 gelişme döneminde



Şekil 4.32. Birinci flaşta Şapka dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları LSD%1 : 0 029

bu değer sıfıra ulaşmıştır. Araştırma bulgularımız mantarda gelişme döneminin ilerlemesiyle birlikte, şapkadaki ABA miktarında bir düşüş olduğunu göstermiştir.

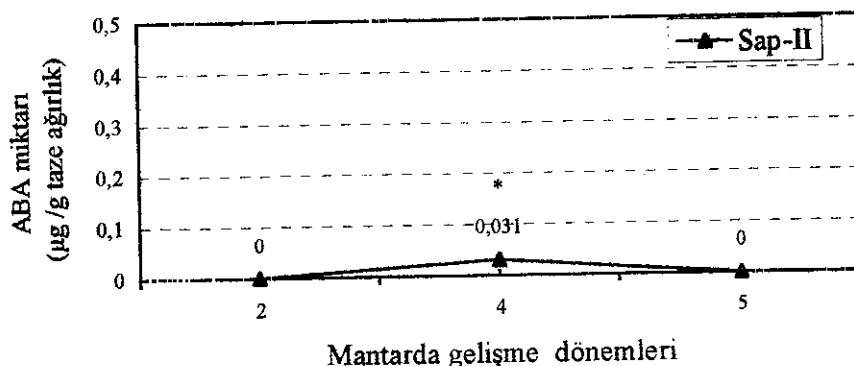


Şekil 4.33. Birinci flaşta Lamel dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları LSD%1 : 0 114

Lamel dokusunun mantarda gelişme dönemlerine ilişkin sonuçları Şekil 4.33'de gösterilmiştir. Bu şekilde de görüleceği, gibi 2 ve 4 gelişme dönemlerinde Lamel

dokusunda ABA'ya rastlanmazken, lamellerin tamamen göründüğü 5 gelişme döneminde, lamellerde ABA miktarında yüksek bir artış saptanmış ($0.345 \mu\text{g/g}$), diğer gelişme dönemleriyle farklılığı önemli bulunmuştur

4.1.3.2. İkinci flaş içerisinde mantar dokularının, mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen HPLC sonuçları

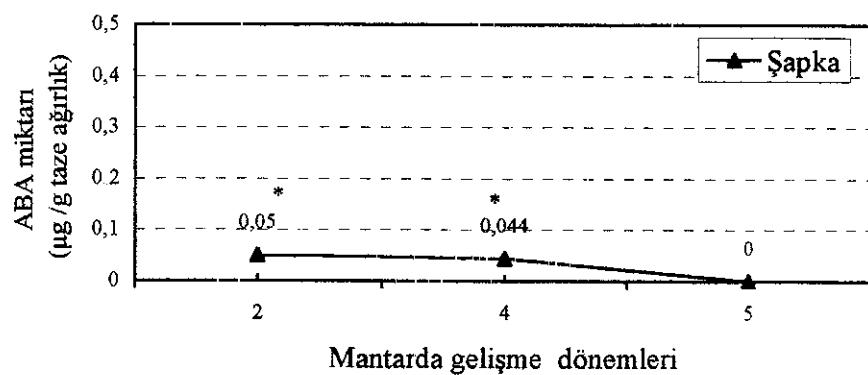


Şekil 4.34. İkinci flaşta Sap-II dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları LSD%1 0 029

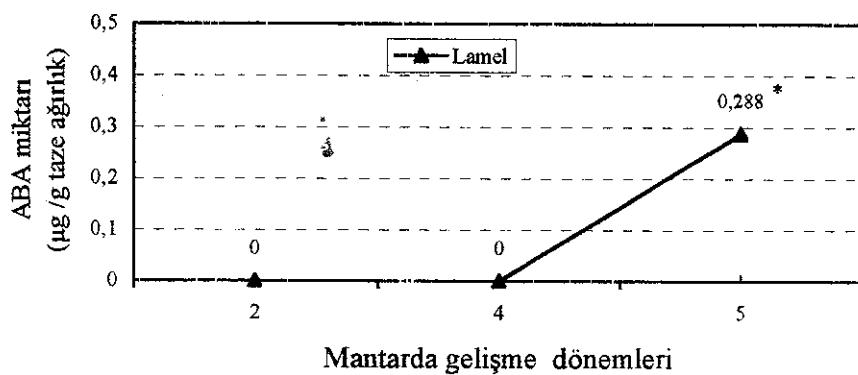
Sap-II dokunun farklı gelişme dönemlerine ilişkin HPLC'de saptanan ABA sonuçları Şekil 4.34'de verilmiştir Mantarda 2 ve 5 gelişme dönemlerinde ABA saptanmazken, 4 gelişme döneminde saptanan ABA miktarının ($0.031 \mu\text{g/g}$) farklılığı, diğer dönemlere göre istatistiksel olarak önemli bulunmuştur Buradan elde edilen bulgular birinci flaş dönemindeki sonuçlarla paralellik arz etmektedir.

İkinci flaş içerisinde Şapka dokusundan elde edilen sonuçlar Şekil 4.35'de gösterilmiştir Şekilde görüldüğü gibi Şapka dokusundan 2 ve 4 gelişme dönemlerinde saptanan ABA miktarları sırasıyla $0.050 \mu\text{g/g}$ ve $0.044 \mu\text{g/g}$ olarak saptanmış ve 5 gelişme döneminde ABA miktarı sıfıra inmiştir Yapılan LSD%1 testi sonucu 2 ve 4 gelişme dönemleri aynı grup içinde yer almış ve 5 gelişme dönemine göre farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur Buradan elde edilen sonuçlar da

birinci flaş dönemindeki Şapka dokusundan elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir



Şekil 4.35. İkinci flaşta Şapka dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları $LSD_{\%1} : 0,02$

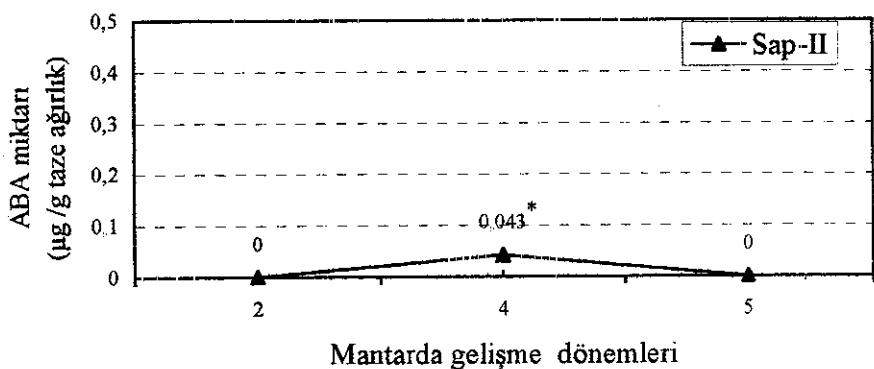


Şekil 4.36. İkinci flaşta Lamel dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları $LSD_{\%1} : 0,2$

Lamel dokusuna ilişkin sonuçlar Şekil 4.36'da verilmiştir. Bu şimdiden de anlaşılmıştır 2 ve 4 gelişme dönemlerinde Lamel dokusunda ABA saptanamamış ancak 5 gelişme döneminde ABA miktarında yüksek bir artış tespit edilmiştir (0,288 µg/g). Şapka zarının tamamen açıldığı 5 gelişimdeki Lamel dokusunda saptanan bu artışın, diğer dönemlere göre olan farklılığı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Buradan elde edilen sonuçlar, benzer şekilde Sap-II ve Şapka dokularında olduğu gibi birinci flaş içerisindeki gelişme dönemleriyle paralellik göstermiştir

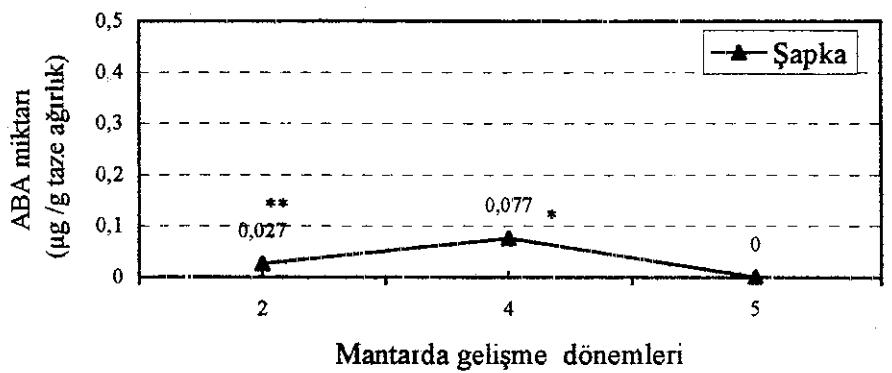
4.1.3.3. Üçüncü flaş içerisinde mantar dokularının, mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen HPLC sonuçları



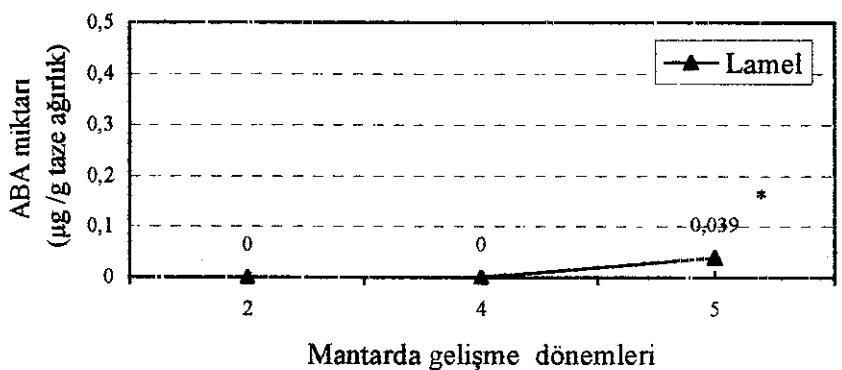
Şekil 4.37. Üçüncü flaşta Sap-II dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları
LSD_{0.01} : 0.033

Üçüncü flaş içerisinde Sap-II dokusuna ilişkin elde edilen sonuçlar, Şekil 4.37'de verilmiştir. Şekilden de anlaşılacağı gibi Sap-II dokusunda, sadece 4 gelişme dönemi içerisinde ABA saptanmış ve diğer gelişme dönemlerine göre farklılığı önemli bulunmuştur. Buradan elde edilen sonuçlarda, gerek birinci gerekse ikinci flaşın tekrarı biçiminde olmuştur

Üçüncü flaş içerisinde, Şapka dokusunun farklı gelişme dönemlerindeki ABA miktarlarıyla ilişkili sonuçlar Şekil 4.38'de gösterilmiştir. Bu sekilden de görüldüğü gibi 2 ve 4 gelişme döneminde Şapka dokularında ABA saptanmış (sırasıyla 0.027 µg/g, 0.077 µg/g) ve gelişme dönemleri arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Mantarda 4 gelişme dönemi içerisinde Şapka dokusunda saptanan ABA, 2 ve 5 gelişme döneminden farklı bir grup oluşturmuştur. Mantarda 2 gelişme dönemindeki Şapka dokusunda saptanan ABA miktarı da 4. ve 5 gelişme dönemleri arasında kalarak ara bir grup oluşturmuş ve çift yıldızla gösterilmiştir



Şekil 4.38. Üçüncü flaşta Şapka dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları $\text{LSD}_{\%1} : 0,025$



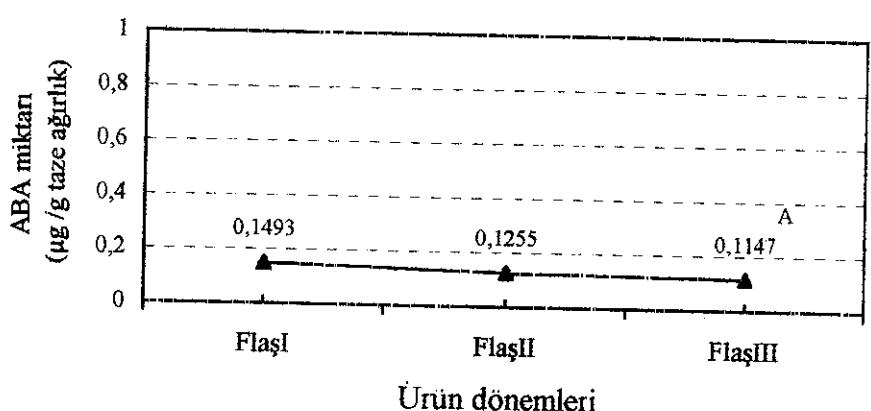
Şekil 4.39. Üçüncü flaşta Lamel dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ABA miktarları $\text{LSD}_{\%1} : 0,009$

Lamel dokusuna ilişkin sonuçlar Şekil 4.39'da verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi 2 ve 4 gelişme döneminde Lamel dokusunda ABA'ya rastlanmamış ancak 5 gelişme döneminde ABA saptanmıştır ($0,039 \mu\text{g/g}$). Bu dönemde saptanın ABA miktarının farklılığı da istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur. Bulgular, hem birinci hem de ikinci flaşaki sonuçlar ile paralellik göstermiştir.

4.1.4. Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak ABA miktarında meydana gelen değişimler

4.1.4.1. HPLC sonuçları

Kültür mantarında ürütün meydana geldiği ilk üç flaş döneminde, HPLC'de saptanan ortalama olarak ABA değişimine ilişkin sonuçlar, Şekil 4.40'da gösterilmiştir. Bu şekilde de görüleceği gibi Flaş-I, Flaş-II ve Flaş-III'de saptanın ABA miktarları



Şekil 4.40. Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanın ortalama ABA miktarları
LSD_{95%} : 0,084
A : Önemli değil

sırasıyla, 0,1493 $\mu\text{g/g}$, 0,1255 $\mu\text{g/g}$ ve 0,1147 $\mu\text{g/g}$ olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucu flaşlar arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır.

4.2. IAA Sonuçları

HPLC de yapılan analizler sonucunda, gerek misel ve mantar dokularında gerekse mantarın farklı gelişme dönemlerinde, IAA'ya ilişkin herhangi bir bulgu elde edilememiştir. Yulaf koleoptil testinin yapıldığı biyolojik testlerde de genelde IAA ve IAA-benzeri maddeler tespit edilememiştir, tespit edilebilir olanların çoğu da yapılan testi sonucu güven sınırları dışında kaldılarından, değerlendirilmeye alınmamıştır.

4.2.1. Yulaf koleoptil testi sonuçları

Yulaf koleoptil testi sonucu yapılan istatistiksel değerlendirmede, güven sınırları dışında kalarak önemli bulunan IAA ve IAA-benzerlerine ilişkin sonuçlar verilmiştir (Bkz. Şekil 4.6)

Birinci flaş içerisinde şapka zarının yarısının açıldığı 4 gelişme dönemindeki şapka dokusunda, yulaf koleoptil testi sonucu IAA gibi etki gösteren uyarıcılara rastlanmıştır. Şekil 4.6'da da görüldüğü gibi $Rf_{0.2}$, $Rf_{0.3}$, $Rf_{0.6}$ ve $Rf_{0.8}$ bantlarına ilişkin örnekler, yulaf koleoptillerindeki büyümeyi % 2'den fazla teşvik ederek güven sınırları dışında kalmıştır.

İkinci flaş içerisinde 4 gelişme dönemindeki mantarın Sap-II dokularından elde edilen sonuçlar verilmiştir (Bkz. Şekil 4.12). Bantların bir çoğu büyümeyi teşvik edici etkide bulunmakla birlikte, $Rf_{0.4}$, $Rf_{0.8}$ ve $Rf_{0.9}$ bantları büyümeyi % 4 oranında teşvik ederek önemli bulunmuştur.

Üçüncü flaş içerisinde şapka zarının yarısının açıldığı 4 gelişme dönemindeki şapka dokusuna ilişkin sonuçlar Bkz. Şekil 4.20'de gösterilmiştir. Bu sekilden de anlaşılabileceği gibi $Rf_{0.1}$, $Rf_{0.3}$, $Rf_{0.4}$ ve $Rf_{0.5}$ bantlarının büyümeyi teşvik edici yöndeki etkileri, önemli bulunmuştur.

Üçüncü flaş içerisinde nohut iriliğindeki 1 gelişme dönemindeki mantarlardan elde edilen yulaf koleoptil testi sonuçları, $Rf_{0.6}$ ve $Rf_{0.8}$ bantlarında büyümeyi teşvik edici yönde önemli bulunmuştur (Bkz Şekil 4 30). Şekil 4 30'da da görüleceği gibi özellikle $Rf_{0.6}$ daki IAA-benzerleri, % 6 oranında koleoptillerdeki büyümeyi teşvik ederek en yüksek etkiyi göstermiştir.

