



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***İN VİTRO* KOŞULLARDA SU BİTKİSİ
Ludwigia ovalis VE *Gratiola viscidula*'NİN
REJENERASYONU**

Tuba ALTUNKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

**Eylül-2020
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Tuba ALTUNKAYA tarafından hazırlanan *İn vitro* Koşullarda Su Bitkisi *Ludwigia ovalis* ve *Gratiola viscidula*’nın Rejenerasyonu” adlı tez çalışması 27/08/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri**İmza****Başkan**

Unvanı Adı SOYADI

Prof.Dr.Muhammed ASIM

Danışman

Unvanı Adı SOYADI

Prof.Dr.Mehmet KARATAŞ

Üye

Unvanı Adı SOYADI

Doç.Dr.Ceyda ÖZFİDAN KONAKÇI

Üye

Unvanı Adı SOYADI

Dr.Öğretim Üyesi Suray PEHLİVANOĞLU

Üye

Unvanı Adı SOYADI

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun .../.../20.. gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. S. Savaş DURDURAN
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Tuba ALTUNKAYA

Tarih:

ÖZET**YÜKSEK LİSANS TEZİ*****İN VİTRO* KOŞULLARDA SU BİTKİSİ *Ludwigia ovalis* VE *Gratiola viscidula*'nın
REJENERASYONU****TUBA ALTUNKAYA****Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı****Danışman: Prof.Dr. Mehmet KARATAŞ****2020,52 Sayfa****Jüri****Prof.Dr.Mehmet KARATAŞ****Prof.Dr.Muhammed ASIM****Doç.Dr.Ceyda ÖZFİDAN KONAKÇI****Dr.Öğretim Üyesi Suray PEHLİVANOĞLU**

Ludwigia ovalis ve *Gratiola viscidula* bitkisi kullanım açısından zengin bir bitkidir. Yüksek verim ve biyomas üretimi için ekonomik bir bitkidir. *Ludwigia*'nın Üretim süreci kısa sürer ve belirli bir yüksekliğe kadar büyür. Ülkemizde Irmak yatakları 23.250 dekadır. Türkiye'de bu tür arazilerde kültür bitkisi yetiştirilmektedir. *Ludwigia* ve *Gratiola*'nın özellikle sevdiği bu sulak alanlar değerlendirilebilir. Ayrıca, bu bitkiler, fitoremediasyon için de kullanılmaktadır. Atık sularda ki ağır metalleri absorbe etmesi, hayvan yemi ve silaj preparasyonunda kullanılması ve in vitro koşullarda üretimi sağlanarak süs bitkisi, teraryum bitkisi ve yaralardaki enfeksiyonu nötralize etme görevi ile potasyum açısından zengin olan yapraklarının kullanılması *L.ovalis* ve *G.viscidula*'nın biyoteknolojik alanda çeşitliliğini gösterir. Bu çalışmanın amacı, su bitkisi, teraryumlar için ve süs bitkisi olarak kullanılan, maliyeti pahalı olan ve diğer çeşitli amaçlar için kullanılan *L.ovalis* ve *G.viscidula* bitkilerinin, in vitro koşullarda optimizasyonunu sağlamaktır.

Anahtar Kelimeler: biyomas,fitoremediasyon,preparasyon,silaj

ABSTRACT**MS*****IN VITRO* REGENERATION OF WATER PLANT *Ludwigia ovalis* AND *Gratiola viscidula*****Tuba ALTUNKAYA****THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
BIOTECHNOLOGY****Advisor: Prof.Dr. Mehmet KARATAŞ****2020,54 Pages****Jury****Prof.Dr.Mehmet KARATAŞ****Prof.Dr.Mehmet KARATAŞ****Prof.Dr.Muhammed ASIM****Doç.Dr.Ceyda ÖZFİDAN KONAKÇI****Dr.Öğretim Üyesi Suray PEHLİVANOĞLU**

Ludwigia ovalis and *Gratiola viscidula* plant is a plant rich in use. It is an economical plant for high yield and biomass production. Production process of *Ludwigia* takes a short time and grows to a certain height. River beds in our country dekadır.türkiye 23,250 plants are grown in culture in such terrain. These wetlands, especially loved by *Ludwigia* and *Gratiola*, can be considered. In addition, these plants are also used for phytoremediation. To absorb heavy metals in wastewater, to be used in animal feed and silage preparation and to provide the production of in vitro conditions by using ornamental plants, terrarium plants and the leaves that are rich in potassium in the biotechnological area of *L.ovalis* and *G.viscidula*. shows variety.

The aim of this study is to optimize the optimization of *L.ovalis* and *G.viscidula* plants used for aquatic plants, terrariums and ornamental plants, which are expensive and used for various other purposes.

Keywords: biomass, phytoremediation, preparation,silage

Bu tez çalışmasında, akuatik bir bitki olan *Ludwigia ovalis* ve *Gratiola viscidula*'nın morfolojik özelliklerine bakılarak in vitro doku kültüründe rejenerasyonu incelenmiştir.

İlk olarak bana bu tez konusunu öneren danışman hocam Sayın Prof.Dr.Mehmet KARATAŞ'a, tezimin en başından sonuna kadar benimle beraber olan yardımlarıyla hep yanımda olan başta Prof.Dr.Muhammed AASIM'a, Dr.Ögr.Üyesi Muhammet DOĞAN hocalarıma sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım. Ve elbette ki beni bu derya deniz olan bilimle tanıştıran, her zaman yanımda olan annem, babam, biricik ablam ve varlığıyla hayatımdaki sevginin en masum hali olan canım yeğenim Sarem'e ne kadar teşekkür etsem azdır. İyi ki varsınız... Sevgilerimle.