Buradan elde edilen sonuçlar göstermiştir ki IAA ve IAA-benzerleri daha çok mantarda şapka zarının yarısının yırtıldığı 4 gelişme döneminde, dokulardan da şapka da ortaya çıkmıştır. Yulaf koleoptil testinden de görüleceği gibi mantarda IAA hormonundan çok IAA gibi büyümeyi uyarıcı etki gösteren maddeler tespit edilmiş, dolayısıyla HPLC'de IAA'ya ilişkin beklenen sonuç alınamamıştır.

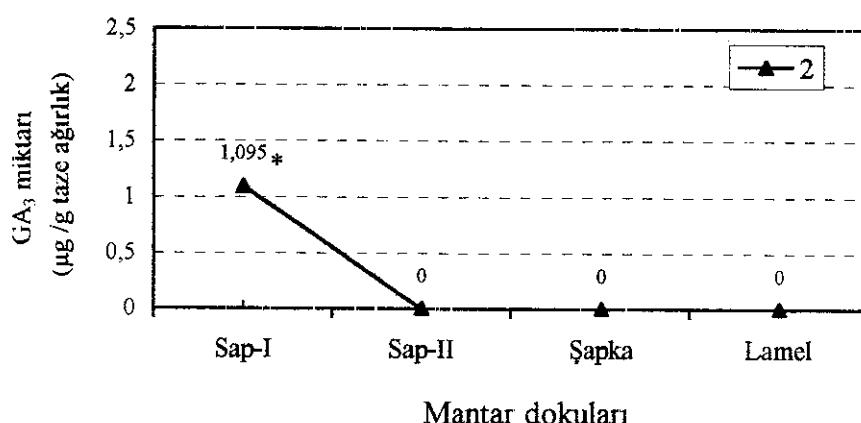
4.3. GA₃ Sonuçları

HPLC'de yapılan analizler sonucu, otoklavlanmış-bağday örneklerinde GA₃'e rastlanmazken, mantarda tohumluk materyali olarak kullanılan misel sardırılmış bağday örneklerinde, 3 412 µg/g GA₃ saptanmıştır.

4.3.1. Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak farklı mantar gelişme dönemlerindeki dokulardan elde edilen sonuçlar

Kültür mantarında her bir flaş dönemi içerisinde, mantarın farklı gelişme dönemleri dikkate alınarak, bu gelişme dönemlerindeki dokuların, GA₃ değişim ve miktarları saptanmış, sonuçlar şekillerle ifade edilmiştir.

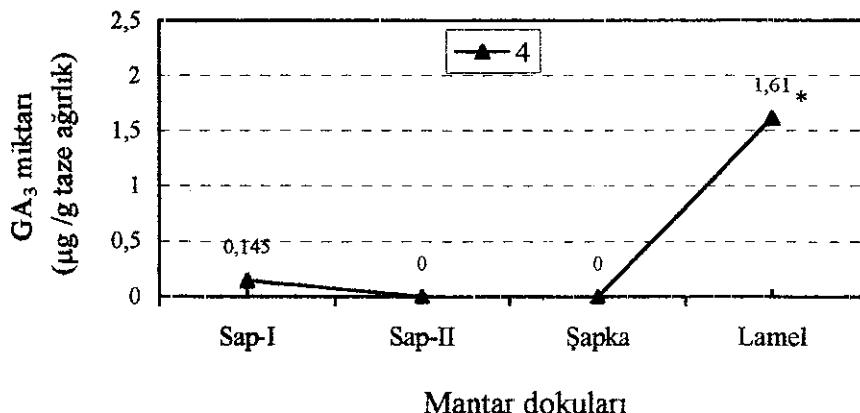
4.3.1.1. Birinci flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen HPLC sonuçları



Şekil 4.41. Birinci flaşın 2. mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları
LSD%1: 0 043

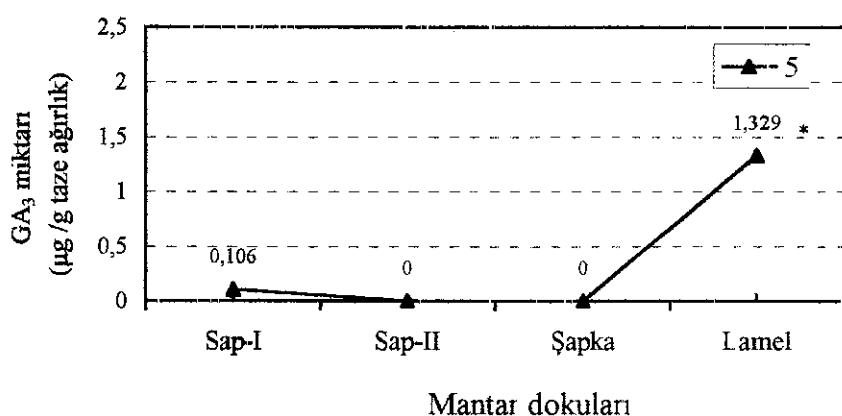
*: Ortalamalar arasında 0 01 düzeyindeki farklılıklar yıldızla gösterilmiştir

Birinci flaş içerisinde şapkanın tamamen kapalı olduğu 2 gelişme döneminin, farklı mantar dokularından elde edilen GA₃ sonuçları Şekil 4.41'de verilmiştir. Bu sekilden de anlaşılabileceği gibi yalnızca Sap-I dokusunda GA₃ saptanmış (1 095 µg/g) ve yapılan varyans analizi sonucu, Sap-I dokusunun diğer dokulara göre farklılığı önemli bulunmuştur. Sap-I dokusu dışında kalan diğer dokularda GA₃ saptanmamıştır.



Şekil 4.42. Birinci flaşın 4 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları
LSD%1: 0,34

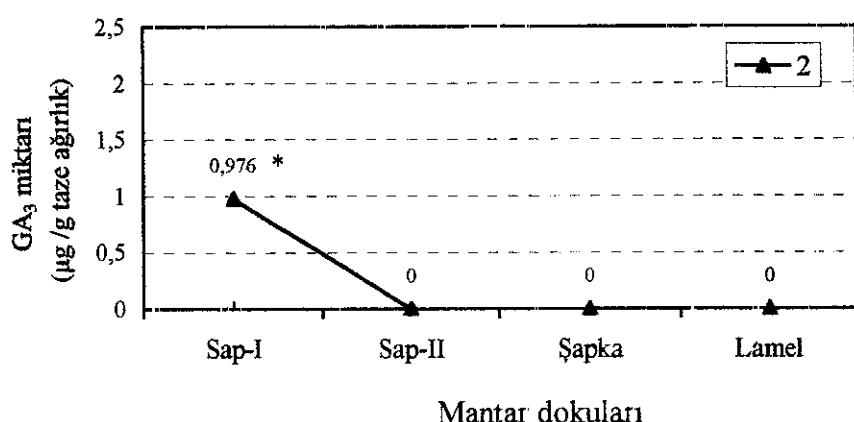
Birinci flaş içerisindeki 4 gelişme dönemine ilişkin dokulardaki GA₃ değişim ve miktarları, Şekil 4.42'de gösterilmiştir. Bu şekilde de görüleceği üzere, Sap-I dokusunda 0,145 µg/g GA₃ tespit edilirken, Sap-II ve Şapka dokularında saptanmamış, Lamel dokusunda ise 1,61 µg/g seviyesine ulaştiği tespit edilerek, diğer dokulardan farklılığı önemli bulunmuştur.



Şekil 4.43. Birinci flaşın 5 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları
LSD%1: 0,397

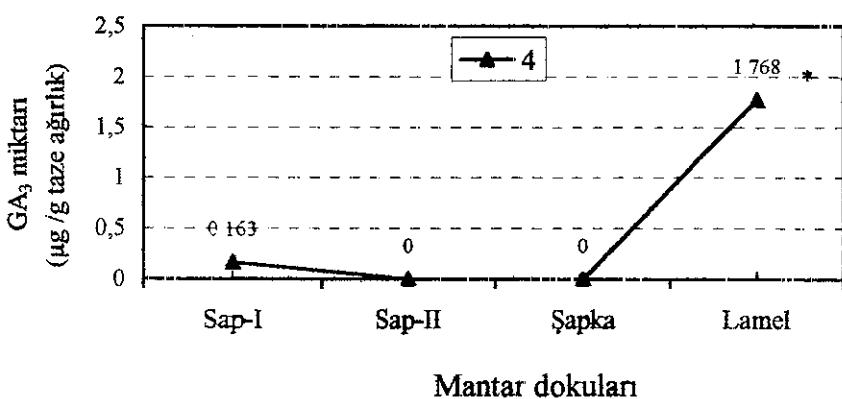
Şapka zarının tamamen açıldığı ve lamellerin bütünüyle görüldüğü 5 gelişme dönemine ilişkin sonuçlar Şekil 4 43'de görülmektedir. Şekilden de anlaşılacağı gibi sadece Sap-I ($0.106 \mu\text{g/g}$) ve Lamel ($1.329 \mu\text{g/g}$) dokularında GA_3 saptanmış ve Lamel dokusunun diğer dokulardan farklılığı önemli olmuştur. GA_3 değişim ve miktarına ilişkin sonuçlar, 4 gelişme dönemiyle (Bkz Şekil 4 42) benzerlik göstermiştir.

4.3.1.2. İkinci flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen HPLC sonuçları



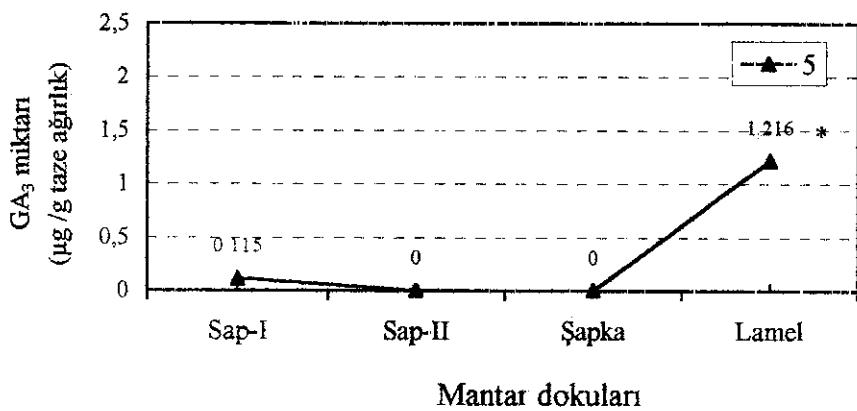
Şekil 4.44. İkinci flaşın 2 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA_3 miktarları
 $\text{LSD}_{\%1} : 0.422$

İkinci flaşta 2 gelişme dönemindeki dokulara ilişkin sonuçlar verilmiştir (Şekil 4 44). Şekil 4 44'den de anlaşılacağı gibi, Sap-I dokusunda $0.976 \mu\text{g/g}$ GA_3 saptanırken, diğer dokularda GA_3 tespit edilmemiş ve Sap-I dokusunun farklılığı önemli bulunmuştur. Bulgular birinci flaşın aynı dönemi ile paralellik göstermiştir.



Şekil 4.45. İkinci flaşın 4. mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları
LSD%₁: 0,410

İkinci flaşın 4 gelişme dönemindeki dokulara ilişkin sonuçlar Şekil 4.45'de gösterilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi dokulardan Sap-I ($0,163 \mu\text{g/g}$) ve lamelde ($1,768 \mu\text{g/g}$) GA₃ saptanmış ve lamelin diğer dokulardan farklılığı, yapılan istatistiksel değerlendirmede önemli bulunmuştur

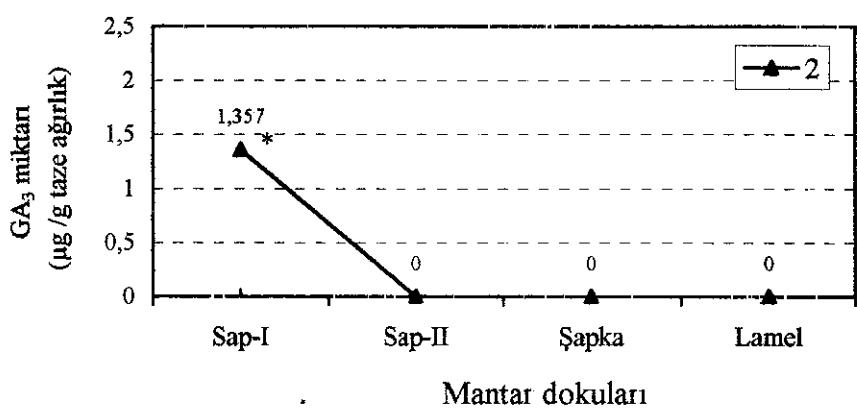


Şekil 4.46. İkinci flaşın 5. mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları
LSD%₁: 0,343

İkinci flaşın 5 gelişme dönemindeki (şapkanın tamamen açıldığı lamellerin bütünüyle görüldüğü dönem) dokulara ait GA₃ sonuçları Şekil 4.46'de görülmektedir

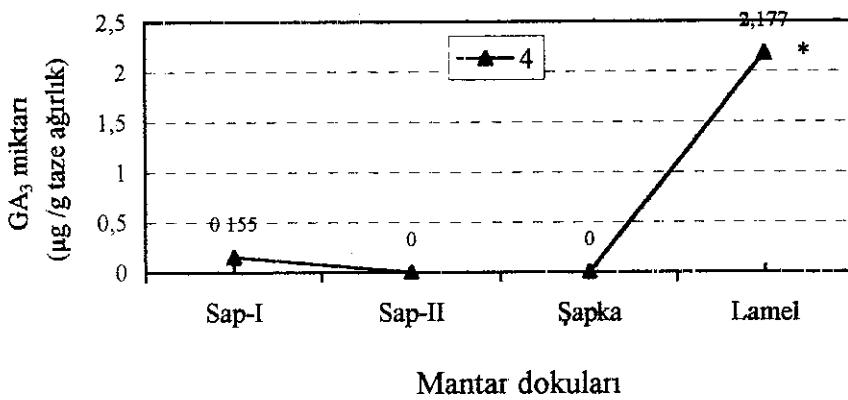
Bu şekilde de anlaşılacağı gibi yalnız Sap-I ($0.115 \mu\text{g/g}$) ve Lamel ($1.216 \mu\text{g/g}$) dokularında GA_3 saptanmış ve Lamel dokusunun GA_3 miktarı bakımından farklılığı, önemli bulunmuştur. Lamel dışında kalan dokular aynı grup içerisinde değerlendirilmiştir. Buradan elde edilen sonuçlar da birinci flaşın aynı dönemiyle benzerlik göstermiştir.

4.3.1.3. Üçüncü flaşın farklı gelişme dönemlerindeki mantar dokularından elde edilen HPLC sonuçları



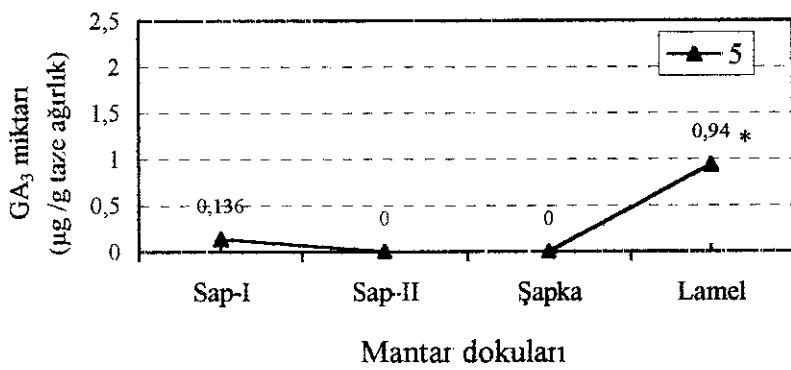
Şekil 4.47. Üçüncü flaşın 2 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanın GA_3 miktarları
LSD%1: 0.32

Üçüncü flaş içerisinde 2 mantar gelişme dönemindeki mantar dokularına ait sonuçlar Şekil 4.47'de gösterilmiştir. Yapılan HPLC analizinde yalnızca Sap-I dokusunda ($1.357 \mu\text{g/g}$) GA_3 tespit edilmiş, istatistiksel değerlendirmede diğer dokulardan farklılığı önemli bulunmuştur. Buradan elde edilen bulgular, birinci ve ikinci flaştaki aynı dönemlerle uyumluluk göstermiştir.



Şekil 4.48. Uçüncü flaşın 4. mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları
LSD%₁: 0,74

Uçüncü flaşın 4 gelişme dönemindeki dokulara ilişkin sonuçlar, Şekil 4.48'de gösterilmiştir. Bu şekilden de anlaşılacağı gibi Sap-I ve Lamel dokularında, sırasıyla 0,155 μg/g ve 2,177 μg/g GA₃ saptanmış ve lameldeki farklılık diğer dokulara göre önemli bulunmuştur. Sap-I dokusu, Sap-II ve Şapka ile aynı grup içinde yer almış ve sonuçlar bir önceki flaşlarla benzerlik göstermiştir.



Şekil 4.49. Uçüncü flaşın 5. mantar gelişme dönemindeki mantar dokularından alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları
LSD%₁: 0,337

Uçüncü flaşın 5 gelişme dönemindeki dokulardan elde edilen sonuçlar Şekil 4.49'da verilmiştir. Bu şekilden de anlaşılacağı gibi HPLC'de yapılan analizler

sonucunda, Sap-I (0 136 µg/g) ve Lamel (0 940 µg/g) dokularında GA₃ tespit edilmiş ve istatistiksel değerlendirme sonucu, lamelin GA₃ içeriğindeki farklılığı, diğer dokulara göre önemli bulunmuştur. Buradan elde edilen sonuçlar da gerek birinci flaş gerekse ikinci flaş içerisindeki aynı dönemlerle paralellik göstermiştir

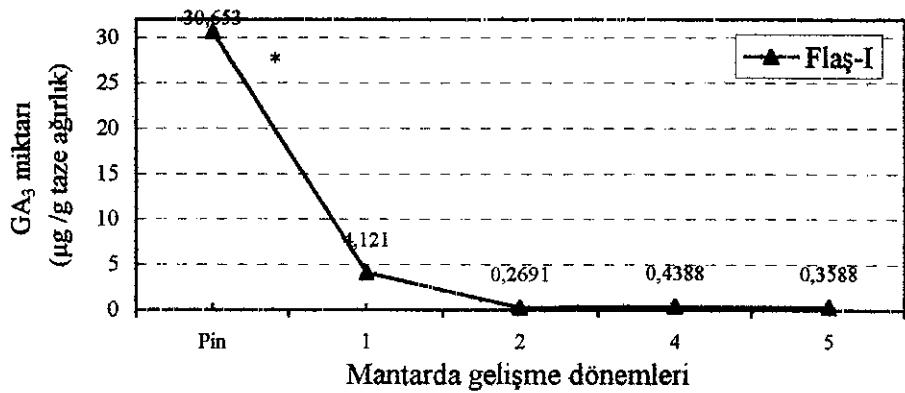
Her üç flaş içerisinde saptanan en yüksek GA₃ miktarları, doku olarak lamellerden, farklı gelişme dönemi olarak da 4 gelişme döneminden (Şapka zarının yarısın açıldığı dönem) elde edilmiştir

4.3.2. Kültür mantarında flaşlar içerisindeki farklı gelişme dönemlerinden elde edilen sonuçlar

Kültür mantarında her bir flaş içerisinde, GA₃ hormonun mantarda farklı gelişme dönemlerindeki miktarı ve değişimi saptanmış, bulgular flaşlara bağlı olarak şekillerle ifade edilmiştir. Bu bölümde mantar dokularından ziyade, mantarın farklı gelişme dönemlerindeki toplam GA₃ miktarı dikkate alınmıştır

4.3.2.1. Birinci flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin HPLC sonuçlar

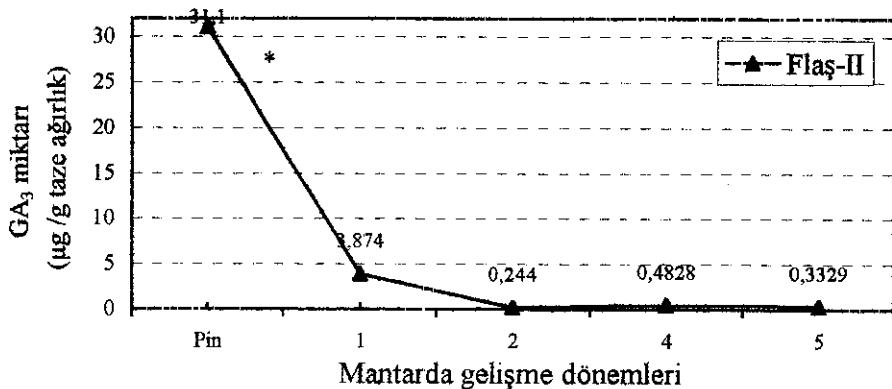
Birinci flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerinde saptanan, GA₃ ‘ün değişim ve miktarlarına ilişkin sonuçlar Şekil 4 50’de görülmektedir. Bu şekilde de görüldüğü gibi bütün gelişme dönemlerinde GA₃ tespit edilmiş ve bu dönemler içerisinde en yüksek miktar, 30 653 µg/g ile pin (2-3 mm çaplı mantar taslakları) döneminden elde edilmiştir. Pin döneminin GA₃ içeriği açısından diğer dönemler göre farklılığı önemli bulunmuş ve bunu 4 121 µg/g ile 1 gelişme dönemi izlemiştir. Mantarın 2, 4 ve 5 gelişme dönemlerine ilişkin değerler sırasıyla, 0 269 µg/g, 0 438 µg/g ve 0 358 µg/g olarak saptanmış ve istatistiksel değerlendirmede aynı grup içerisinde yer almıştır. Kültür mantarında pin oluşum döneminde saptanan yüksek miktarındaki GA₃ içeriği,



Şekil 4.50. Kültür mantarında birinci flaşta, mantarın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları
LSD%₁: 2,599

bir sonraki dönem olan 1 gelişme döneminde hızlı bir düşüş göstermiş ve bunu takip eden dönemlerde de GA₃ deki değişim, düşük seviyelerde seyretmiştir

4.3.2.2. İkinci flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin HPLC sonuçlar

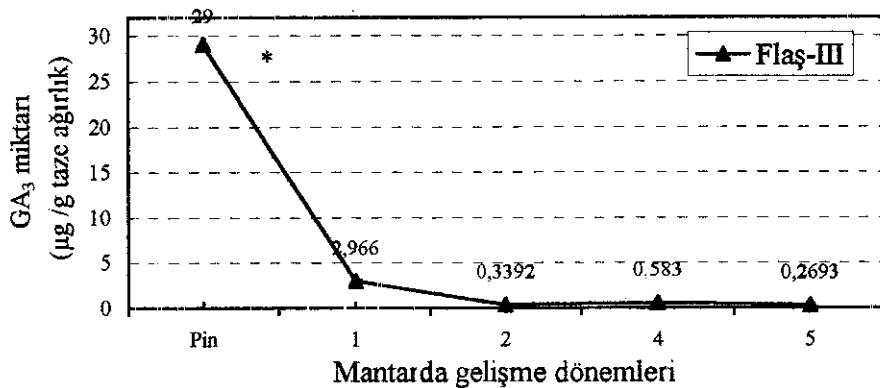


Şekil 4.51. Kültür mantarında ikinci flaşta, mantarın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları
LSD%₁: 3,194

İkinci flaş içerisinde, mantarda farklı gelişme dönemlerindeki GA₃ değişim ve miktarına ilişkin sonuçlar verilmiştir (Şekil 4.51) Şekil 4.51'den de anlaşılacağı gibi

bütün gelişme dönemlerinde GA₃ saptanmış ve birinci flaşta olduğu gibi pin dönemi (31 100 µg/g) en yüksek GA₃ miktarını içermiş ve diğer dönemlerden farklılığı önemli bulunmuştur. Bunu ara bir gruplandırma ile 1 gelişme dönemi (3 874 µg/g) takip etmiş, 2, 4. ve 5 gelişme dönemleri de sırasıyla 0 244 µg/g, 0 482 µg/g ve 0 332 µg/g GA₃ içeriğiyle istatistiksel olarak ayrı bir grup oluşturmuştur.

4.3.2.3. Üçüncü flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin HPLC sonuçları



Şekil 4.52. Kültür mantarında üçüncü flaşta, mantarın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları
LSD%1: 2 628

Kültür mantarında üçüncü flaş içerisindeki farklı gelişme dönemlerine ilişkin GA₃ sonuçları Şekil 4.52'da verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi, üçüncü flaş içerisindeki bütün gelişme dönemlerinde, GA₃ saptanmış ve pin aşaması 29 µg/g ile diğer dönemlerden farklı bir grup oluşturmuştur. Bunu aynı gruplandırma içinde yer alan 1 (2 966 µg/g), 2 (0 339 µg/g), 4 (0 583 µg/g) ve 5 gelişme (0 269 µg/g) dönemleri izlemiştir.

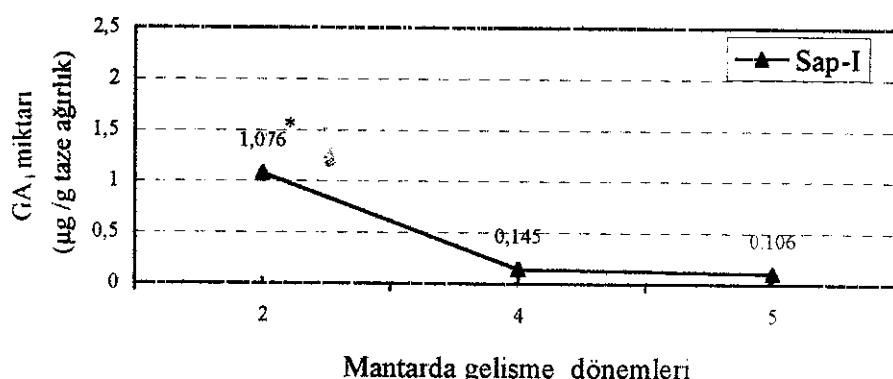
Bütün flaşlarda pin dönemleri yüksek miktarlarda GA₃ içerirken, bunu 1 gelişme dönemleri izlemiş ve her üç flaşta bir birinin paraleli şeklinde sonuçlar vermiştir.

4.3.3. Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak mantar dokularının, mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen sonuçları

Kültür mantarında her bir flaş dönemi içerisinde, dokularda saptanan GA_3 hormon miktarının, mantarda gelişme dönemlerindeki değişimi, grafiklerle ifade edilmiştir. Burada tek bir dokuda saptanan GA_3 hormonu ile mantarda farklı gelişme dönemlerindeki değişiminin genel bir değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

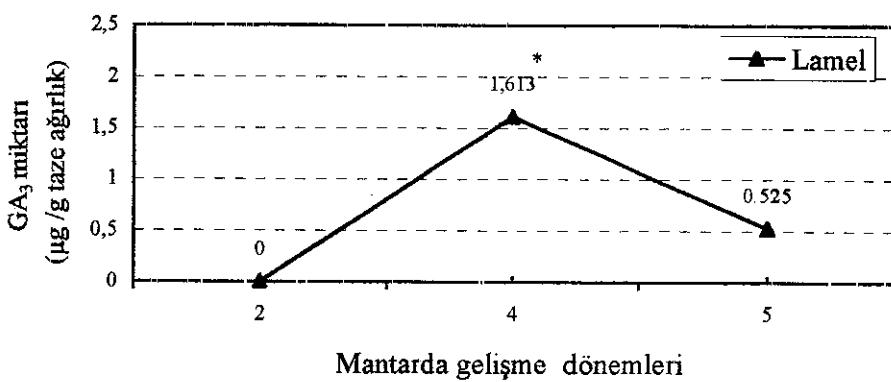
4.3.3.1. Birinci flaş içerisinde mantar dokularının, mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen HPLC sonuçları

HPLC'de yapılan hormon analizlerinde, birinci flaş içerisinde farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak, Sap-II ve Şapka dokularından GA_3 tespit edilememiştir, dolayısıyla bu dokular değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.53. Birinci flaşta Sap-I dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan GA_3 miktarları
LSD_{%1} : 0 074

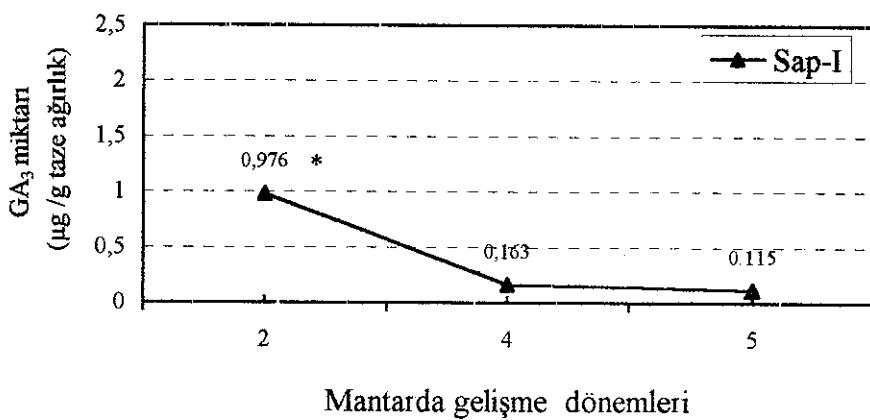
Sap-I dokusunun farklı gelişme dönemlerindeki, GA_3 içeriğine yönelik sonuçları Şekil 4.53'de görülmektedir. Bu şekilden de görüleceği üzere her üç gelişme döneminde de GA_3 saptanmış ve yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu, Sap-I dokusundaki 1,076 $\mu\text{g/g}$ GA_3 miktarının, diğer gelişme dönemlerine göre farklılığı önemli bulunmuştur. Mantarda 4 ve 5 gelişme dönemlerindeki GA_3 miktarları, sırasıyla 0,145 $\mu\text{g/g}$ ve 0,106 $\mu\text{g/g}$ olarak saptanmış, bu iki dönem aynı grup içerisinde değerlendirilmiştir.



Şekil 4.54. Birinci flaşta Lamel dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları
LSD%₁ : 1 504

Birinci flaşın Lamel dokusuna ilişkin GA₃ sonuçları, Şekil 4.54'de görülmektedir. Şekilden de anlaşılacağı gibi yalnızca 4 gelişme dönemi (1.613 $\mu\text{g/g}$) ve 5 gelişme döneminde (0.525 $\mu\text{g/g}$) GA₃ saptanmış ve 4 gelişme döneminin sonuçları önemli bulunarak, farklı bir grup oluşturmuştur

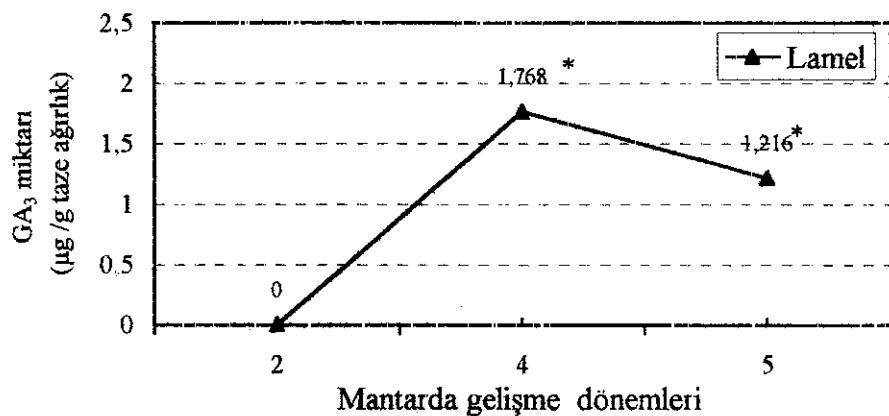
4.3.3.2. İkinci flaş içerisinde mantar dokularının, mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen HPLC sonuçları



Şekil 4.55. İkinci flaşta Sap-I dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları
LSD%₁ : 0 543

HPLC'de yapılan analizler sonucu, İkinci flaş içerisinde Sap-II ve Şapka dokularında GA₃ saptanamamıştır

İkinci flaşta Sap-I dokusuna ilişkin, GA₃ miktarındaki değişim verilmiştir (Şekil 4.55) Şekilden de anlaşılacağı gibi her üç gelişme döneminde de Sap-I dokusu içerisinde GA₃ saptanmış ve 0.976 µg/g ile 2 gelişme döneminin diğer dönemlere göre farklılığı önemli bulunmuştur Mantarın 4. ve 5. gelişme dönemleri de sırasıyla 0.163 µg/g ve 0.115 µg/g GA₃ miktarlarıyla aynı grup içerisinde değerlendirilmiştir

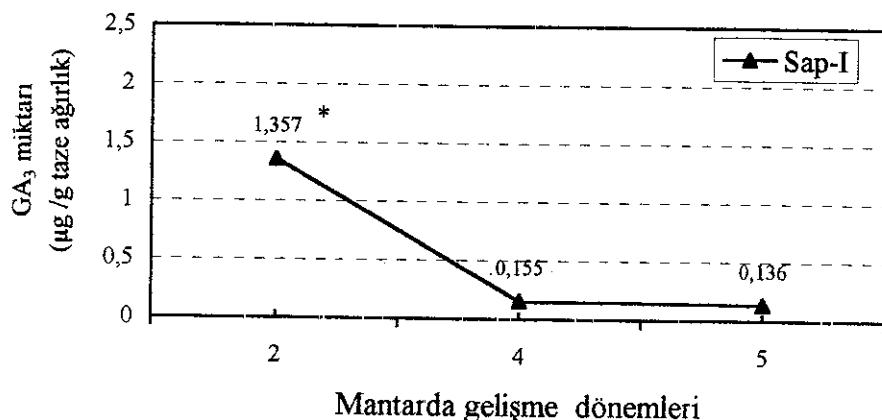


Şekil 4.56. İkinci flaşta Lamel dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanın GA₃ miktarları LSD_{0.01}: 0.678