Tuba ALTUNKAYA
KONYA-2020

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	4
ABSTRACT.....	5
İÇİNDEKİLER.....	7
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	9
ÇİZELGELER DİZİNİ	10
ŞEKİLLER LİSTESİ	11
1.1 .Doku Kültürü	12
1.1.2.Ludwigia ovalis ve Gratiola viscidula.....	13
1.1.3. Akuatik Bitkiler	15
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.	17
2.1. Ludwigia ovalis ve Gratiola viscidula Bitkisinde İn Vitro Rejenerasyon Çalışmaları.....	17
2.1.1. Ludwigia ovalis ve Gratiola viscidula Bitkisinde İn Vitro Mutagenez Çalışmaları.....	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM	21
3.1. Bitki Materyali.....	21
3.1.2. Besin Ortamı ve Doku Kültürü Koşulları.....	21
3.1.3.Bitkilerin Yüze Sterilizasyonu	22
3.1.4.Eksplant İzolasyonu ve Kültürü.....	22
3.1.5. İn Vitro Köklendirme ve Bitki Adaptasyonu.....	23
3.1.6. İn vitro Çoğaltılmış Bitkilerin Veri Alımı.....	22
3.1.7.İstatistik Analiz.....	23
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	23
4.1. Farklı Konsantrasyonlarda Kullanılan BAP Hormonunun Gratiola Viscidula'nın Sürgün Ucu ve Yaprak Eksplantında Rejenerasyon Çalışması	23
4.1.2. Farklı Konsantrasyonlarda Kullanılan BAP Hormonunun Ludwigia ovalis'in Sürgün Ucu ve Yaprak Eksplantında Rejenerasyon Çalışması	26
6.TARTIŞMA	39
7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	44
7.1 Sonuçlar	44
7.1.2.Öneriler	46

8. KAYNAKLAR.....	46
ÖZGEÇMİŞ	51



SİMGELER VE KISALTMALAR**Simgeler****Simgeler**

Cm

Cm²

G, mg, µg

HCl

L, ml, µl

MS

NaOH

HgCl₂**Açıklama**

Santimetre

Santimetrekare

Gram, miligram, mikrogram

Hidroklorik Asit

Litre, mililitre, mikrolitre

Murashige ve Skoog Temel Besin Ortamı

Sodyum Hidroksit

Civa klorür

Kısaltmalar

BAP

TDZ

KIN

IAA

VK

SD

KO

Açıklama

6-Benzilaminopürin

Thidiazuron

Kinetin

Indol-3-asetik asit

Varyansın Kaynağı

Serbestlik Derecesi

Karelerin Ortalaması

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 4.0. Farklı sürelerde uygulanan civa klorürün sterilizasyon ve eksplantların gelişimi üzerine etkisi.....	27
Çizelge 4.1. Farklı BAP konsantrasyonunun <i>G. viscidula</i> bitkisinin sürgün rejenerasyon çalışmasına ait varyans analizi.....	28
Çizelge 4.2. Farklı BAP konsantrasyonunun <i>G. viscidula</i> bitkisinin sürgün rejenerasyonu.....	28
Çizelge 4.3. Farklı KIN konsantrasyonunun <i>G. viscidula</i> bitkisinin sürgün rejenerasyon çalışmasına ait varyans analizi.....	31
Çizelge 4.4. Farklı KIN Konsantrasyonunun <i>G. viscidula</i> Bitkisinin Sürgün Rejenerasyonu.....	31
Çizelge 4.5. Farklı TDZ konsantrasyonunun <i>G. viscidula</i> bitkisinin sürgün rejenerasyon çalışmasına ait varyans analizi.....	33
Çizelge 4.6. Farklı TDZ Konsantrasyonunun <i>G. viscidula</i> Bitkisinin Sürgün Rejenerasyonu.....	33

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. <i>Ludwigia ovalis</i> Bitkisinin Genel Görünümü.....	14
Şekil 2. <i>Gratiola viscidula</i> Bitkisinin Genel Görünümü.....	15
Şekil 3. <i>Gratiola viscidula</i> 'nın 2.0 mg/ml BAP İçeriğindeki Kontaminasyonu.....	23
Şekil 4. 1.0 mg/L BAP 1. Tekerrür Denemesi.....	29
Şekil 5. 1.0 mg/L BAP 2. Tekerrür Denemesi.....	29
Şekil 6. 0.25 mg/L BAP 1. Tekerrür Denemesi.....	30
Şekil 7. 0.50 mg/L KIN 1. Tekerrür Denemesi.....	32
Şekil 8. 1.0 mg/L KIN 1. Tekerrür Denemesi.....	32
Şekil 9. 0.25 mg/L TDZ 1. Tekerrür Deneme.....	34
Şekil 10. 0.50 mg/L TDZ 1. Tekerrür Deneme.....	35
Şekil 11. <i>Ludwigia ovalis</i> Bitkisinin Kontaminasyonu.....	36
Şekil 12. <i>Ludwigia ovalis</i> 'in 1.0 mg/L BAP Ortamında Sürgün Uç ve Boğum Kontaminasyonu.....	36
Şekil 13. <i>Ludwigia ovalis</i> bitkisinin 3.0 mg/L KIN Denemesinde Boğum Eksplantında Bakteriyel Kontaminasyonu.....	37

1.GİRİŞ

1.1. Doku Kültürü

Doku kültürü çalışmalarında bitkinin doku ve organları, aseptik bir ortamda kontrollü şartlarda yetiştirilir. Bu teknik, ana olarak bitki hücrelerinin totipotensi özelliğine dayanır. Totipotensi, tek bir hücrenin, hücre bölünmesiyle tüm bir genomu oluşturma yeteneğini ifade eder. Bitki doku kültürü ortamı, bitkilerin normal büyümesi ve gelişimi için gerekli tüm besin maddelerini içerir. Temel olarak makro ve mikro besinler, vitaminler, diğer organik bileşenler, bitki büyüme düzenleyicileri, karbon kaynağı ve katı ortam durumunda bazı jelleştirici maddelerden oluşur. Murashige ve Skoog besiyeri (MS besiyeri), birçok bitki türünün in vitro üremesi için sıklıkla kullanılır. Ortamın pH'ı, hem bitki büyümesini hem de bitki büyüme düzenleyicilerinin aktivitesini etkileyen önemli bir faktördür. Ortamın pH'ı 5.6- 5.8 arasındaki değere ayarlanır. Kültür için hem katı hem de sıvı ortam kullanılabilir (Hussain ve ark. 2012, Bridgen ve ark 2018). Mikroorganizmalar doku kültürü çalışmalarında bulaşık/kontaminasyon olarak kabul edilir. İn vitro rejenerasyon çalışmalarında en ağır kayıplar kontaminasyon yüzünden oluşur. Bu tür kontaminasyonlara örnek olarak; virüs, bakteri, maya, mantar vb mikroorganizmalar sayılabilir (Oyebanji ve ark. 2009). Yapılan sterilizasyon yetersiz ise mantar, maya ve bakteri oluşabilir. Bitkiden aldığımız eksplant örneklerinde toprağa maruz kalan bitki kısımları, tarlada, yetişen bitkiler ile sucül bitkileri sterilize etmek genellikle zordur (Leifert, 2009). Bitki doku kültüründe kullanılan ortamlar, çeşitli besin maddeleri, mineraller, bitki yetiştirme maddeleri, vitaminler ve şeker bileşenlerini içerir. Bu kültür ortamları ayrıca bakteri ve mantarların hızlı büyümesi için de uygundur. Bu kontaminasyonlar, bitki dokusunu veya kültürü istila ettikleri için hızla büyüyerek besin ortamını tüketir ve kültürlenmiş bitki dokusunun büyümesini etkiler. Bu nedenle, tüm in vitro bitki kültürü yönlendirmeleri için steril tekniklerin kullanılması gereklidir. Doku kültürü sisteminin hazırlanması ve korunması, kültür ortamının sterilizasyonunu, kültürlenecek bitki dokusunun yüzey sterilizasyonunu ve kullanılan herhangi alet ve ekipmanların sterilizasyonunu gereklidir. Bu çalışmanın içeriğinde de aquatik bir bitki olan *Ludwigia ovalis* ve *Gratiola viscidula*'nın farklı sürelerde civa klorür (HgCl₂) ile muamele sonucu gerçekleşen yüzey sterilizasyonunu sunmaktadır.