İkinci flaş içerisinde Lamel dokularına ilişkin GA₃ sonuçları Şekil 4.56'da verilmiştir Lamellerde yapılan analiz sonucu, sadece 4. ve 5. gelişme döneminde sırasıyla 1.768 µg/g ve 1.216 µg/g GA₃ tespit edilmiş ve farklılığı önemli bulunan bu iki dönem, aynı grup içerisinde değerlendirilmiştir İkinci flaşta gerek Sap-I, gerekse Lamel dokusundan alınan sonuçlar, birinci flaşla benzerlik içerisindeidir

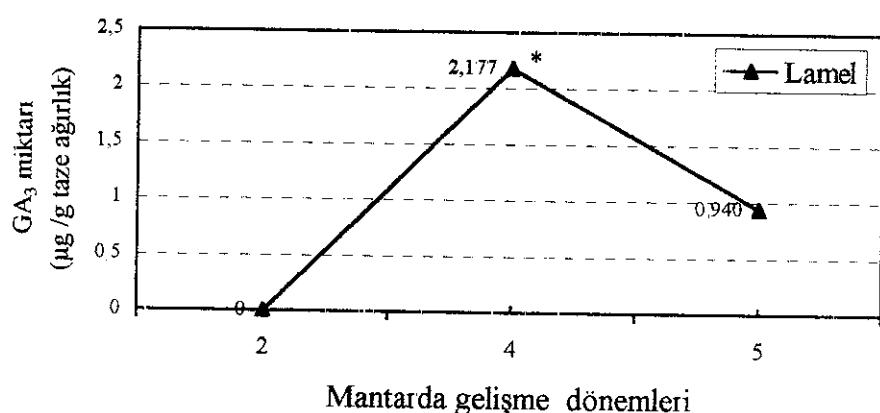
4.3.3.3. Üçüncü flaş içerisinde mantar dokularının, mantarda farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen HPLC sonuçları

Üçüncü flaş içerisinde de birinci ve ikinci flaşa olduğu gibi Sap-II ve Şapka dokularında GA₃ saptanamamıştır



Şekil 4.57. Üçüncü flaşa Sap-I dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları LSD_{0,01} : 0 414

Üçüncü flaştaki Sap-I dokusuna ilişkin GA₃ sonuçları Şekil 4.57'de gösterilmiştir. Bu şekilden de anlaşılacağı gibi her üç gelişme döneminde de Sap-I dokusunda GA₃ tespit edilmiş ve 2 gelişme döneminde saptanın 1 357 $\mu\text{g/g}$ GA₃ miktarı, 4 (0 155 $\mu\text{g/g}$) ve 5 gelişme dönemlerine (0 136 $\mu\text{g/g}$) göre önemli bulunmuştur. Faklılık oluşturan ortalamalar yıldızla gösterilmiştir.



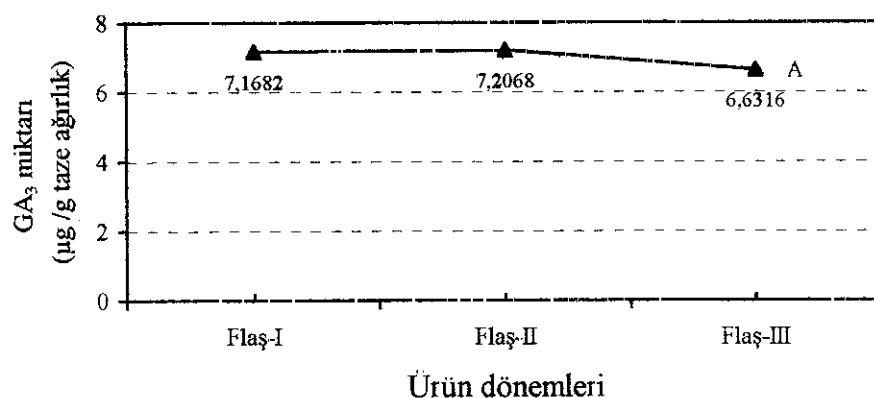
Şekil 4.58. Üçüncü flaşa Lamel dokusunun farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları LSD_{0,01} : 1 036

Üçüncü flaş içerisindeki Lamel dokularında olan GA₃ değişimi Şekil 4.58'de verilmiştir. Bu sekilden de anlaşılacağı gibi Lamel dokularında saptanan GA₃ miktarı, 4. (2.177 µg/g) ve 5. gelişme dönemlerinde (0.940 µg/g) ortaya çıkmış ve 4 gelişme döneminin diğer gelişme dönemlerine göre farklılığı önemli bulunmuştur. Buradan elde edilen sonuçlar da ilk iki flaşta içerisinde aynı dokulardan elde edilen sonuçlarla paralellik göstermiştir.

Sonuçta farklı gelişme dönemleri dikkate alındığında, Sap-I dokusunda üç gelişme döneminde de GA₃ tespit edilirken, lamellerde yalnızca 4 ve 5 gelişme dönemlerinde GA₃ saptanmıştır. Sap-I dokusundaki en yüksek GA₃ miktarı daha çok 2 gelişme döneminde, lamellerde ise 4. gelişme döneminde tespit edilmiştir.

4.3.4. Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak GA₃ miktarında meydana gelen değişimler

4.3.4.1. HPLC sonuçları



Şekil 4.59. Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak alınan mantar örneklerinde HPLC analizinde saptanan ortalama GA₃ miktarları
LSD_{0.01} : 1.3983
A : Önemli değil

Kültür mantarında ürünün meydana geldiği ilk üç flaş döneminde, HPLC'de saptanan ortalama GA₃ miktarındaki değişime ilişkin sonuçlar, Şekil 4 59'de verilmiştir. Bu şekilde de görüleceği gibi Flaş-I, Flaş-II ve Flaş-III'de saptanan GA₃ miktarları, sırasıyla 7 168 µg/g, 7 206 µg/g ve 6 631 µg/g olarak saptanmış ve yapılan varyans analizi sonucunda, flaşlar arasında faklılığın önemli olmadığı tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA

5.1. ABA Sonuçlarının Değerlendirilmesi

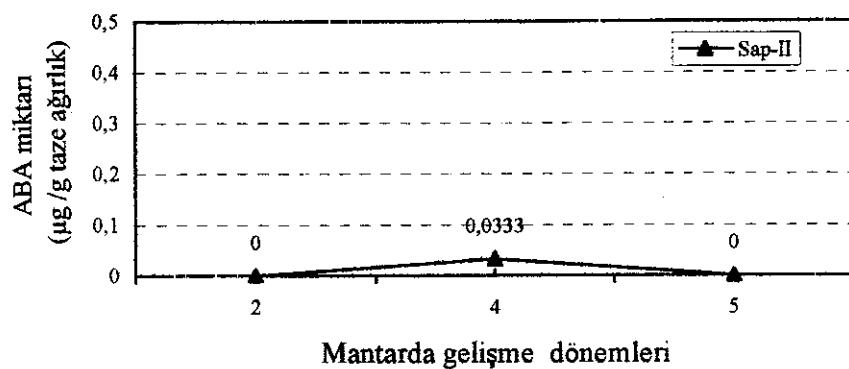
Yapılan literatür taramasında kültür mantarının ABA içeriğine ayrıca dışardan uygulanan ABA'nın etkisine ilişkin herhangi bir çalışmaya veya bulguya rastlanmamıştır, oysa yapılan bu araştırmada gerek mantarın farklı dokularında, gerekse mantarın farklı gelişme dönemlerinde, kayda değer önemli bulgular elde edilmiştir.

Kültür mantarında HPLC'de yapılan ABA ile ilgili hormon analizlerinde mantarda dokular dikkate alındığında, elde edilen bulgular gelişme dönemlerine göre değişmekle beraber, Sap-II, Şapka ve Lamel dokularında değişen oranlarda ABA saptanmıştır. ABA, dokular açısından daha çok mantarda şapka zarının yarısının açıldığı (4 gelişme dönemi) dönemde Sap-II ve Şapka dokularında, her üç flaşta da saptanmıştır (Bkz. Şekil 4.2, Şekil 4.9, Şekil 4.16). Lamel dokularında, sadece şapka zarının tamamen açıldığı 5 gelişme döneminde ortaya çıkmıştır (Şekil 4.3). Lamellerin bütünüyle göründüğü bu dönemde diğer dokularda ABA'ya rastlanmamıştır.

Şapka ve lamellere ilişkin yulaf koleoptil testi sonuçları (Bkz. Şekil 4.4, Şekil 4.7) HPLC bulgularını desteklemektedir. Benzer sonuçlar ikinci ve üçüncü flaşlar içinde geçerlidir.

Mantarda şapkanın sıkı bir şekilde kapalı olduğu dönemde, şapka dokusunda saptanan ABA hormonu, şapka zarının yırtılmaya başladığı dönemde, şapka dokusu ile birlikte Sap-II dokusunda da tespit edilmiştir. Bu dönemde lamelde ABA'nın bulunmaması, şapka zarının açılmasında Sap-II dokusundaki ABA'nın etkili olabileceği kanısını uyandırmaktadır. Şapkanın tamamen açıldığı 5 gelişme döneminde ise dokulardan sadece lamellerde ABA'nın saptanması, takip eden gelişme dönemlerinde ABA'nın lamellere taşınma ihtimalini ortaya çıkarmaktadır.

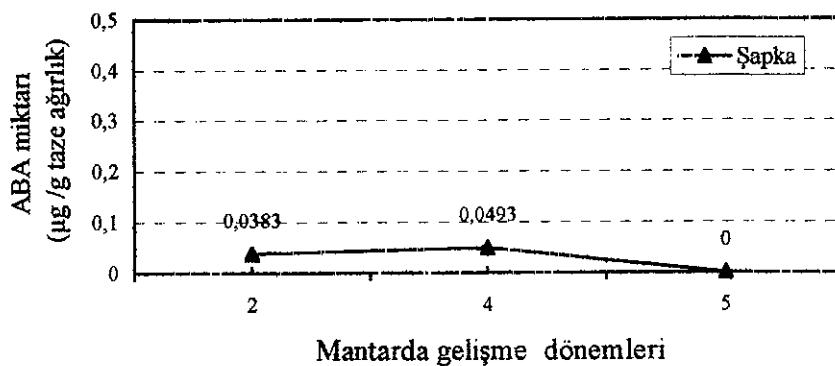
Üç flaş ortalamasına göre Sap-II dokusundaki toplam ABA miktarının farklı gelişme dönemlerine göre değişimi Şekil 5.1'de verilmiştir.



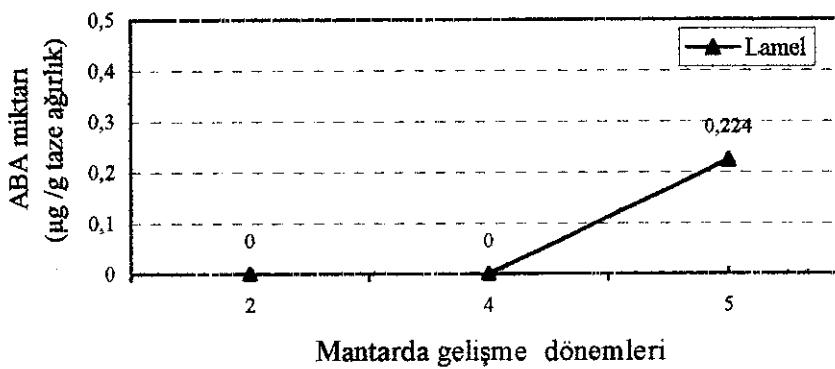
Şekil 5.1. Her üç flaşın ortalamasında Sap-II dokusundan farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları

Şekil 5.1 den de anlaşılacağı gibi Sap-II dokusunda saptanan ABA ($0.0333 \mu\text{g/g}$), sadece şapka zarının yarısının açıldığı 4 gelişme döneminde tespit edilmiş, diğer dönemlerde bu doku içerisinde ABA'ya rastlanmamıştır. Şapka zarının Sap-II dokusuna bağlı olduğu da düşünülürse, özellikle şapka zarının yırtılmaya başladığı 4 gelişme döneminde, bu doku içerisinde ABA'nın tespit edilmesi, şapkanın açılması sırasında ABA'nın da sentezlendiğinin veya başka dokulardan buraya taşındığının bir işaretini olabilir

Şapka dokusunda üç flaşın ortalaması sonucu, farklı gelişme dönemlerine göre elde edilen sonuçlar, Şekil 5.2'de gösterilmiştir. Şekilde de görüldüğü Şapka dokusunda, 2 ve 4 gelişme dönemlerinde sırasıyla ortalama $0.0383 \mu\text{g/g}$ ve $0.0493 \mu\text{g/g}$ ABA tespit edilmiştir. Lamellerin tamamen göründüğü 5 gelişme döneminde, Şapka dokusu içerisinde ABA saptanamamıştır



Şekil 5.2 Her üç flaşın ortalamasında Şapka dokusundan farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları

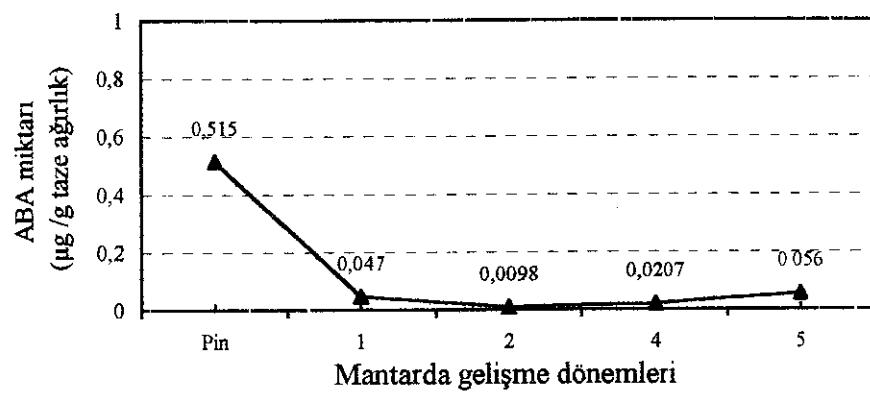


Şekil 5.3 Her üç flaşın ortalamasında Lamel dokusundan farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan ABA miktarları

Lamel dokusuna ilişkin bulgular Şekil 5.3'de verilmiştir. Bu şimdiden de anlaşılabileceği üzere Lamel dokusu içerisinde ABA ($0,224 \mu\text{g/g}$), yalnızca şapkanın tamamen açıldığı 5 gelişme döneminde saptanmıştır. Mantar dokuları karşılaştırıldığında, en yüksek ABA miktarı Lamelde saptanmıştır.

Yulaf koleoptil testi sonuçları da $Rf_{0.7}$ bandındaki büyümeyi durdurucu yöndeki etkisiyle, HPLC'den elde edilen sonuçları desteklemektedir. Bununla birlikte, $Rf_{0.2}$, $Rf_{0.5}$ ve $Rf_{0.9}$ bantlarının da ABA gibi engelleyici etki gösteren maddeler saptanmıştır.

Kültür mantarında farklı gelişme dönemleri açısından ABA'daki değişim miktarı da incelenmiştir (Şekil 5.4). Şekil 5.4'de de görüleceği gibi elde edilen sonuçlar her üç flaş döneminde de paralellik göstermiştir. Mantarda misel dönemde ABA tespit edilememiştir, buna karşın taslak oluşumunun meydana geldiği pin döneminde, ABA miktarında ani bir artış görülmüş ve 1 gelişme döneminde yaklaşık 1/10 oranında azalmıştır.



Şekil 5.4. Kültür mantarında üç flaş ortalamasına göre mantarın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde HPLC analizinde saptanan ortalama ABA miktarları

Mantarda 2 ve 4 gelişme dönemlerinde hemen hemen aynı miktarlarda olmak üzere 1 gelişme dönemine göre ABA miktarındaki azalma devam etmiş ve şapka zarının bütünüyle açıldığı 5 gelişme döneminde, ABA miktarında tekrar artış görülmüştür. Burada dikkati çeken nokta, ABA'nın misel gelişme döneminde ortaya çıkmaması taslak oluşum döneminde ise ani bir artış göstermesidir. Bu artış miktarı da diğer gelişme dönemlerine göre en yüksek miktar olup, her üç flaş döneminde de benzer şekilde tekrar etmiştir. Literatür bildirişlerinde de Flegg vd (1985)'nin belirttiği gibi flaş oluşum mekanizması tam olarak açıklık kazanmamıştır. Konuya ilgili olarak, şekerler, karbonhidratlar, üre, serbest amino asitler ve proteinlerin amino asit içeriği gibi maddelerin flaşlardaki değişimi açıklanmıştır. Bu metabolik faaliyetlerden hormonlara ilişkin herhangi bir çalışma veya açıklamaya rastlanılmamıştır.