1.1.2. *Ludwigia ovalis* ve *Gratiola viscidula*

Klorofil bulunduran su bitkileri sucul yaşamın birincil üreticileridir. Suyun oksijenazyonunu fotosentez aktivitesi ile sağlamaktadırlar. Su bitkileri, su kirliliğinin biyolojik yöntemlerle belirlenmesinde ve patojen bakterilerin ortamdaki uzaklaştırılmasında önemli rol oynarlar. Patojen bakteriler bilindiği gibi asidik ortamı tercih etmektedir, bitkisel organizmalar ise ortamı bazikleştirdiği için bakterilerin uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Su bitkileri aynı zamanda yumurtadan çıkan balık larvaları için, korunma ve beslenme alanları oluşturmaktadır (Yenice, 2010). Su bitkileri bulunduğu ortamda dengenin oluşturulması için vazgeçilmez canlılardır. Bitkiler sudaki karbondioksiti alarak oksijen üretirler. Sucul bitkiler, kanalizasyon veya atık su arıtma sistemlerinin sıvı atıklarından ağır metallerin uzaklaştırılmasında kullanılırlar. Bu sistemler; fosfor, azot ve diğer bitki besin elementlerini içerir. Atık sulardan bu metallerin uzaklaştırılmasında genellikle pahalı kimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Ama bazı su bitkileri ile daha az maliyetle ağır metalleri absorbe ederek arıtma sağlanabilir. İğne yapraklı olan *Ludwigia ovalis*, narin yeşil ve kırmızı yaprakları olan güzel bir bitkidir. Bu akvaryuma hareket ve boyut katan bir bitkidir. İğne yaprağı bitkileri, gövdenin tüm uzunluğu boyunca zıt çiftler halinde büyüyen ince ve sivri yapraklara sahiptir. Suda bulunan demir miktarına bağlı olarak yapraklar yeşil veya kırmızı olabilir. İğne yaprağı çok yönlü bir bitkidir, ancak arzu edilen parlak kırmızı rengi elde etmek için yüksek aydınlatma ve besin seviyeleri sağlanmalıdır. Yüksek demir içeriği, daha fazla kırmızı ton ortaya çıkarır. Bu bitkinin ekimi için CO₂ enjeksiyonu gerekli değildir, ancak daha sağlam şekilde büyümesine yardımcı olabilir. Büyüdükçe, yapraklar diğer *Ludwigia* türleri gibi yuvarlak olma eğilimindedir ve yeşil kalır. Yüksek ışık altında büyütüldüğünde ve bir akvaryuma daldırıldığında, yapraklar besine bağlı olarak rengi turuncuya döner. En hassas görünen *Ludwigia* türlerinden biridir. Bu türler, sürünen veya sürünerek yetişen, palustrine (bataklık) ortamlarında ve nehirlerin ve göletlerin kenarları boyunca su altında kalan bitkilerdir. Mikro ışıklı gübreler sürgün tepelerinin ve yaprakların alt kısımlarının kırmızı renklenmesini arttırmaya yardımcı olmakla birlikte, yeterli ışık ana gereksinimidir. *Bu* çiçeklerin karakteristik özelliği dört yapraklı olmasıdır. Bu türler dallanma eğilimi gösterdiğinden yan sürgünlerin birkaçı kesilebilir ve ekilebilir. Türler ayrıca 'tepesinde' olabilir ve ekilebilir; kısa süre sonra substratta bırakılan kısmın düğümlerinde yeni sürgünler gelişecektir.

Türler görünüşte çok ince olduğundan *Ludwigia ovalis* en etkili şekilde en az yarım düzine (ve tercihen daha fazla) sürgün içeren gruplara ekilir.



Şekil 1. *Ludwigia ovalis* Bitkisinin Genel Görünümü

Bir diğer bitkimiz olan *Gratiola viscidula* Plantaginaceae familyasına ait sucul bir bitkidir. Daha çok Amerika, Avrasya ve Avustralya'nın ılıman veya tropik bölgelerinde yayılım gösteren otsu bir türdür. *Gratiola viscidula*, büyük ölçüde izole popülasyonlara sahip bir Kıyı Ovası türüdür. Ohio, Kentucky ve Batı Virginia'da Kanawha ve Ohio Nehri vadilerinin sınırlı bir bölgesinde meydana gelir. *Gratiola viscidula* ilk olarak Batı Virginia için Brumfield ve diğerleri (1982) tarafından rapor edilmiştir. Spooner (1984), üç Batı Virginia eyaleti de dahil olmak üzere türlerin ulusal dağılımını haritalandırır: Cabell, Mason ve Putnam. düğmeli göletlerde ve eski Teays Nehri sistemiyle ilişkili nehir kenarındaki sulak alanlarda yetişir. *Gratiola*'nın dünya çapındaki tek taksonomik tedavisi 160 yıldan daha uzun bir süre önce yayınlanmış moleküler filogenetik çalışmalara sadece birkaç cinsi dahil edilmiştir. *Gratiola*'nın filogenetik ilişkileri, morfolojik karakter evrimi ve biyocoğrafik yapıların incelenmesi yapılmıştır. DNA sekansı verileri ve morfolojisi kombinasyonunun kullanılması ve yakından ilişkili ve ağırlıklı olarak doğu Kuzey Amerika türlerinden oluşan dört kişilik bir grup olan *Gratiola neglecta* tür kompleksinin taksonomik bir çalışmasını yürütür. Kuzey Amerika kökenli olup su hobisi için yeni ve oldukça güzel bir bitkidir. Su altında kalmış formun dikenli görünümü, onu kolay bir şekilde diğer bitkilerden ayırır. Yüksek derecede beyaz ışığı tercih ederek büyümesi oldukça kolaylaştırır. Her gövde yaklaşık 1-2 cm genişliğindedir ve maximum 10 cm boyunda olabilir. Kök kısmından dallanır,

yayılır ve bitkiye çok yoğun bir görünüm kazandırır. Bu türün bilinen popülasyonları birkaç bireyden oluşmaktadır. *Gratiola viscidula*, Batı Virginia'nın gelecekteki enderlik listelerine dahil edilmeyi hak ediyor.