Yaptığımız araştırma, mantarda taslak oluşumu sırasında ABA'nın rolü olabileceğini göstermiştir Her bir flaş öncesinde mantar taslaklarının oluşumu sırasında ABA'nın saptanması ve miktarının diğer gelişme dönemlerine göre 10 ile 50 kat artış göstermesi, bunu desteklemektedir Tabii burada ABA'nın yanı sıra GA₃ ile ilgili değerlendirmeleri de dikkate almak gerekmektedir.

Kültür mantarında farklı gelişme dönemlerindeki ABA'ya ilişkin yulaf koleoptil sonuçları değerlendirildiğinde, Rf_{0.7} bandında güven sınırları dışında büyümeyi durdurucu yöndeki bulgular, HPLC sonuçlarını tamamen desteklemiştir Bunun yanı sıra üç flaş döneminde de Rf_{0.9} ve Rf_{1.0} bantlarında, birinci ve ikinci flaş dönemlerinde ise Rf_{0.5} ve Rf_{0.6} bantlarında, engelleyici maddeler saptanmıştır

Kültür mantarında ABA miktarındaki değişimin flaşlara göre farklılığı da incelenmiştir (Bkz. Şekil 4 40) Şekil 4 40'da görüldüğü gibi her üç flaş döneminde ABA miktarı açısından flaşlar arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmamıştır Sadece son flaşlara doğru toplam ABA miktarında, birinci flaşa göre ikinci ve üçüncü flaşlarda sırasıyla ortalama % 15.9 ve % 23 17 oranında bir azalma olmuştur.

3

5.2. IAA Sonuçlarının Değerlendirilmesi

HPLC'de yapılan IAA analizleri sonucunda gerek mantar dokularında, gerekse mantarın farklı gelişme dönemlerinde, her üç flaş dönemi de dikkate alındığında, IAA'ya ilişkin herhangi bir bulgu elde edilememiştir Yapılan koleoptil testi sonuçlarında da genelde IAA ve IAA gibi etki gösteren uyarıcı maddeler tespit edilmemiş, tespit edilenlerden de Rf_{0.5} bandında IAA-benzerleri rastlanmamıştır IAA-benzerlerinin tespit edildiği dönemler, mantarda şapka zarının yarısının yırtıldığı 4 gelişme dönemindeki, Şapka, Sap-II dokuları ile 1 gelişme dönemidir Gelişmeyi uyarıcı maddeler daha çok Rf_{0.8}, Rf_{0.6}, Rf_{0.3} ve Rf_{0.4} bantlarında yoğunlaşmıştır Yulaf koleoptil testinden elde edilen IAA-benzerlerine ilişkin sonuçlar, Gruen (1965) ve Flegg vd (1985)'nin oksinlerin varlığına ilişkin bulgularını desteklemektedir Kültür mantarının farklı gelişme dönemlerinde ve dokularında, ABA ve ABA-benzerlerinin gerek HPLC yöntemleriyle gerekse yulaf koleoptil testi ile saptanması, oksinlerin tespit edilememesine ilişkin sonuçlara da açıklık getirmektedir Bilindiği gibi ABA, oksinlere

antagonistik etki yapmaktadır. Oksin ve benzerlerinin tespit edilememesi beklenen bir sonuç olarak yorumlanabilir.

5.3. GA₃ Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Kültür mantarında GA₃'ün değişim ve miktarına yönelik HPLC'de yapılan analizler, kültür mantarının değişik dokularında ve farklı gelişme dönemlerinde önemli miktarlarda GA₃ bulunduğu göstermiştir. Mantarda dokulara yönelik yapılan analizlerde, mantar meyvesinde sapın aşağı kısmını oluşturan Sap-I dokusunun her üç farklı gelişme döneminde de yüksek miktarlarda GA₃ içeriği saptanmıştır (Bkz. Şekil 4.41. Şekil 4.49). Özellikle şapka zarının sıkı bir şekilde kapalı olduğu 2 gelişme döneminde GA₃ miktarı Sap-I dokusunda en yüksek miktara ulaşmıştır. Takip eden gelişme dönemlerinde (4 ve 5 gelişme dönemleri) Sap-I'deki GA₃ oranı yaklaşık 10 kat azalmıştır. Sap-I'deki GA₃ miktarı şapka zarının açılmaya başlaması ile birlikte azalırken, bu dönemde lamel dokusunda da saptanmıştır. Şapka zarının tamamen açıldığı 5 gelişme döneminde de benzer sonuç elde edilmiştir. Burada lamellerin görünmeye başladığı veya diğer bir deyimle şapka zarının açılmaya başladığı dönem ile bunu takip eden gelişme döneminde, lamellerde saptanan GA₃'ün şapka büyümeye dolayısıyla şapka zarının yırtılmasında rol aldığı kanaatini uyandırılmıştır.

Gruen (1965) ve Flegg vd (1985)'nin lamellerde üretilen mantarda sapın uzaması ve şapkanın açılmasına neden olan bir takım maddelerin olabileceği belirtmişlerdir. Bulgularımız, bu araştırmacıların belirttikleri maddelere bir açıklık getirmiştir. Gruen (1965)'in mantarda sadece sap kalacak şekilde şapkanın uzaklaştırılmasıyla sapın büyümeye oranını azaltarak, 3-4 gün sonra büyumenin sıfıra ulaştığını belirten ve belirlenemeyen madde ile ilgili yaptığı çalışmada, araştırmamızda mantarda sap-I dokusunda saptanan GA₃'ün neden olabileceği ihtimalini kuvvetlendirmiştir. Yine lamellerde saptanan yüksek orandaki GA₃ miktarı da aynı araştırmacıların belirttiği gibi, sap uzamasına ve şapkanın açılmasına neden olabildiği, yaptığımız araştırma ile de desteklenmiştir. Bu konu ile ilgili değişik faktörlerin etkili olabileceği düşünülmekle birlikte, GA₃'ün mantarda şapkanın açılmasında doğrudan etkili olabileceğini iddia etmemiz mümkündür.

Mantarda dokulardaki GA₃ değişim ve miktarına ilişkin bulgular, her üç flaş döneminde de benzer şekilde sonuçlanmıştır. Mantarda ürün dönemini oluşturan flaşlar bir birinin paraleli gibi davranmıştır.

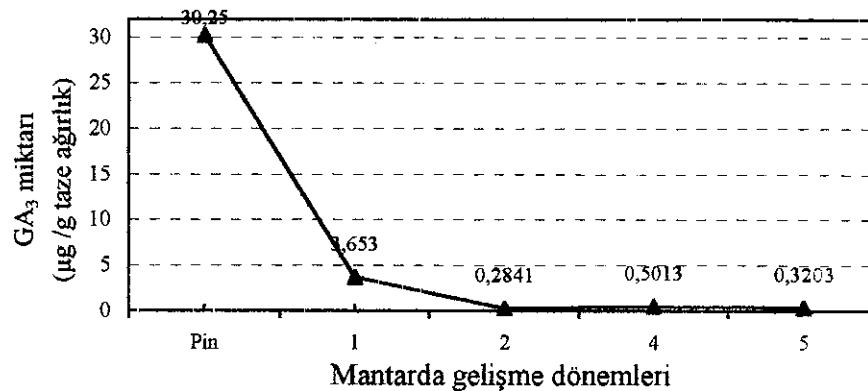
Kültür mantarında farklı gelişme dönemleri arasında GA₃ miktarı ve değişimine ilişkin önemli sonuçlar elde edilmiştir (Bkz. Şekil 4 50 Şekil 4 52). Bu sonuçlara göre gelişme dönemleri açısından ilk üç flaş ortalaması sonucu mantarda pin döneminde saptanan GA₃ miktarı 30,25 µg/g olarak bulunmuştur (Şekil 5 5). Pin dönemi GA₃ miktarının en yüksek saptandığı dönem olmuştur Şekil 5 5'de görüleceği gibi bunu, üç flaş ortalaması sonucu 1 gelişme dönemi (3,65 µg/g) izlemiştir. Mantarda 2,4 ve 5 gelişme dönemleri GA₃ miktarı ve değişimi açısından hemen hemen aynı oranlarda kalmıştır ve miktar açısından 1 gelişme dönemine göre önemli düşüş göstermiştir.

Misel sardırılmış buğday örneklerinde (3,412 µg/g) saptanan GA₃ miktarının, pin döneminde 30 µg/g'a yükselmesi, mantarın misel aşamasından taslak oluşumuna (Pin dönemi) geçişti sırasında, önemli rol oynadığı anlaşılmaktadır (Şekil 5 5). Taslak oluşumundan sonra pinlerde iriliğin arttığı diğer bir ifadeyle nohut büyülüğüne ulaştığı 1 gelişme döneminde, GA₃ miktarında hızlı bir düşüş gözlenmiştir.

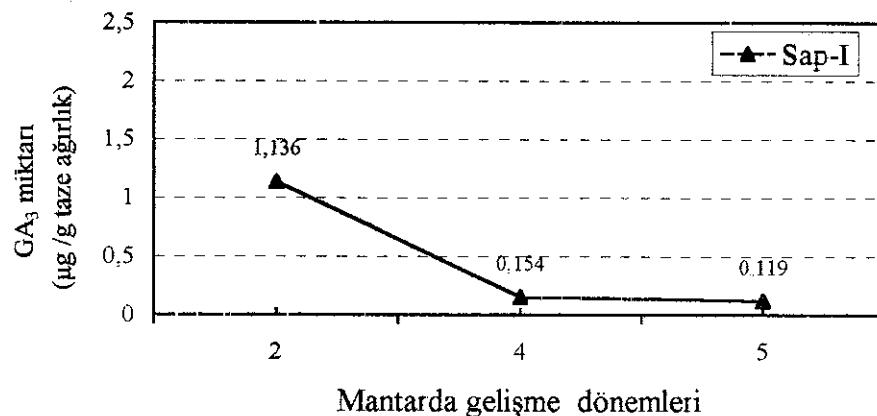
Kültür mantarında üç farklı gelişme döneminde yalnızca Sap-I ve Lamel dokularında GA₃ saptanmıştır (Bkz. Şekil 4 53 Şekil 4 58). Farklı gelişme dönemleri dikkate alındığında her üç flaş döneminde Sap-I dokusundaki ortalama GA₃ miktarları Şekil 5 6'de gösterilmiştir. Bu şeilden de anlaşılacığı gibi Sap-I dokusundaki en yüksek GA₃ miktarı 1,136 µg/g ile şapkanın kapalı olduğu 2 gelişme döneminde tespit edilmiştir. Takip eden gelişme dönemlerinde ise sırasıyla 0,154 µg/g ve 0,119 µg/g seviyelerinde değişim göstermiştir.

Mantarda Sap-I dokusunda saptanan GA₃ miktarı, hasat sırasında mantarda bırakılacak sap uzunluğunun, mantarın raf ömrü sırasında sap uzaması, şapka zarının açılması konusuna açıklık getirmektedir. Ajlouni vd (1992)'nin mantarda bırakılacak sap uzunluğu ile ilgili çalışmada, kısa saplı mantarların uzun saplı mantarlara göre şapkalarının daha geç açılmasını tam olarak açıklayamamışlardır. Yaptığımız araştırmada mantarda Sap-II dokusunda GA₃ saptanmamış, buna karşın Sap-I

dokusunda yüksek miktarda GA₃ tespit edilmiştir. Mantarda sapın kısa bırakılması durumunda Sap-I dokusunun önemli bir kısmının uzaklaştırılmasıyla, GA₃ 'ün etkisi azaltılmış olmaktadır. Oysa uzun saplı mantarlarda GA₃'e sahip Sap-I dokusu mantar üzerinde kalacağından, mantarın raf ömrüne olan olumsuz etkisi ortaya çıkacaktır. Bu açıdan bulgularımız Ajlouni vd (1992)'nin çalışmalarını desteklemiştir ve uyum içerisinde olmuştur.

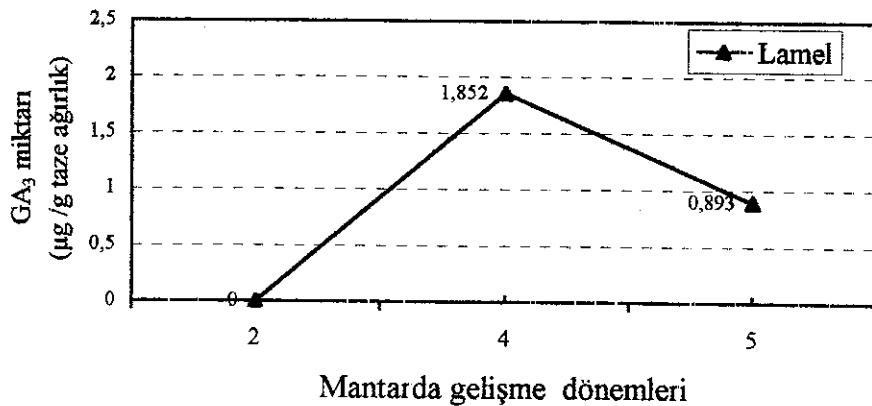


Şekil 5.5. Kültür mantarında üç flaş ortalamasına göre mantarın farklı gelişme dönemlerinden alınan örneklerde HPLC analizinde saptanan ortalama GA₃ miktarları



Şekil 5.6. Her üç flaşın ortalamasında Sap-I dokusundan farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları

Farklı gelişme dönemleri dikkate alındığında, üç flaş ortalanması sonucu Lamel dokusunda saptanan GA₃ miktarı, en yüksek 1 852 μg/g ile şapka zarının yarısının açıldığı 4 gelişme döneminde saptanmış ve bunu 5 Gelişme dönemi (0 893 μg/g) izlemiştir (Şekil 5.7.)



Şekil 5.7. Her üç flaşın ortalamasında Lamel dokusundan farklı gelişme dönemlerine bağlı olarak alınan mantar örneklerinde, HPLC analizinde saptanan GA₃ miktarları

Gelişme döneminin ilerlemesiyle birlikte, Lamel dokusunda GA₃'ün varlığının tespit edilmesi, şapkanın büyümeye, dolayısıyla şapka zarının açılmasına neden olabileceği fikrini güçlendirmiştir

Kültür mantarında flaşlara bağlı olarak GA₃ miktarında meydana gelen değişimler incelendiğinde, flaşlar arasında istatistiksel anlamda farklılık olmadığı saptanmıştır (Bkz Şekil 4 59) Benzer sonuçlar ABA içinde tespit edilmiş ve flaşlar birbirinin paraleli şeklinde tekerrür etmiştir

Kültür mantarının flaşlara bağlı olarak farklı dönemler ve dokularında ABA ve GA₃ miktarında meydana gelen değişimler genel bir değerlendirme amacıyla Çizelge 5 1 ve Çizelge 5 2'de verilmiştir

Çizelge 5.1 Kültür mantarının flaşlara bağlı olarak farklı dönemler ve dokularda ABA miktarında meydana gelen değişimler ($\mu\text{g/g}$ taze ağırlık)

FARKLI DÖNEMLER	FLAŞ-I	FLAŞ-II	FLAŞ-III	
Misel-bağday	-	-	-	
Pin	0 58	0 486	0 481	
1 Gelişme dönemi (nohut iriliği)	0 057	0 038	0 046	
2 Gelişme (Şapka kapalı)	Sap-I Sap-II Şapka Lamel	- - 0 041 -	- - 0 050 -	- - 0 027 -
4 Gelişme (Şapka yarısı açık)	Sap-I Sap-II Şapka Lamel	- 0 026 0 027 -	- 0 031 0 044 -	- 0 043 0 77 -
5 Gelişme (Şapka tam açık)	Sap-I Sap-II Şapka Lamel	- - - 0 345	- - - 0 288	- - - 0 039

Çizelge 5.2 Kültür mantarının flaşlara bağlı olarak farklı dönemler ve dokularda GA_3 miktarında meydana gelen değişimler ($\mu\text{g/g}$ taze ağırlık)

FARKLI DÖNEMLER	FLAŞ-I	FLAŞ-II	FLAŞ-III
Misel-bağday	3 266	3 039	3 932
Pin	30 65	31 1	29 0
1 Gelişme dönemi (nohut iriliği)	4 121	3 87	2 96
2 Gelişme (Şapka kapalı)	Sap-I	1 095	0 976
	Sap-II	-	-
	Şapka		
	Lamel	-	-
4 Gelişme (Şapka yarısı açık)	Sap-I	0 145	0 163
	Sap-II	-	-
	Şapka	-	-
	Lamel	1 61	1 768
5 Gelişme (Şapka tam açık)	Sap-I	0 106	0 115
	Sap-II	-	-
	Şapka	-	-
	Lamel	1 329	1 216
			0 940

6. SONUÇ

Kültür mantarının (*A. bisporus*) değişik büyümeye döneminde bazı içsel hormonların ve düzeylerinin araştırıldığı bu çalışmada, ABA ve GA₃'e ilişkin önemli bulgular elde edilmiştir. Yapılan literatür taramalarında Flegg vd (1985)'nin de belirttikleri gibi kültür mantarında yüksek bitki hormonlarının varlığı daha önceki araştırmacılar tarafından tespit edilmiş ancak ABA ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yaptığımız araştırmada ise kültür mantarında GA₃ ve IAA'nın yanı sıra, ABA'nın da varlığı saptanmış, IAA'nın dışında diğer iki hormonun mantarda farklı gelişme dönemlerinde ve buna bağlı olarak dokularında, değişim ve miktarı tespit edilmiştir. Kültür mantarında HPLC'de yapılan okumalarda, IAA'ya ilişkin herhangi bir bulgu elde edilememiştir ancak yapılan koleoptil testi sonucunda mantarın nohut iriliği aşaması olan 1 gelişme dönemi ile şapka zarının açılmaya başladığı 4 gelişme dönemindeki Şapka ve Sap-II dokularında, IAA-benzerlerine rastlanmıştır. Koleoptil testi sonucu IAA'ya karşılık gelen Rf_{0.5} bantlarında IAA'nın tespit edilememesi, HPLC bulgularını desteklemiştir. Biyolojik test sonucu IAA gibi etki gösteren uyarıcılar daha çok Rf_{0.3}, Rf_{0.4}, Rf_{0.6}, Rf_{0.8} bantlarında ortaya çıkmıştır. Bilindiği gibi oksin ve benzerleri ekstraksiyon sırasında çevresel faktörlerden (ışık, İTK'nın makasla kesilmesi sırasında kopan parçalar) kolay etkilenen ve doku içerisinde alınması zor olan hormonlardandır. Yaptığımız araştırmada mantar dokuları içerisinde asit karakterli ve serbest formdaki hormonların alınmasına çalışılmıştır. Normalde bitki dokuları içerisinde hormonlar daha çok serbest formda bulunur. Kültür mantarının yüksek yapılı bitkilerden bazı yönleriyle farklılık göstermesi, canlıların fizyoloji üzerine doğrudan etkili olan hormonlar konusunda da beklenebilir. Oluşan kayıpların dışında bağlı hormonların fazla olma ihtimali ve metodun uygunluğu gibi faktörler IAA'nın saptanmasında olumsuz etkide bulunmuş olabilir.