Şekil 2. *Gratiola viscidula* Bitkisinin Genel Görünümü

Gratiola viscidula geleneksel akvaryumlarda ve su bahçelerinde süs bitkisi olarak kullanılarak daha fazla popülerlik kazanmaktadır.

1.1.3 AKUATİK BİTKİLER

Akuatik bitkiler, terapötik özellikli olduğu için halk arasında ilaç olarak kullanımı oldukça yaygındır. Süs amaçlı, bitki ıslahı veya su kalitesini korumak için akvaryumlara ekilen tıbbi bitki, arındırıcı bitki ve süs bitkisi türlerini içerir. Çok yönlü oldukları için oldukça popülerlik kazanmıştır. Su bitkileri, kimyasal veya morfolojik özelliklerine göre seçilir (Stodola 1980). Bu sucul bitkiler, Ayurveda gibi farklı geleneksel tıbbi sistemlerde uzun süredir kullanılmaktadır (Gonsalves 2010). Karasal veya sucul bitkilerin, hint geleneksel tıbbi sisteminde kullanılan tıbbi bileşenlerin % 80'ini sağladığı tahmin edilmektedir. Sınırlı talep nedeniyle, in vitro koşullarda nadiren mikro çoğaltılmaktadır. (Pierik ve Ruibing 1997).

Tatlı su bitkilerinin çoğu, Güneydoğu Asya, Malezya ve Endonezya, Vietnam, Laos ve Kamboçya çevrelerinde tamamen su altında veya ortaya çıkmış olarak bulunur. (Kasselmann, 1999). Çevremizdeki su birikintilerinde çok sayıda su bitkisi bulunur. Yabani otlar veya düşük ekonomiye sahip olduğu düşünülerek su bitkileri çoğu zaman görmezden gelinir. Bu bitkiler hiçbir zaman ilgi odağı olmadı ve genellikle doğal seleksiyona bırakıldı. Bitki biyoteknolojisi teknikleri, doku kültürü ve mikro çoğaltma, karasal bitkilerin kültüre alınması için yaygın olarak kullanılsa da, su bitkilerinde uygulama alanı daha azdır. Sucul bitkileri in vitro çoğaltılmasıyla ilgili araştırmalar çok nadirdir. Sucul bitki biyoteknolojisi bu derya deniz okyanusta zamanla büyüleyici olmuştur.



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Su bitkileri, oksijen seviyelerini, organik maddeleri ve diğer suda yaşayan organizmaların beslenme ve üreme ortamlarını koruyan su ortamlarında önemli canlı organizmalardır (Cirik ve diğerleri,2011). Herhangi bir su kütleinin verimliliği, ekosistemin birincil ve ikincil üreticileri oldukları için içerdikleri su bitkilerinin miktarına göre belirlenir (Oyedeji ve Abowei, 2012). Bu bitkilerden bazıları hem süs hem de terapötik tedavi olarak kullanımlarından dolayı yüksek bütçeye sahiptir. *Plantaginaceae* familyasına ait sucül bir bitki olan *Gratiola viscidula* ve *Ludwigia ovalis* maliyeti yüksek bir bitki türüdür. Geleneksel veya modern biyoteknolojik methotlarının uygulanması, bu bitkilerin in vitro olarak gelişmesine imkan tanır. Özellikle bu bitkiler ile yapılan esas çalışmalar taksonomiye göre sınıflandırmadır. Bu bitkilerde doku kültürü teknikleri ile istenen özellikleri kısa sürede geliştirmeye izin verir. Bitki doku kültürü tekniği kullanılarak bitkilerin mikroçoğaltımı gerçekleştirilir.

2.1. *Ludwigia ovalis* ve *Gratiola viscidula* Bitkisinde İn Vitro Rejenerasyon Çalışmaları

Ludwigia ovalis ve *Gratiola viscidula* in vitro rejenerasyonu üzerine son yıllarda çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu çalışmaların farklılığı literatürde doku kültürü tekniği kullanılarak taksonomi çalışmalarının yanı sıra kullanılan tekniklerin geliştirilmesi veya genişletilmiş bilgi bankası elde etmektir. İn vitro morfogenezde bitkinin sürgün oluşturması ve büyüme gösterebilmesi için birbirinden farklı bazal ortamlar, farklı eksplantlar ve çeşitli hormonlar veya birleştirilmiş hormon uyumları kullanılmıştır. Bu yüzden doku kültürü besi ortamı olarak bazal ortam kaçınılmazdır. Çünkü bitkinin gereksinim duyduğu mikro ve makro besin kaynaklarını bu ortam ihtiva eder. *Ludwigia ovalis* ve *Gratiola viscidula* bitkilerinin mikroçoğaltımları için genellikle MS (Murashige and Skoog) besi ortamı tercih edilmiştir. (Gnanaraj ve diğerleri 2011), *Alternanthera sessilis*'in in vitro koşullarda hızlı çoğaltımı için sürgün ucu, yaprak, gövde nodları ve internodları farklı oranlarda sitokin ve oksin içeren MS ortamlarında kültüre alınmıştır. Sürgün ucu eksplantlarında en fazla sürgün rejenerasyon oranı (%94) ve eksplant başına sürgün sayısı (23 adet) 2,00 mg/L BAP içeren MS ortamında kaydedilmiştir. Nodal eksplantlarda en fazla sürgün rejenerasyon oranı (90), nod başına

sürgün sayısı (15) 1,5 mg/L BAP içeren MS ortamında gözlenmişlerdir. En fazla kallus oluşumu ise 2 mg/L-D içeren MS ortamındaki yaprak (92) ve internod (88) gözlenmiştir. En yüksek oranda kök oluşumu (97) ve sürgün başına en fazla kökçük sayısı (6,3) 3 mg/L ^{1/2} MS içeren ortamda elde edilmiştir.

Doku kültürü tekniğinde yaygın olarak kullanılan ve tavsiye edilen karbon kaynakları içerisinde sükroz, früktoz veya glikoz bulunur. Lakin *Ludwigia ovalis* ve *Gratiola viscidula* bitkilerinin rejenerasyon çalışmalarında en yaygın kullanılanı karbon kaynağı sükrozdur (Sumaryono ve diğerleri, 2012). Bitki doku kültüründe bir başka önemli etken katılaştırıcı maddelerdir. Bunlara örnek olarak agar, fitagel gibi maddeler verilir. (Babbar vd, 2006). *Ludwigia ovalis* ve *Gratiola viscidula* bitkilerinin rejenerasyonu için agar tercih edilmektedir, yalnız bazı çalışmalar deney ihtiyacına yönelik katılaştırıcı madde kullanılmaksızın (sıvı ortam) hazırlanabilir.

Sterilizasyon süreci deneyin bir sonraki aşamaya geçebilmesi ve alt kültüre kolaylıkla alınabilmesi yönünden eksplantların ya da tohumunun yüzey sterilizasyonu, dış kaynaklı mikrobiyal kontaminasyonun giderilmesini ya da kendisine zarar vermeyecek hale gelmesinin sağlandığı doku kültürü tekniklerinde en önemli adımdır (Çınar vd, 2013). Su bitkilerinin mikropropagasyonu genellikle sterilizasyon sırasında eksplantlara önemli zararlar vermeden doğrudan yüzey sterilizasyonuna tabi tutularak bitkisel parçaların kullanımını içermektedir. *Ludwigia ovalis* ve *Gratiola viscidula* bitkilerinin in vitro rejenerasyon çalışmalarında, HgCl₂'ün %0,01 konsantrasyonunda ana sterilizasyon maddesi olarak kullanıldığını ortaya koymuşlardır (Showkat vd, 2010), (Vijayakumar vd, 2010: Mohan vd, 2011), (Kumari vd, 2014), (Jain vd, 2013), (Subashri ve Pillai 2014). (Çınar ve ark, 2013), *Hygrophila polysperma* bitkisiyle çoğaltım çalışması yapmışlardır. Çalışmada bitkinin 3-5 cm'lik gövdeleri alınarak HgCl₂ ile sterilizasyonu sağlandıktan sonra, sürgün ucu, birinci koltukaltı meristemi ve yaprak eksplantlarını BAP, TDZ, Kinetin ve IBA'nın farklı oran ve kombinasyonlarında kültüre almışlardır. Katı ortamlardaki denemelerde endojenik bakteri kontaminasyonunu engellemek amacıyla 500 mg/L bakteriyostatik antibiyotiği olan Amoklavini de besin ortamına eklemişlerdir. Uygun eksplantların seçimi, in vitro koşullarda aksiller sürgünlerin gelişmesiyle sonuçlandığı için bitki doku kültürünün önemli ve ön aşamalarından birisidir. Burada dikkat edilecek hususlar eksplantın yaşı ve büyüklüğüdür. Bu faktörlerin belirlenmesiyle kallus indüksiyonu, somatik embriyogenez ve organogenez gibi çalışmalar amaçlanmıştır (Smith, 2012).

In vitro rejenerasyon sonucunda sürgünlerin köklenmesi ve bitkiciklerin dış ortamlara aktarılarak adaptasyonunun sağlanması başarılı bir doku kültürü için gereklidir. Sürgünler IBA hormonu ihtiva eden köklenme ortamı sırasında çoklu köklenme (Karataş ve diğerleri, 2013) tarafından rapor edilmiştir.

Köklenmenin bir sonraki aşaması bitkiciklerin ortama adaptasyonudur.(Karataş vd, 2013), sucul ve tıbbi bir bitki olan *Bacopa monnieri*'nin adventif sürgün köklerini elde etmişlerdir. Elde edilen sürgünler 4,00-10,00 pH aralığına adaptasyon sağlarken en iyi adaptasyonu pH 8,00 oranında göstermiştir. Ayrıca, farklı pH seviyelerindeki (4-10) sahip akvaryumlardaki bitki büyümelerinde kontrol etmişlerdir ve pH 8.0'de maksimum bitki büyümesini belirtmişlerdir.

2.1.1. *Ludwigia ovalis* ve *Gratiola viscidula* Bitkisinde İn Vitro Mutageniz

Çalışmaları

Ludwigia ovalis ve *Gratiola viscidula* terapötik bir bitki olduğundan dolayı ilaç üretiminde de kullanılan bir bitkidir. Araştırmacılar bitkilere tıbbi özellikler eklemek için çalışmaktadırlar. Bu çalışmaların ortak noktası bitkinin gen havuzundaki çeşitliliğini artırarak 2. nesillere aktarımını sağlamaktır. Bu alanla ilgili az sayıda araştırma bulunmaktadır.

B. officinalis, *G. viscidula*, *V. luteum* ve *V. hirundinaria* ekstrelerinin genotoksitesisi, güçlü antioksidan kapasite, in vitro insan lenfositlerinde kromozom aberasyonu, kardeş kromatid değişimi (SCE), sitokinez blok mikronukleus ve alkalın tek hücreli jel elektroforezi (kuyruklu yıldız) testleri ve Ames Salmonella / mikrozom testi kullanılarak test edildi. Test edilen tüm özütler, *S.typhimurium* TA98 suşlarında mutajenik değildi ve TA100 metabolik aktivasyon içeren ve içermeyen ve in vitro olarak insan lenfositlerinde kromozom anormalliklerine neden olmamıştır. *G. viscidula*dan elde edilen ekstrakt, mikronükleuslarda önemli bir artışa neden olan ve olası anöjenik etkiyi gösteren tek türdü. Araştırılan tüm bitki özütleri, kuyruklu yıldız deneyi ile değerlendirilen DNA hasarına neden olurken, *B. officinalis* ve *V. luteum* özütleri, SCE değerlerinde hafif bir artışa neden oldu. Yanıtta belirlenen varyasyon, test edilen bitki özütü ve donör duyarlılığına bağlı olabilir.(Gražina Slapšytė, Veronika Dedonytė, Aušra Adomėnienė, Juozas Rimantas Lazutka, Jūratė Kazlauskaitė, Ona Ragažinskienė, Petras Rimantas Venskutonis, 2015)

Bir mutasyon tek hücreli bir olay olduğundan, çok hücreli bir meristemin ışınlanması ile sonuçlanır. Mutasyona uğramış hücre ile çevredeki mutasyona uğramamış hücreler

arasındaki bu rekabet, genellikle mutasyonlu hücre tarafından kaybedilerek, mutasyona uğramış bitkilerin düşük frekansına ve dar bir mutasyon spektrumuna neden olur. Mutasyona uğramış bir hücre hayatta kalır, kimeralar otomatik olarak oluşur çünkü çoğu apeks bir dizi oldukça bağımsız hücre katmanı grubundan oluşur. Bu tür istenmeyen bir durum, yalnızca bir hücreden tam bitkiler yetiştirilerek iyileştirilebilir, bu da yüksek sıklıkta katı, kimera olmayan mutantlar ve geniş bir mutasyon spektrumu ile sonuçlanır. Birçok bitki türü, izole edilmiş yapraklar üzerinde adventif tomurcuklar oluşturmak için uyarılabilir. İzole yapraklar üzerinde adventif tomurcuklar oluşturmaya teşvik edilebilecek çeşitli bitki türlerinin ve yeni oluşumların yerleşim tipine göre gruplandırıldığı bir liste hazırlanmıştır. (AMES, 1899. An easy method of propagating of *Drosera filiformis*. *Rhodora* 1: 172.)