Yapılan literatür araştırmasında kültür mantarının ABA içeriğine ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanmamış buna karşın gerek mantarın farklı dokularında, gerekse mantarın farklı gelişme dönemlerinde, kayda değer önemli bulgular elde edilmiştir. Kültür mantarında, ürün dönemini oluşturan ilk üç flaş kıyaslandığında, ABA

hormonunun miktarının ve değişiminin flaşlar arasında farklılığı yol açmadığı, flaşlar arasındaki farklılığın önemsiz olduğu saptanmıştır

Yapılan çalışmada misel döneminde ABA tespit edilememiş, bunu takip eden taslak oluşum (pin) döneminde, ABA miktarında ($0.515 \mu\text{g/g}$) ani bir artış görülmüş ve bir sonraki gelişme döneminde ise $0.047 \mu\text{g/g}$ 'a inerek sonraki dönemlerde benzer oranlarda dalgalanma göstermiştir. Her üç flaş döneminde taslak oluşum sırasında ABA miktarında görülen bu artış, taslak oluşumu sırasında ABA'nın etkisi olduğu fikrini güçlendirmektedir. Yapılan literatür çalışmalarında bir çok büyümeye düzenleyicisiyle ilgili verim ve kaliteye yönelik araştırmalar yapılmış ancak ABA ile ilgili çalışmaya rastlanılmamıştır. Elde ettiğimiz bulgular ışığında taslak oluşumunu hızlandırmaya veya homojen taslak oluşumunu sağlama yönünde bir takım çalışmalara zemin hazırlanmıştır.

ABA, Sap-II, Şapka ve Lamel dokularında değişen oranlarda saptanmakla birlikte, dokular açısından daha çok mantarda, şapka zarının yarısının açıldığı (4 gelişme dönemi) dönemde, Sap-II ve Şapka dokularında, her üç flaşta periyodunda da tespit edilmiştir. Lamel dokusunda ise sadece şapka zarının tamamen açıldığı 5 gelişme döneminde ortaya çıkmış ve lamellerin bütünüyle göründüğü bu dönemde diğer dokularda ABA'ya rastlanmamıştır. Mantarda şapkanın sıkı bir şekilde kapalı olduğu dönemde, şapka dokusunda saptanan ABA, şapka zarının yırtılmaya başladığı dönemde, şapka dokusu ile birlikte Sap-II dokusunda da tespit edilmiştir. Bu dönemde lamelde ABA'nın bulunmaması, şapka zarının açılmasında Sap-II dokusundaki ABA'nın etkili olabileceği kanısını uyandırmaktadır. Mantarda Şapka açılmadan önceki dönemde, ABA'yı bloke edici bir takım kimyasal uygulamalarla, konuya açıklık getirilebilir. Şapkanın tamamen açıldığı 5 gelişme döneminde ise dokulardan sadece lamellerde ABA'nın saptanması, takip eden gelişme dönemlerinde ABA'nın lamellere taşıdığı fikrini doğurmaktadır.

Kültür mantarında GA_3 'un değişim ve miktarına yönelik HPLC'de yapılan analizler, kültür mantarının değişik dokularında ve farklı gelişme dönemlerinde önemli miktarlarda GA_3 bulunduğu göstermiştir. Yapılan araştırmanın sonucunda ABA'da

olduğu gibi, her üç flaş döneminde GA_3 değişim ve miktarı açısından flaşlar arasında farklılığın olmadığı saptanmıştır.

Kültür mantarında farklı gelişme dönemleri arasında GA_3 miktarı ve değişimine ilişkin önemli sonuçlar elde edilmiş ve bu sonuçlara göre gelişme dönemleri açısından her bir flaş içerisinde, mantarda pin döneminde saptanan GA_3 miktarlar en yüksek noktaya ulaşmıştır. Üç flaş ortalaması alındığında GA_3 miktarı $30.25 \mu\text{g/g}$ olarak bulunmuştur ve sonuçta Pin dönemi GA_3 miktarının en yüksek saptandığı dönem olmuştur. Misel sardırılmış buğday örneklerinde $3.412 \mu\text{g/g}$ olarak saptanan GA_3 miktarının, pin döneminde $30 \mu\text{g/g}'a$ yükselmesi, mantarın misel aşamasından taslak oluşumuna (Pin dönemi) geçişi sırasında, önemli rol oynadığı fikrini güçlendirmiştir. Pin döneminin takip eden nohut büyüğünün olduğu 1. gelişme döneminde ise GA_3 miktarı $3.653 \mu\text{g/g}$ 'a düşmüştür. Pin döneminde GA_3 miktarında görülen artış, ABA'da olduğu gibi mantarda morfolojik farklılaşmanın meydana geldiği taslak oluşum döneminde etkili olabileceğini göstermektedir. Taslak oluşum döneminden önce komposta veya örtü toprağına, dışardan yapılacak GA_3 , $GA_3 + ABA$ veya diğer hormon kombinasyonlarıyla, doz ve uygulama zamanı dikkate alınarak çalışmalar yapılmalıdır.

Mantarda dokulara yönelik yapılan analizlerde, mantar meyvesinde sapın aşağı kısmını oluşturan Sap-I dokusunun her üç farklı gelişme döneminde de yüksek miktarlarda GA_3 içeriği saptanmıştır. Şapka zarının tamamen açıldığı 5. gelişme döneminde de benzer sonuç elde edilmiştir. Gruen (1965) ve Flegg vd (1985)'nin lamellerde üretilen mantarda sapın uzaması ve şapkanın açılmasına neden olan bir takım maddelerin olabileceği belirtmişlerdir. Bulgularımız, bu araştırmacıların belirttikleri maddelelere bir açıklık getirmiştir. Burada lamellerin görünmeye başladığı veya diğer bir deyimle şapka zarının açılma başlığından dönem ile bunu takip eden gelişme döneminde, lamellerde saptanan GA_3 'ün şapka büyümesinde, dolayısıyla şapka zarının yırtılmasında rol aldığı düşünülebilir. Şapkanın açılmasında ABA'da da yaptığımız benzer yorum nedeniyle, olaya tek bir faktörün etki etmediği başka faktörlerinde neden olabileceği görülmektedir. Bilindiği gibi çevresel faktörlerden, flaş döneminde yapılan yetersiz havalandırma sonucu, yüksek CO_2 'nın ve su stresinin şapka açılmasına neden olduğu bilinmektedir. Ancak bu dışsal etkilerin sonuçta fizyolojik bir uyarıya zemin

hazırladığı bilinse de, hormonlarla olan ilişkisi, bu stres şartlarında yapılacak olan ayrı bir araştırmaya daha sağlıklı bir sonuca varılacaktır

Mantarda Sap-I dokusunda saptanan GA_3 miktarı, hasat sırasında mantarda bırakılacak sap uzunluğuna, mantarın raf ömrü sırasında sap uzamasına ve şapka zarının açılması konusu yorumlamaya yardımcı olmuştur. Yaptığımız araştırmada mantarda Sap-II dokusunda GA_3 saptanmamış, buna karşın Sap-I dokusunda yüksek miktarda GA_3 tespit edilmiştir. Mantarda sapın kısa bırakılması durumunda Sap-I dokusunun önemli bir kısmının uzaklaştırılmasıyla, GA_3 'nın etkisinin azaltılmış olduğu sanılmaktadır. Oysa uzun saplı mantarlarda GA_3 'e sahip Sap-I dokusu mantar üzerinde kalacağından, mantarın raf ömrüne olan olumsuz etkisi ortaya çıkacaktır. Bu açıdan bulgularımız Ajlouni vd (1992)'nin çalışmalarını desteklemiştir ve uyum içerisinde bulunmuştur.

7. ÖZET

Kültür mantarının (*Agaricus bisporus*) değişik büyümeye dönemlerinde bazı içsel hormonların ve düzeylerinin belirlenmesi adlı bu araştırmada, mantarda flaşlara bağlı olarak farklı gelişme dönemlerinde ve bu dönemler içerisinde mantar dokularında ABA, IAA ve GA₃ hormonlarındaki düzey ve değişimleri arasında bir ilişki bulunup bulunmadığı incelemek ve eğer varsa bu ilişkinin şeklini ve zamanını saptamak istenmiştir. Bu araştırma ile verime ve kaliteye etki edecek şekilde mantarın vegetatif dönemden (misel ön gelişim dönemi) generatif döneme (şapka oluşum dönemi) geçişini hızlandırmak, pinlerde (mantar taslaklarının başlangıç dönemi) homojen şapka oluşumunu teşvik etmek mantarlarda yetiştiricilik sırasında, kalite kriteri açısından sap uzunluğuna, şapka çapına müdahale etmek, verimin düzenlenmesinde flaş aralığını düzenlemek ve bunun yanında flaş oluşum mekanizmasına açıklık kazandırmak gibi çalışmalara da zemin hazırlanması amaçlanmıştır.

Çalışmada, yaygın olarak yetiştirilen Slyvan 130 hibrit çeşidi kullanılmış ve kültür mantarı, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama alanında bulunan ve mantar yetiştirciliğine uygun olarak modifiye edilmiş soğuk hava deposunda, hazır kompost alınarak tanzalarda, torba kültürü ile yetiştirilmiştir.

Örnekler, kültür mantarının her flaş periyodu içerisindeki farklı gelişme dönemlerinden (pin, 1 dönem, 2 dönem, 4 dönem, 5 dönem) ve bu dönemler içerisindeki mantarın farklı dokularından elde edilmiştir. Analizlerde farklı doku ve aşamalardan ekstraksiyon için alınan örnekler aşağıda belirtilmiştir.

- 1.) Otoklavlanmış kuru buğday
- 2.) Tohumluk materyali olan, misel sardırılmış buğday
- 3.) 2-3 mm çapında mantar taslakları (pin)
- 4.) 8-10 mm çaplı nohut iriliğindeki mantar taslakları (**1.dönem**)
- 5.) 2-5 -4 cm çaplı hasat iriliğinde mantarlar (**2.dönem**)

5.1. Şapka zarı açılmamış (lameller görünmüyör)

- a) Sap-I (şapkanın alt kısmına kadar olan doku)
- b) Sap-II (şapka içinde lamel ortasında bulunan doku)
- c) Şapka (lamel ve Sap-II dokusu dışında)
- d) Lamel

5.2. Şapka zarının % 50' si açılmış (4.dönem)

- a) Sap-I (şapkanın alt kısmına kadar olan doku)
- b) Sap-II (şapka içinde lamel ortasında bulunan doku)
- c) Şapka (lamel ve Sap-II dokusu dışında)
- d) Lamel (sporları dağılmamış)

5.3 Şapka zarı tamamen açılmış (lameller tamamen görünür- 5.dönem)

- a) Sap-I (şapkanın alt kısmına kadar olan doku)
- b) Sap-II (şapka içinde lamel ortasında bulunan doku)
- c) Şapka (lamel ve Sap-II dokusu dışında)
- d) Lamel (sporları dağılmamış)

Örneklerde ekstraksiyon işlemleri tamamlandıktan sonra, içsel hormonların saflaştırma işlemi İnce Tabaka Kromatografide (İTK) yapılmıştır Ultraviole (UV) kabin altında İTK'da IAA $Rf_{0.5}$, GA₃ $Rf_{0.6}$ ve ABA $Rf_{0.7}$ kromatogramlarında tespit edilmiştir İTK üzerinde ABA, GA₃ ve IAA'ya karşılık gelen Rf kromatogramları metil alkolde çözülmüş, mikropor filtrede süzüldükten sonra analizleri Reversed Phase HPLC'de yapılmıştır HPLC'de sonuçlar $\mu\text{g}/\text{g}$ taze ağırlık olarak belirlenmiştir Biyolojik testler için İTK plakaları 10 eşit parçaya ayrılmış (her bir parçaya kromatogram veya Rf bandı denilmektedir) ve her bir kromatogramdaki hormon ve hormon benzeri maddeler saptanmıştır ABA, ABA-benzeri, IAA ve IAA-benzeri maddelerin biyolojik yöntemle bulunmasında yulaf koleoptil testi kullanılmıştır Biyolojik teste hormon ve hormon-benzeri maddeler kalitatif olarak hesaplanmıştır

Bulgularımız sonucunda kültür mantarında GA₃ ve IAA'nın yanı sıra, ABA'nın varlığı saptanmış ve ayrıca IAA dışında diğer iki hormonun mantarda farklı gelişme dönemlerinde ve buna bağlı olarak dokularda, değişimi ve miktarı tespit edilmiştir Kültür mantarında HPLC'de yapılan okumalarda, IAA'ya ilişkin herhangi bir bulgu elde edilememiştir ancak yapılan koleoptil testi sonucunda mantarın nohut iriliği aşaması olan 1. gelişme dönemi ile şapka zarının açılmaya başladığı 4. gelişme dönemindeki Şapka ve Sap-II dokularında, IAA-benzerlerine rastlanmıştır

Kültür mantarında, ürün dönemini oluşturan ilk üç flaş kıyaslandığında, gerek ABA gerekse GA₃ hormonunun miktarının ve değişiminin flaşlar arasında farklılığa yol

açmadığı, flaşlar arasındaki farklılığın önemsiz olduğu saptanmıştır. Yapılan çalışmada misel döneminde ABA tespit edilememiş, bunu takip eden taslak oluşum (pin) döneminde, ABA miktarında ani bir artış görülmüş ve bir sonraki gelişme döneminde ise düşüş göstererek benzer oranlarda dalgalanma göstermiştir. ABA'nın, her üç flaş döneminde de mantarda vegetatif dönemden (misel) generatif döneme (pin oluşumu) geçisi sırasında önemli rol oynadığı sanılmaktadır.

Mantarda şapkanın sıkı bir şekilde kapalı olduğu dönemde, şapka dokusunda saptanan ABA hormonu, şapka zarının yırtılmaya başladığı dönemde, şapka dokusu ile birlikte Sap-II dokusunda da tespit edilmiştir. Bu dönemde lamelde ABA'nın bulunmaması, şapka zarının açılmasında Sap-II dokusundaki ABA'nın etkili olabileceği kanısını uyandırmaktadır. Mantarda Şapka açılmadan önceki dönemde, ABA'yı bloke edici bir takım kimyasal uygulamalarla, konuya açıklık getirileceği düşünülebilir. Şapkanın tamamen açıldığı 5 gelişme döneminde ise dokulardan sadece lamellerde ABA saptanmıştır.