Yaygın bir hibridizasyona sahip bir cins olan *Ludwigia*, gen introgresyonunun ve poliploidizasyonun tür varyantı üzerindeki etkisini incelemek için ideal bir modeldir. Kuzey Amerika'da dağıtılan beş türün poliploid kompleksi ($x = 8$) olan *L. sect'in* filogenisi cpDNA atpB-rbcL intergenik aralayıcı ve nrITS (dahili kopyalanmış aralayıcı) dizilerine dayanılarak yeniden yapılandırma yapıldı. Çoğu *Ludwigia* türleri her iki lokusta da polifiliktir, Köklenen en yüksek olasılık evrim ağaçlarına dayalı tekrarlayan melezlerin arasındaki ilişkileri incelemek için minimum bir kapsama ağı da inşa edildi. CpDNA ağında, tetraploid *L. spathulata* haplotiplerinin çoğu iç düğümde kümelenmiştir. Bu da erkil tohumun soyu tükenmiş bir diploidin genom orijini veya bir DD sitotipine sahip olan örneklenmemiş diploid yapıdır. *Ludwigia ovalis* ve *Ludwigia palustris* arasında çift yönlü melezleme ve ardından çoklu ploidi yoluyla ortaya çıkmış olabilir. (Kuo-Hsiang, Barbara A. Schaal^{2,7}, Tsai-Wen Hsu³, Yu-Chung, Chiang⁴, Ching-I Peng⁵ & Tzen-Yuh Chiang) (Bibi vd,2011), 5.37 μM NAA ile 4.42 μM BA içeren Murashige and skoog (MS) ortamında kültürlenmiş yaprak eksplantlarından meydana gelen somatik embriyojenik bitkiler üretti. Kallus eksplant başına en fazla 10 sürgün ve ardından köklenme elde ettiler. Bitki özlerinin antibakteriyel aktivitelerini de kontrol ettiler. Benzer şekilde (Joshi ve diğerleri 2013), yaprak ve gövde eksplantlarında kallus indüksiyonunu optimize ederek 0.5 mg / L BA + 0.3 mg / L NAA, 0.5 mg / L BA ve 0.75 mg / L BA ile desteklenmiş ortamda yeniden kültürlendikten sonra yaprak eksplantından maksimum 6.0 sürgün ve gövde eksplantından 8.0 sürgün elde etmişlerdir. Daha sonra 0.5 mg / L IBA ile zenginleştirilmiş besiyerinde köklenme ve ardından iklime adaptasyonunu sağlamışlardır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Bu çalışma için materyal olarak *Ludwigia ovalis* ve *Gratiola viscidula* İzmirden alınarak kullanılmıştır. Vejetatif olarak çoğaltılmış bu bitkinin rizomları in vitro çoğaltım için kullanılacaktır.

3.1.2. Besin Ortamı ve Doku Kültürü Koşulları

Bu çalışmada MS (Murashige & Skoog,1962) mineral tuz ve vitaminleri kullanılmıştır. Besi ortamı hazırlamak için %0,65 agar ile katılaştırılan katı ortam olarak kullanılmıştır. Ortam hazırlanmasında dH₂O ve sükroz kullanılmıştır. Hazırlanan ortamların pH'sı 1N NaOH veya 1N HCl kullanılarak 5,6-5,8 olarak ayarlanmıştır. Daha sonra 1,2 atmosfer basınç altında 121 °C'de 15 dk otoklavda tutularak sterilizasyon sağlanmıştır. Kültürler Beyaz ışık altında veya LED ışığı altında 16 saat ışık fotoperiyotta 24±1 °C de bekletilmiştir.

3.1.3. Bitkilerin Yüzey Sterilizasyonu

Bitki yüzey sterilizasyonunda ilk olarak bitkilerin üzerindeki yabancı atıkları uzaklaştırmak için bitkiler 15 dakika akan çeşme suyu altında bekletildi. Daha sonra çalışmalarda en iyi sonuç verecek dezenfektan HgCl₂ ile sterilizasyon çalışmaları başlatıldı. Ardından steril saf su ile üçer kez beş dakika bitkilere durulama işlemi gerçekleştirildi.

3.1.4. Eksplant İzolasyonu ve Kültürü

Yüzey sterilizasyonu tamamlandıktan sonra yumrular MS ortamında bekletileceklerdir. İn vitro koşullarda çimlenmenin sağlandığı fidelerden farklı eksplantlar (yaprak, nod, gövde) izole edilerek mikroçoğaltım için kültüre alındı. Eksplantlar farklı oranlarda büyüme düzenleyicileri (BAP, TDZ, Kinetin) bulunduran besin ortamlarına

yerleştirileceklerdir. Bu çalışmaların sonucunda en kısa sürede en yüksek rejenerasyon oranı belirlendi.

3.1.5. *İn Vitro* Köklendirme ve Bitki Adaptasyonu

Rejenerasyon çalışmalarının sonucunda oluşan sürgünler kesilip steril magentalar içindeki farklı oranda oksin olan IBA bulunduran besin ortamlarına alınarak köklenme süreci takip edilmiştir. Daha sonra rejenere olan sürgünlerin üzerindeki besin ortamı eşme suyu ile bitkileri yıpratmadan uzaklaştırıldı. Bitkiler eşme suyu içinde 15 dk bekletilmiştir. Ardından dış koşullara adaptasyon için akvaryum ortamına aktarılmıştır. Akvaryum tabanına 4-5 cm yüksekliğinde dere kumu yerleştirilmiş olup, 24°C sıcaklık ayarlı termostat (Tetrathec HT-100, 100W) ve 16 saat beyaz floresan (Roxin RX-500 12W) aydınlatma kullanılmıştır.

3.1.6. *In vitro* oğaltılmış Bitkilerin Veri Alımı.

Farklı konsantrasyonlardaki hormonlar ile işlem görmüş eksplantlar 15 hafta boyunca besi ortamında kültüre alındıktan sonra sürgün rejenerasyon yüzdesi kök/ kallus oluşumu, eksplant başına sürgün sayısı (adet) ve eksplant sürgün uzunluğu parametreleri alınmıştır.