Tüm flaş dönemlerinde, mantarlarda pin döneminde saptanan GA_3 miktarları diğer dönemlerden daha yüksek bulunmuştur. Misel sardırılmış buğday örneklerine göre pin döneminde yaklaşık 10 kat artış gösteren GA_3 miktarının, mantarın misel aşamasından taslak oluşumuna (Pin dönemi) geçisi sırasında, etkili olduğu sanılmaktadır. Taslak oluşum döneminin önce komposta veya örtü toprağına, dışardan yapılacak GA_3 , $GA_3 + ABA$ veya diğer hormon kombinasyonlarıyla, doz ve uygulama zamanı dikkate alınarak planlanan çalışmalar, mantarda verim ve kaliteye yönelik olarak yapılacak araştırmalara zemin oluşturacaktır.

Lamellerde 4 ve 5 gelişme dönemlerinde saptanan GA_3 'ün şapka büyümesinde, ve dolayısıyla şapka zarının yırtılmasında rol oynadığı sanılmaktadır. Bulgularımız sonucu mantarda Sap-I dokusunda saptanan GA_3 miktarı, hasat sırasında mantarda bırakılacak sap uzunluğuna, mantarın raf ömrü sırasında sap uzamasına ve şapka zarının açılması konusuna da açıklık getirdiği iddia edilebilir. Mantarda sapın kısa bırakılması durumunda Sap-I dokusunun önemli bir kısmının uzaklaştırılmasıyla, GA_3 'ün etkisinin azaltılmış olacağı düşünülmektedir.

8. SUMMARY

In this research called the determination of some endogenous plant hormones and levels in different growth stage of button mushroom (*Agaricus bisporus*), the aim was to determine the relationships among the levels and variations of ABA, IAA and GA₃ plant hormones depending on the flushes for various stages of growth and within the tissues for button mushroom, and if then exists some relationships, then to define the type and timing of such a relationship. With this research, the objectives were to speed up the reversion of the mushroom from vegetative to generative stage to effect the yield and quality; to support the homogeneous pin formation to intervene with the stipe elongation, cap size and flush distance, together with the set up of a base for studies on the flush formation mechanism.

In this work, Slyvan 130 hybrid mushroom cultivar grown commonly in the world was used. Mushrooms were grown on shelf with plastic bags by using commercial compost materials in modified cold storage in the research and application area of Agricultural Faculty of Akdeniz University. Mushroom samples were obtained from different growth stages of each flush period (pin, 1, 2, 4 and 5 Stage) and the various tissues within these stage. Followings are the list of samples taken from various tissues and stages for extraction in analyses.

- 1) Autoclaved dry wheat
- 2) Spawn material
- 3) Pin stage with 2-3 mm diameter
- 4) Mushroom primordium (chickpea-size) with 8-10 mm diameter (**1st stage**)
- 5) Mushroom (picking-size) with 2.5-4 cm diameter (**2nd stage**)
 - 5 1 Cap closed
 - a) Stipe-I (tissue to the bottom of the cap)
 - b) Stipe-II (tissue in the middle of the gill)
 - c) Cap (except gill and Stipe-II tissue)
 - d) Gill
 - 5 2) 50 % of the cap opened (**4th stage**)
 - a) Stipe-I (tissue to the bottom of the cap)
 - b) Stipe-II (tissue in the middle of the gill)

c) Cap (except gill and Stipe-II tissue)

d) Gill

5.3 Cap completely opened (5th stage)

a) Stipe-I (tissue to the bottom of the cap)

b) Stipe-II (tissue in the middle of the gill)

e) Cap (except gill and Stipe-II tissue)

f) Gill

After the extraction procedure, the crude extract was purified with thin layer chromatography (TLC). The relative fluidity (Rf) numbers of IAA, GA₃ and ABA were established on the Rf_{0.5}, Rf_{0.6} and Rf_{0.7}, TLC plates under ultraviolet (UV) cabinet. Each hormone chromatogram was dissolved in methyl alcohol and filtered with a micropore filter, than analysed on Reversed Phase HPLC. The results were obtained as µg g⁻¹ fresh weight. TLC plates were divided in to ten equal pieces and present hormone and hormone-like compound in each piece were observed, oats coleoptile assay was used for ABA, ABA-like, IAA and IAA-like compounds. Hormone and hormone-like compounds were qualitatively assayed with bioassay.

Together with the existence of GA₃ and IAA, ABA was also found and furthermore variations and concentrations of other two hormones, depending on the various development stages and thus the tissues were also determined. HPLC reading revealed that there was no indication of IAA, however coleoptile assay showed that there were IAA-like compound between the 1st and 4th development stages (Cap and Stipe-II).

When the first three flushes were compared, neither ABA nor GA₃ concentration and variations caused any difference in flushes and the differences between the flushes were insignificant. No ABA was detected in mycelium period, but in the following period (pin formation) concentration of ABA increased and then decreased again at the later development stage with a similar oscillation. It is considered that ABA plays an important role for all three flush periods during the reversion from vegetative to generative development. During the stage where the cap is tightly closed, ABA hormone detected in the cap tissue was also detected in the Stipe-II tissue together with

the cap tissue at the time when the cap skin started to break. Since there was no ABA in gill at this stage, it is thought that ABA in the Stipe-II tissue was effective on the cap opening. It may be thought that this might be made clear by some sort of chemical application to block the ABA before the Cap opening stage. At the stage of the 5th development of the cap, ABA was found only in the gills.

Considering all flush periods, GA₃ concentrations were the highest at the pin stage. In comparison with spawn, GA₃ concentrations which increased 10 fold at the pin formation period is thought to be effective on the reversion from mycelium formation stage to pin formation stage.

The studies planned by taking into account the application time and dose of the GA₃, GA₃ + ABA or other hormone combinations applied externally to the compost or casing soil before the period of primordium will form a base for the studies to be carried out to determine the yield and quality of mushrooms.

It is thought that GA₃ detected in the gills at the 4th and 5th development stages plays an important role in the Cap growth and thus the Cap opening. The GA₃ concentration determined in the Stipe-I tissue can be claimed to explain the Stipe elongation during the shelf-life, and the Cap opening. The effect of GA₃ is considered to have been reduced by extracting an important amount of Stipe-I tissue when the Stipe is left short enough.

9. KAYNAKLAR

- ADAMS, D D and YANG, S F , 1979 Ethylene biosynthesis: Identification of 1-aminocyclopropane-1carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene *Proc.Nat.Acad. Sci. USA* 76: 170
- AJLOUNI, S O , BEELMAN, R B , and ONYİKE, N , 1990 Unpublished data The pennsylvania State University, University Park, PA
- AJLOUNI, S O , 1991 Qality characteristics of two hybrids of the cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*) and the improvement of their shelf life using stipe trimming and gamma irradiation Ph D Thesis The Pennsylvania State University, University Park, PA
- AJLOUNI, S O , BEELMAN, R B , THOMPSON, D.B and MAU J L , 1992 Stipe trimming at harvest increases shelf life of fresh mishrooms (*Agaricus bisporus*) *Journal of Food Science*, vol 57, No 6 p 1361
- AKSU, S , İŞIK, S E , ERKAL, S , 1996 Türkiyede kültür mantarcılığının gelişimi ve mantar işletmelerinin genel özellikleri Türkiye 5. Yemeklik mantar kongresi s 1-13, 5-7 Kasım, Yalova
- ALLAN JC , BRENNER, M L and BRUN, W A , 1977 Rapid separation an Quantification of Absisic Acid from Plant Tissues Using High Performance Liquid Chromatography *Plant Physiol* 59, 821-826
- ANONİM, 1998 Naturel mantar kompost Antbzuz gıda ve tarım ürünleri san ve tic AŞ Korkuteli, Antalya
- ANONYMOUS, 1978 Torf für gartenbau und landwirtschaft (DIN 11542)
- BARCLAY, G B , 1985 The effect of four plant growth regulators on yield and size of the cultivated mushroom , *Agaricus bisporus* Master's Thesis , The pennsylvania State University
- BOZTOK, K , 1980 Örtü toprağında varolan biyolojik aktivite ve meyve oluşumuna etkisi Türkiye II Yemeklik mantar kongresi s 79-84 Eylül 1980 Yalova
- BOZTOK, K 1990 Mantar Üretim Tekniği E Ü Basımevi, Ders kitabı İzmir, ss 168
- CIHA, A J , BRENNER, M L and BRUN, W A 1977 *Plant Physiol* (59): 821
- CURTO, S and FAVELLI, F 1972 Stimulative effect of certain micro-organisms (Bacteria, Yeast, Microalgae) upon Fruit-body formation of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing Proceedings of the Eighth International Congress on Mushroom Science Mushroom Science VIII, p 67-73, London 1972

DEMİRALAY, İ , 1993 Toprağın fiziksel analizleri Atatürk Univ , Zir , Fak , Yay No: 143

DURING, H 1977a *Experimentia*, (39): 489

DURING, H 1977b Analysis of abscisic acid and indole-3-acetic acid from fruits of *Vitis vinifera L.* by HPLC *Experimentia*, 33:1666-1667

DURLEY, R C , KANNANGARA, T and SIMPSON, G M 1982 Leaf analysis for abscisic, phaseic and 3-indolyacetic acids by HPLC. *Journal of Chromatography*, (236): 181-188

DÜZGÜNĘŞ, O , KESİCİ, T ve GÜRBÜZ, F , 1993 İstatistik Metodları II Baskı AÜZF yayınları: 1291 Ders kitabı: 369 Ankara

EINAR J., CROZIER, A and MONTETRO, A M ,1987 Analysis of Gibberellin and Gibberellin Conjugates by Ion Suppression Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography*, 367, 377-384

EINAR, J 1982 Analysis of indole derivates by Reversed-Phase HPLC *Journal of Chromatography*. (246): 126-132

ERKEL, İ , 1993 Kültür Mantarı Yetiştiriciliği Üretim tekniği, hastalıkları, ekonomik yönü, değerlendirilmesi. Kocaoluk Yayınevi Yalova, ss 160

FISHER, K H , and GROSCH, W , 1987 Volatile compounds of importance in the aroma of mushrooms (*Psalliota bispora*) Lebensm -Wiss Technol 20:233

FLEGG,P , B , D M SPENCER and D A WOOD, 1985 The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom Chapter 5, Metabolism, Biochemistry and Physiology, p 65-66]

GROSCH, W and WURZENBERG, M , 1984 Enzymic formation of 1-octen-3-ol in mushrooms *Dev. Food Sci* 10:253

GROSCH, W and WURZENBERGER, M (1984) *Dev. Food Sci*. 10 253

GRUEN, H , E , 1965 Growth regulation in fruit bodies of *Agaricus bisporus*. Proceedings of the Mushroom Science VI. First Scientific Symposium on the cultivated mushroom, Wageningen, May 28 and 29, 1965 and the Sixth International Congress on Mushroom Science, Amsterdam, May 31 Jun 3

GRUEN, H E (1982) In Basidium and Basidiocarp: Evolution, Cytology, Function, and Development (Wells, K And Wells, E K eds) Pp 125-155. Springer, New York

GUNAY, A 1995 Mantar Yetiştiriciliği İlke Kitabevi yayınları: 22, s 469, Ankara

- HAAGEN-SMIT, A.J., DANDLIKER, W.B., WITTWER, S.H. and MURNEEK, A.E. 1946. Isolation of 3-indoleacetic acid from immature corn cernels. *Am. J. Bot.* 33:118-120
- HAGIMOTO, H and KONISHI, M , 1960. Studies on the growth of the fruit body of fungi II Activity and stability of the growth hormone in the fruit body of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. *Bot Mag Tokyo* 73 : 283-7
- HALBERT, C.R., and SCHÍSLER, L.C., 1986 Effect of growth regulator compounds on yield and size of the commercial mushroom, *Agaricus bisporus*. Proc Int'l Sym. Scientific and Technical Aspects of Cultivating Edible Fungi. P 79-90
- HAMMOND, J.B.W., 1977 Carbohydrate metabolism in *Agaricus bisporus*: oxidative pathway in mycelium and sporophore. *J. Microbiol.* 102:245
- HORGAN, R., NEILL, S.J., WALTON, D.C. and GRIFFIN, D. 1983 Biosynthesis of abscisic acid. *Trans. Biochem. Soc.* 11:553-557
- JOYCE M H and STUTTE, C A ,1981 Analysis of Plant Hormones using High performance Liquid Chromatography *Journal of Chromatography*, 208 124-128
- JUNICHI S , WATANABE, M , MORIGUCHI, T and S YAMAKI ,1986 Good Correlation between Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay and Gas chromatographic Analysis of Abscisic acid in Apple Organs *J. Japan Soc. Hort Sci.* 58(4), 819- 826
- KACAR, B , 1994 Bitki ve toprağın kimyasal analizleri III Toprak analizleri, Ankara Univ Zir , Fak , Eğitim Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları , No 3, Ankara
- KAMINSKI, E , STAWICKI, S and WASOWICZ, E (1974) *Appl Microbiol.* 27 1001
- KAUR-MJ; and LAKHANPAL-TN, 1995 Effect of nutrient elements, vitamins and growth regulators on the vegetative growth of *Lentinus edodes* *Mushroom-Research* 1995, 4: 1, 11-14; 13 ref
- KAYNAK, L 1992 Büyümeyi Düzenleyici Kimyasal Maddelerin Bahçe Bitkilerinde Kullanımı (Ders notu) Yayınlanmamıştır
- KAYNAK, L 1996 Büyümeyi Düzenleyici Maddeler Yük. Lis. Ders notu (yayınlanmamış) Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Antalya
- KÖGL, F and HAAGEN-SMITH, A.J 1931 Über die Chemie des Wuchsstoffs *Proc Kon Nederl Akad Wetensch.* 34:1411-1416

- LAURENT, R and CROZIER, A ,1987 Principles and Practice of Plant Hormone Analysis (Volum 1 and 2)
- LOXH-BONAZZI, C , LE, WOLF, E , 1991 Characterization of the flavour properties of the cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) and the influence of drying processes Lebensmittel-Wissenschaft&Technologie 24, 386-390.
- MAU, J L (1992) 1-Octen-3-ol and 10-oxo-trans-8-decenoic acid in the cultivated mushroom , *Agaricus bisporus*. Ph D. Thesis. Pennsylvania State University
- MAU, J.L; BEELMAN, R B and ZIEGLER, G R 1992 1 -Octen- 3-ol in the Cultivated Mushroom, *Agaricus bisporus* *Journal of Food Science*, Vol:57, No:3, pp:704-706.
- MAU, J L; BEELMAN, R B and ZIEGLER, G R 1993 Factors affecting 1-octen-3-ol in mushrooms at harvest and during postharvest storage *Journal of Food Science*, Vol:58, No:2, pp:331-334
- Mc DOUGALL, J and HILLMAN, J R 1978 Analysis of indole-3-acetic acid using GC-MS techniques In " Isolation Plant Growth Substance" Society for Experimental Biology Seminar Series 4 (J R Hilmann, ed) pp 1-25 Cambridge University Press, Cambridge
- MILBORROW, B 1983 Biosynthesis of abscisic acid and related compounds In "Biosynthesis of Isoprenoid Compounds" Vol 2, (J W. Porter and S L Spurgeon, eds), pp 413-436 Academic Press
- MILBORROW, B and NODDLE, R C 1970 Conversion of 5-(1,2-epoxy-2,6,6-trimethylcyclohexyl)-3-methylpenta-cis-2-trans-4-dienoic acid into abscisic acid in plants Biochem J 119: 27-734
- MITCHELLL, R.J, MAWHINNEY, T.P., COX, G S, GARRETT, H E and HOPFINGER, J A 1984 *J Chromatog* (284): 494-498
- MOUSDALE, D M A 1981 *J Chromatog* (209): 489
- NEIL, S J, HORGAN, R and WALTON, D C 1984 Biosynthesis of abscisic acid In "The Biosynthesis and Metabolism of Plant Hormones" Society for Experimental Biology Seminar seriew 23 (A Crozier and J.R. Hillman, eds), pp 43-70, Cambridge University Press, Cambridge.
- URAYAMA, T , 1956 Das Wunshormon des Fruchtkörpers von *Agaricus campestris* L (Vorläufige Mitteilung) Bot Mag Tokyo 69: 298 – 9
- ÜLGER, (1997) Zeytinlerde periyodisite ve çiçek tomurcuğu oluşumu üzerine içsel büyümeye hormonlarının etkilerinin saptanması (Doktora tezi yayınlanmamış) Akad Ün,Fen Bilimleri Enstitüsü, s 204.