3.1.7. İstatistik Analiz

Kurulan denemeler, 3 tekerrür halinde cam tüpler, magenta veya petrilere oluşmaktadır. Elde edilen veriler “SPSS 20 for Windows” programı vasıtasıyla varyans analizine bağlı kalınarak, ortamları karşılaştırmak amacıyla Duncan (DMRT) testi kullanılmıştır. İstatistik analizinden önce yüzde değerler arcsin değerlerine çevrilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Araştırma da yüzey sterilizasyonunda oldukça zorlanılıp ve birkaç kez farklı denemeler kurularak güç bir şekilde başarıya ulaşılmıştır. *Gratiola viscidula* ve *Ludwigia ovalis* bitkilerinden alınan sürgün ucu, 1.nod/boğum eksplantları 0.25 mg/L, 0.50 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L ve 3.0 mg/L konsantrasyonlarında BAP, TDZ VE KIN eklenerek rejenerasyonları gözlemlenmiştir.

4.1. Farklı Konsantrasyonlarda Kullanılan BAP Hormonunun *Gratiola viscidula*'nın Sürgün Ucu ve Yaprak Eksplantında Rejenerasyon Çalışması

Steril bitkilerden alınan sürgün ucu ve yaprak eksplantları önceden hazırlanmış 0.5 mg/ml, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L, 3.0 mg/L ve 4.0 mg/L BAP içeren MS ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültüre alınan eksplantlar beyaz floresan ışığına kaldırılmıştır. İlk denemenin gözlemleri sonucunda 5.günün sonunda tüm perilerde eksplant kaynaklı maya-mantar oluşumu gözlemlenmiştir. Bu kontaminasyonların nedeninin endojenik bakteriler olduğu düşünülmektedir.



Şekil 3. *Gratiola viscidula*'nın 2.0 mg/L BAP içeriğindeki kontaminasyonu

2.Denemede *Gratiola viscidula* bitkisi için gerekli MS ortamı hazırlanıp farklı BAP konsantrasyonlarını değiştirilerek 0.25 mg/L, 0.50mg/L, 1.0mg/L, 2.0 mg/L olacak şekilde cam petrilerde bitki eksplant ekimi için hazır hale getirilmiştir.

Ekim için *Gratiola viscidula*'nın sürgün ucu ve boğum eksplantları kullanıldı. Bu denemeler her bir konsantrasyon için 3 tekerrür halinde gerçekleştirilmiştir. Kültüre alınan örneklerin bir kısmı beyaz bir kısmı ise yeşil ışık altında bekletilmiştir.7 gün sonunda gözlemlenen petrilerde eksplant kaynaklı kontaminasyonların varlığı tespit edilmiştir. 3.Denemede *Gratiola viscidula* bitkisi sterilizasyona uygun olmadığı için yüzey sterilizasyon çalışması başlatılmıştır. İlk olarak sterilizasyon yapılacağı laminar flow kabinde 15 dk UV açılarak beklenmiştir. Daha sonra bitkinin tümü güçlü bir dezenfektan olan %0.01 mg/L HgCl₂ ile farklı sürelerde (5dk, 10dk ve 20dk) muamele edilmiştir. %0.01 mg/L HgCl₂ 5 dakika muamelesinden sonra 3'er kez 5' er dakika dH₂O ile durulama yapılmıştır. %0.01 mg/L HgCl₂ 10 dakika boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak muamelesi sağlanmıştır. Daha sonra 3'er kez 10 dakika olacak şekilde durulama işlemi yapılmıştır. %0.01 mg/L HgCl₂ ile bitkilerin 20 dk muamelesi sağlanmıştır. 20 dakika sonunda 3'er kez 20 şer dakika olmak üzere durulama işlemi yapılmıştır. Daha sonra durulanan ve sterilizasyonu tamamlanan bitkiler steril petriye alınarak köklerinden ayrılarak dallanmış yapı haline getirilmiştir. Köklerinden ayrılan bitkiler steril beher içerisine alınır. Steril behere 100 mg/L dH₂O ve 1000 ul HgCl₂ eklenir ve bu ilk örnekler 5 dk boyunca 200 rpm de manyetik karıştırıcıyla karıştırılır. 5 dk sonunda başka bir behere HgCl₂'lü su akıtılır. Süzülen bitkilerin üzerine 200 ml dH₂O eklenerek 5 dakika daha 200 rpm de karıştırılmıştır. Durulamanın ardından su süzülür. İlk 5 dakikalık sterilizasyon aşaması tamamlandığında artık eksplantlar ekim için hazır hale getirilmiştir. Sterilizasyonu tamamlanan bitkiden sürgün ucu ve nod kısımları alınarak cam tüplere eğik bir şekilde koyularak kültüre alınmıştır. Hazırlanan cam tüpler beyaz ışık altına gözlemlenmek üzere bırakılmıştır.Sterilizasyonun ikinci aşamasında %0.01 mg/LHgCl₂ ile 10 dakika muamelesinden sonra 3'er kez 10' ar dakika dH₂O ile durulama yapılmıştır. Üçüncü aşamada ise %0.01 mg/L HgCl₂ ile bitkilerin 20 dk muamelesi sağlanmıştır. 20 dakika sonunda 3'er kez 20 şer dakika olmak üzere durulama işlemi yapılmıştır. Sterilizasyon aşamasından sonra bitkiler tekrar dH₂O ile 200 rpm de yavaşça karıştırıldıktan sonra süzülme işlemine geçilmiştir.Farklı sürelerde sterilizasyona uğramış bitkiler ekim için hazır hale getirilmiştir. Her bir farklı süreye göre 20 adet cam tüpler içine sürgün ucu ve boğum eksplantlarının ekimi yapılmıştır. Kültüre alınan bitkiler iklim odasında beyaz