- PEGG, G.F., 1973. Gibberellin - like substances in the sporophores of the *Agaricus bisporus* (Lange) Inbach. *J Exp Bot* 24 (81):675-688.
- PHILIP, B S and DENNIS G S, 1978. Indole-3-acetic Acid Levels of Plant Tissue as Determined by a New High Performance Liquid Chromatography. *Plant Physiol* 61, 254-258
- PHINNEY, B O. 1984. GA₁, dwarfism and the control of shoot elongation in higher plants In "The Biosynthesis and Metabolism of Plant Hormones" Society of Experimental Biology Seminar Series 23 (A Crozier and J.R Hillman, eds) pp 17-41 Cambridge University Press, Cambridge
- POTTS, W.C and REID, J B 1983 Internode lenght in *Pisum* III The effect and interaction of the Na/na and Le/le gene differences on endogenous gibberellin-like substances *Physiol Plant* 57: 448-454.
- REEVE, D R and CROZIER, A 1980 Quantitative analysis of plant hormones In "Hormonal Regulation of Development 1. Molecular Aspects of PLants Hormones". Encyclopedia of plant physiology, new series, vol 9 (J Mac Millan, ed) pp 203-280, Springer-Verleg, Berlin
- RIVIER, L and CROZIER, A 1987 Principles and Practice of Plant Hormone Analysis (Biological techniques series) 1 Plant hormones Academic Press
- RIVIER, L and CROZIER, A 1987 Principles and Practice of Plant Hormone Analysis (Biological techniques series) 1 Plant hormones Academic Press
- SHUKLA-AN, 1995 Effect of hormones on the production of shiitake *Lentinus edodes* (Berk) Sing Mushroom-Research 1995, 4: 1, 39-42; 2 pl; 6 ref
- SLADKY, Z AND V. TICHY, 1974 Stimulation of the formation of fruiting bodies of the fungus *Lentinus tigrinus* (Bull) Fr By growth regulator Biol Plant (Prague) 16 (6): 436-443 ,
- SWEETSER, P B and SWARTZFAGER, D G 1978 Indole-3-acetic acid levels of plant tissue as determined by a new HPLC method *Plant Physiol* (61): 254-258
- IAN,-YH, CHANG,-ST, 1989 Effect of growth regulators, enzyme inhibitors and stimulatory additives on the vegetative development and fructification of *Lentinus edodes* Mushroom Science Part II Proceedings of the twelfth international congress on the science and cultivation of edible fungi September 1987, Braunschweig, Germany 1989, 267-277; 20 ref Braunschweig, Germany; International Society for Mushroom Science
- TRESSL , R , BAHRI, D , and ENGEL, K H (1982) *Agric. Food Chem* 30, 89

- WHITE, P.F. 1986 Effects of bendiocarb and diflubenzuron on mushroom cropping
Ann.Appl.Biol 108: 11-20
- WOOD, D.A., 1976 Primordium formation in axenic culture of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. *J. Gen. Micro* 95: 313-323
- YILDIRIM, M.B., 1994 Populasyon ortalaması için güven aralığı konması E.U.Z.F. yayınları. Ders notları: No:22 s 18-22 Bornova-İzmir
- YOKOTA, T., MUROFISHI, N. and TAKAHASHI, N. 1980 Extraction, purification and identification In " Hormonal Regulation of Development I Molecular Aspects of Plant Hormones" Encyclopedia of Plant Physiology, New Series Vol 9 (J. MacMillan, ed) pp 113-201, Springer-Verlag, Berlin.
- ZIMMERMAN, D C. and COUDRON, C A , 1979 *Plant Physiol*. 63, 536

10. EKLER

title :
run File : C:\STAR\MODULE16\ERSIN\F1S2A001.RUN
method File : C:\STAR\MODULE16\HESAB.RUN
sample ID : Manual Sample

Injection Date:

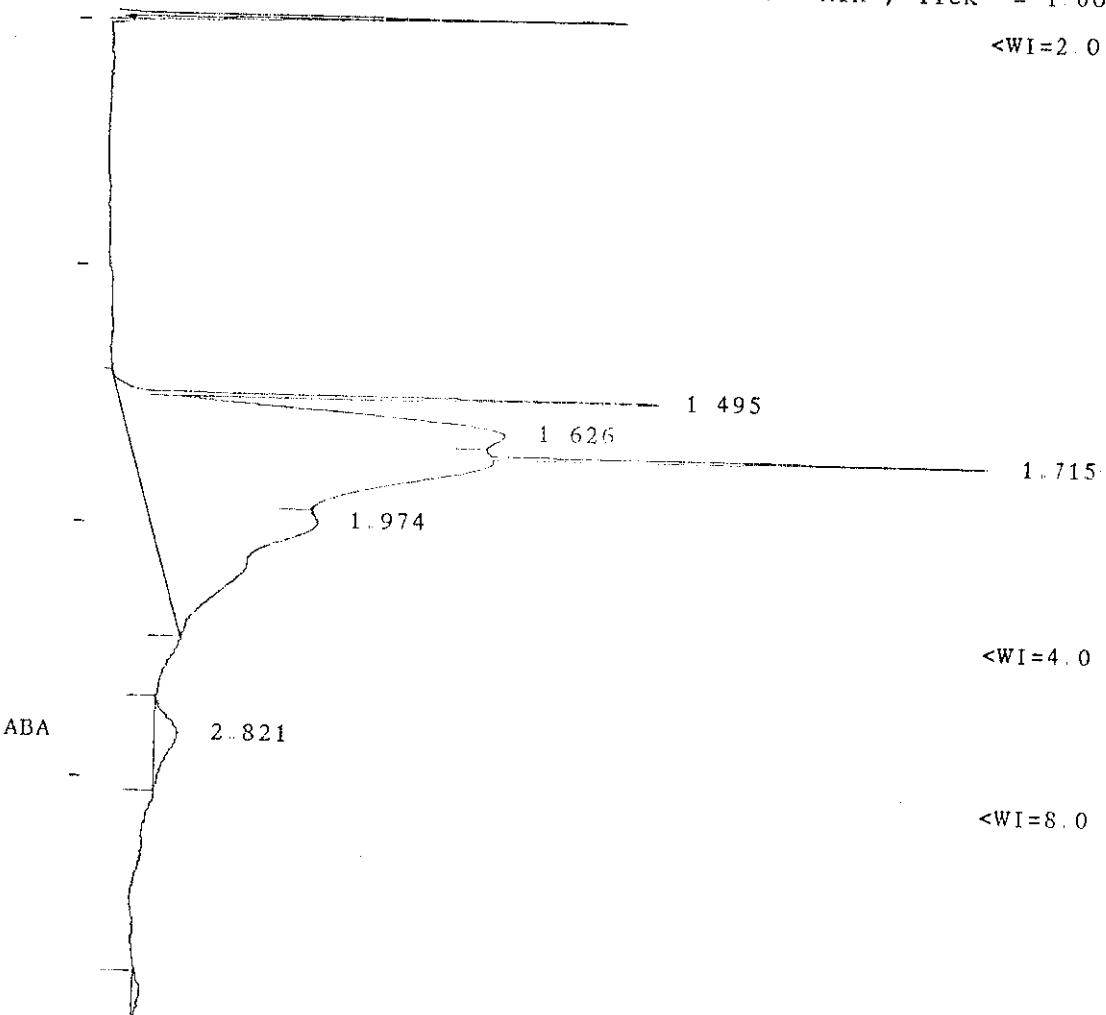
Recalculation Date:

operator : Number 1
workstation: MS-DOS_6V
instrument : Varian Star
Channel : A = A

Detector Type: ADCB (1 Volt)
Bus Address : 16
Sample Rate : 10.00 Hz
Run Time : 5.002 min

***** Varian Star Workstation ***** Rev. C 08/20/90 *****

Chart Speed = 4.02 cm/min Attenuation = 3 Zero Offset = 9%
Start Time = 0.000 min End Time = 5.002 min Min / Tick = 1.00



Ek-1. Reversed Phase HPLC'de ABA'nın çıkış zamanı

Title :
Run File : C:\STAR\MODULE16\ERSIN\F1S2A001.RUN
Method File : C:\STAR\MODULE16\HESAB.RUN
Sample ID : Manual Sample

Injection Date: Recalculation Date:

Operator : Number 1
Workstation: MS-DOS_6V
Instrument : Varian Star
Channel : A = A

Detector Type: ADCB (1 Volt)
Bus Address : 16
Sample Rate : 10.00 Hz
Run Time : 5.002 min

***** Varian Star Workstation ***** Rev. C 08/20/90 *****

Run Mode : Analysis
Peak Measurement: Peak Area
Calculation Type: External Standard

Peak No.	Peak Name	Result (PPM)	Retention Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Sep Code	Width 1/2 (sec)
1		0.0000	1.495		342	BV	0.6
2		0.0000	1.626		2562	VV	0.0
3		0.0000	1.715		3755	VV	0.7
4		0.0000	1.974		2062	VB	39.0
5	ABA	0.0073	2.821	0.011	187	BB	8.6
Totals:		0.0073		0.011	8909		

Total Unidentified Counts : 8721 counts

Detected Peaks: 9 Rejected Peaks: 4 Identified Peaks: 1

Amount Standard: 1 000000 Multiplier: 1.000000 Divisor: 1 000000

Noise: 0 microVolts/sec Baseline Offset: -63 microVolts

Error Log:

Ek-2. Reversed Phase HPLC'de ABA'nın Kantitatif olarak hesaplanması

Title :
Run File : C:\STAR\MODULE16\ERSIN\F2PG001.RUN
Method File : C:\STAR\MODULE16\HESAB.RUN
Sample ID : Manual Sample

Injection Date:

Recalculation Date

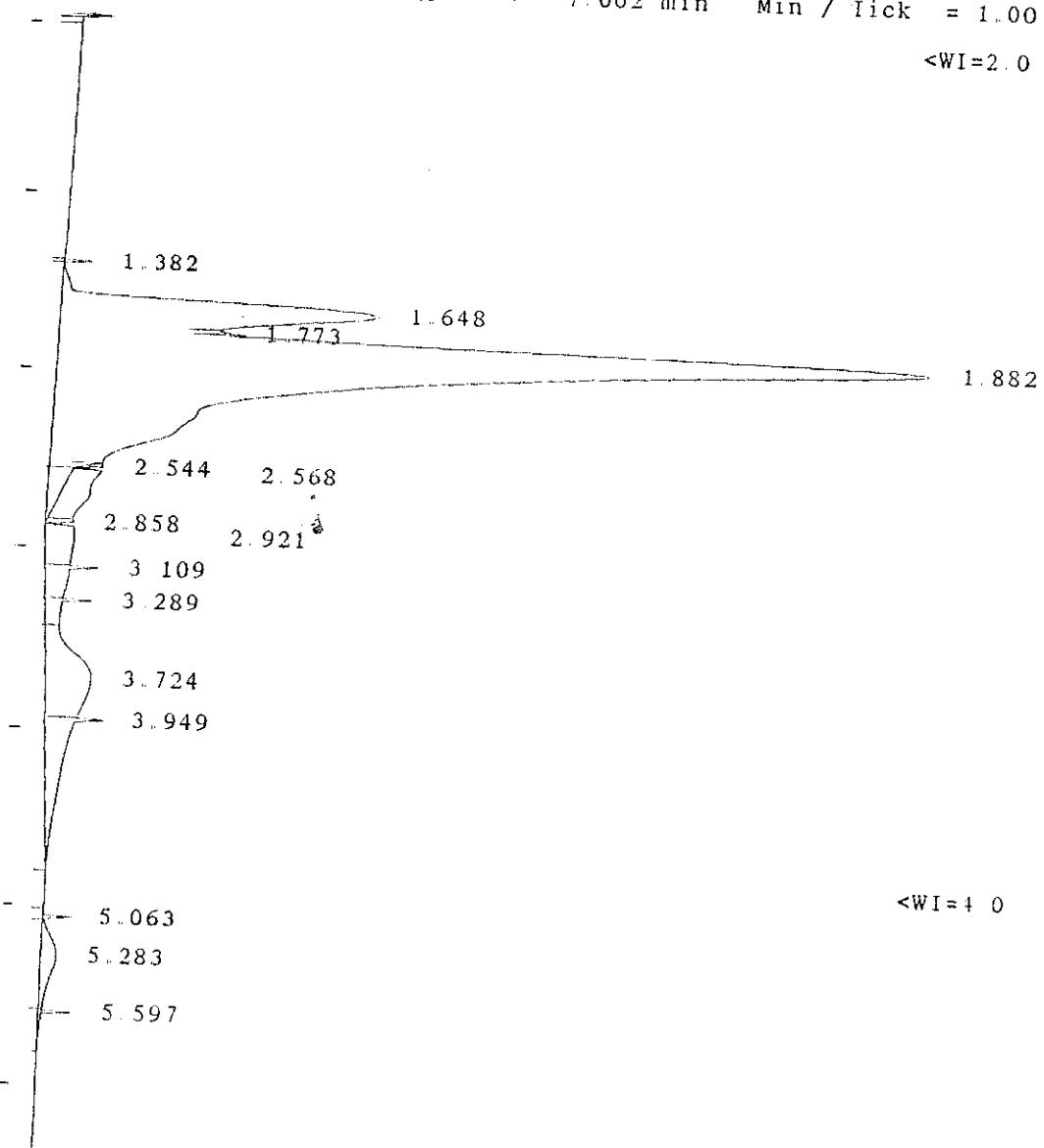
Operator : Number 1
Workstation: MS-DOS_6
Instrument : Varian Star
Channel : A = A

Detector Type: ADCB (1 Volt)
Bus Address : 16
Sample Rate : 10.00 Hz
Run Time : 7.002 min

***** Varian Star Workstation ***** Rev. C 08/20/90 *****

Chart Speed = 2.87 cm/min Attenuation = 59 Zero Offset = 2%
Start Time = 0.000 min End Time = 7.002 min Min / Tick = 1.00

<WI=2.0



<WI=4.0

Ek-3. Reversed Phase HPLC'de GA₃'nın çıkış zamanı

Title :
Data File : C:\STAR\MODULE16\ERSIN\F2PG001.RUN
Method File : C:\STAR\MODULE16\HESAB.RUN
Sample ID : Manual Sample

Injection Date:

Recalculation Date:

Operator : Number 1
Workstation: MS-DOS_6
Instrument : Varian Star
Channel : A = A

Detector Type: ADCB (1 Volt)
Bus Address : 16
Sample Rate : 10.00 Hz
Run Time : 7.002 min

***** Varian Star Workstation ***** Rev. C*08/20/90 *****

Run Mode : Analysis
Peak Measurement: Peak Area
Calculation Type: External Standard

Peak No.	Peak Name	Result (PPM)	Retention Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)
1		0.0000	1.382		267	BV	0.6
2		0.0000	1.648		38651	VV	0.0
3		0.0000	1.773		3731	VV	0.0
4		0.0000	1.882		197273	VP	10.8
5		0.0000	2.544		312	TS	0.0
6		0.0000	2.568		6980	TF	0.0
7		0.0000	2.858		475	TF	0.0
8		0.0000	2.921		5583	PV	0.0
9		0.0000	3.109		3829	VV	0.0
10		0.0000	3.289		2439	VV	0.0
11		0.0000	3.724		15285	VV	0.0
12		0.0000	3.949		9290	VB	0.0
13		0.0000	5.063		284	BV	0.6
14	GA	0.1474	5.283	-0.140	3808	VV	14.9
15		0.0000	5.597		504	VB	0.7
Totals:		0.1474		-0.140	288712		

Total Unidentified Counts : 284904 counts

Detected Peaks: 17 Rejected Peaks: 2 Identified Peaks: 1

Amount Standard: 1.000000 Multiplier: 1.000000 Divisor: 1.000000

Noise: 0 microVolts/sec Baseline Offset: 112 microVolts

Error Log:

Ek-4. Reversed Phase HPLC'de GA₃'nın kantitatif olarak hesaplanması

ÖZGEÇMİŞ

1967 yılında Erzurum-İspir'de doğdum İlkokulu Yalova'da, lise öğrenimimi Antalya'da tamamladım 1984 yılında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü kazandım ve mezuniyet öncesi 1987 yılında stajımı yapmak üzere 3 ay süre ile Batı Almanya'nın Bonn şehri yakınlarında, meyvecilik üretimi yapan özel bir çiftlikte çalıştım Fakülte'den 1988 yılında mezun oldum ve aynı yıl aynı Bölüm'e kadrolu Araştırma Görevlisi olarak atanarak Yüksek Lisans öğrenimime başladım 1991 yılında "Değişik Isı Perdelerinin Örtüaltında Yetişirilen Bazı Patlican Çeşitlerinin Verim ve Kaliteleri Üzerine Etkileri" adlı Yüksek Lisans Tez çalışmamı bitirdim 1993 yılında aynı Bölüm'de "Kültür mantarının (*Agaricus bisporus*) değişik büyümeye dönemlerinde bazı içsel hormonların ve düzeylerinin belirlenmesi üzerinde araştırmalar" konulu doktora çalışmasına başladım 1998 yılında 45 gün süre ile İsrail'de Volcani Center Araştırma Enstitüsü'nde düzenlenen "Protected Cultivation of High Value Crops" konulu kursu başarılı ile tamamladım

Halen aynı Bölüm'de Araştırma Görevlisi olarak bilimsel çalışmalarına devam etmekteyim