ışık altında gözlemlenmeye bırakılmıştır.12 gün sonunda alınan verilere göre 5 dakika sterilizasyona tabi tutulan *Gratiola viscidula* bitkisinden 20 cam tüp içinden 8 adet steril ve canlı eksplant olduğu gözlemlenmiştir. 10 dakika sterilizasyona maruz kalan eksplantlardan ise 20 tüp içinde 13 adet steril ve canlı eksplant örneği bulunmaktadır. 20 dakika sterilizasyonundan sonra ise steril ve canlı kalabilen eksplant sayısı 6 adet olduğu gözlemlenmiştir. Verilerin analizi sonucu sterilizasyon ihtimalini artırmak için süre denemelerine 7 dakika muamele süresi ilave edilmiştir. Eksplantların %0.01 mg/L HgCl₂ ile 7 dakika muamelesinden sonra 3'er kez 7'şer dakika dH₂O ile durulama işlemi yapılmıştır. Durulanan eksplantlar süzme işleminden sonra tekrar 200 ml dH₂O ile 200 rpm de manyetik karıştırıcı da karıştırılmıştır. Daha sonra tekrar süzme işlemi yapılarak ekim için hazır hale getirilmiştir. Sürgün ucu ve boğum kısımları 48 adet cam tüpte hazırlanmış MS ortamında kültüre alınmıştır. Kültürler beyaz ışığa kaldırılmıştır. 8 gün sonunda çalışılan 48 adet petrinin hepsinde kontaminasyon görülmüştür. Kontaminasyonların sebebi endojenik bakteri varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yeni yapılacak sterilizasyon çalışması için bitkilerin %0.01 mg/L HgCl₂ ile 10 dakika muamelesine ihtiyaç duyulmuştur. Bu aşama sırasıyla durulama ve kültüre alma şeklinde ilerlemiştir.33 adet steril cam tüp içine kültüre alınan eksplantlar beyaz ışık altında gözleme bırakılmıştır. 6 gün sonunda 33 tane ekim yapılan tüplerin hepsinde kontaminasyon varlığı tespit edilmiştir. Kontaminasyon tüm tüplerde görüldüğü için sterilizasyon süresini artırmaya ihtiyaç duyulmuştur. İlerleyen çalışmalar için 21 adet cam tüpler için 15 dakika ve 20 dakika olmak üzere dezenfektan ile muamele süreleri belirlenmiştir. Tüm sterilizasyon basamakları tekrar başlamıştır ve her bir süreye göreye %0.01 mg/ml HgCl₂ ile ayrı ayrı muameleleri başladı.7 dakika ve 20 dakikalık sterilizasyon sonrası eksplantların sürgün ucu ve nod/boğum kısımları kültüre alınmıştır. Beyaz ışık altında gözleme bırakılmıştır.18 gün sonunda alınan verilere göre 7 dakika sterilizasyon çalışmasının eksplantlarının tümünün steril ve canlı olduğu görülmüştür. 20 dakika %0.01 mg/L HgCl₂ ile muamale gören eksplantlar da ise 18 adet steril ve canlı eksplant örnekleri görülmüştür. Sterilizasyon işlemi tamamlanan *Gratiola viscidula* beyaz ışık altında 12 hafta büyümeye bırakıldı.12 hafta sonunda 20 dakika ve 10 dakika %0.01 mg/L HgCl₂ muamele gören eksplantların büyüme ve gelişmesinin gözlemlendiği ve sterilizasyon işleminin başarılı bir şekilde sağlandığı görülmektedir. Büyümekte olan bitkicikler deneme kurmak için hazır hale getirilmiştir.

4.1.2. Farklı Konsantrasyonlarda Kullanılan BAP Hormonunun *Ludwigia ovalis*'in Sürgün Ucu ve Yaprak Eksplantında Rejenerasyon Çalışması

Ludwigia ovalis bitkisi sterilizasyona uygun olmadığı için yüzey sterilizasyon çalışmasına ihtiyaç duyulmuştur. Bitkinin tümü güçlü bir dezenfektan olan %0.01 mg/L HgCl₂ ile farklı sürelerde (5dk, 10dk, 15dk ve 20 dk) muamele edilir. %0.01 mg/L HgCl₂ 5 dakika muamelesinden sonra 3'er kez 5'er dakika dH₂O ile durulama yapılmıştır. Daha sonra cam tüplere ekimi yapılmıştır. %0.01 mg/L HgCl₂ 10 dakika boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak muamelesi sağlanmıştır. Daha sonra 3'er kez 10 dakika olacak şekilde durulama işlemi yapılmıştır. Seri bir şekilde hazırlanmış MS ortamlı cam tüplere ekimi yapılmıştır. Su bitkisi ile çalıştığımız için kurumamasına ve hasar görmemesine dikkat edilmiştir. Yine aynı şekilde %0.01 mg/L HgCl₂ ile bitkilerin 15 dk muamelesi sağlanmıştır. 15 dakika sonunda 3'er kez 15'er dakika olmak üzere durulama işlemi yapılmıştır. Daha sonra durulanan bitkiler steril petriye alınarak köklerinden ayrılır ve sürgünleri belirli hale getirilir. Köklerinden ayrılan bitkiler steril beher içerisine alınmıştır. Steril behere 100 mg/L dH₂O ve 1000 ul HgCl₂ eklenir ve bu ilk örnekler 5 dk boyunca 200 rpm de manyetik karıştırıcıyla karıştırılmıştır. 5 dk sonunda başka bir behere HgCl₂'lü su akıtılır. Süzülen bitkilerin üzerine 200 ml dH₂O eklenir ve 5 dakika daha 200 rpm de karıştırılmıştır. 3. durulamanın ardından su süzülerek ilk 5 dakikalık sterilizasyon aşaması tamamlandığında ekim için eksplantlar hazır hale getirilmiştir. Sterilizasyonu tamamlanan bitkiden sürgün ucu ve nod kısımları alınarak cam tüplere eğik bir şekilde koyularak kültüre alınmıştır. Hazırlanan cam tüpler beyaz ışık altına gözlemlenmek üzere bırakılmıştır. %0.01 mg/L HgCl₂ 10 dakika boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak muamelesi sağlanmıştır. Daha sonra 3'er kez 10 dakika olacak şekilde durulama işlemi yapılmıştır. Aynı şekilde %0.01 mg/L HgCl₂ ile bitkiler 15 dakika muamelesi sağlanmıştır. 15 dakika sonunda 3'er kez 15'er dakika olmak üzere durulama işlemi yapılmıştır. Daha sonra durulanan bitkiler steril petriye alınarak cam tüplere sürgün ucu ve boğum eksplantlarının ekimi yapılmıştır. Son sterilizasyon basamağı olarak da %0.01 mg/L HgCl₂ ile 20 dakika boyunca *L.ovalis* muamele edilir ve 3'er kez 20'er dakika durulama işlemi yapılmıştır. Daha sonra sterilizasyonu biten ve süzülen eksplantlar cam tüplere kültüre alınmıştır. Ve beyaz ışık altında bekletilmiştir. 9 hafta sonunda en iyi rejenerasyon 10 dakikalık %0.01 mg/ml HgCl₂ ile muamele gören eksplantlarda görülmüştür. Büyüme ve gelişme gözlemlenen bitkilerde sterilizasyon işlemi başarıyla sağlanmıştır.

4.1.3. *Gratiola viscidula* Bitkisinin Farklı Konsantrasyonlardaki Hormon

Denemeleri

Gratiola viscidula için 0.25 mg/L,0.50 mg/L,1.0 mg/L,2.0 mg/L,3.0 mg/L oranlarında BAP hormonu kullanılarak MS ortamında 3 tekerrüre sahip 15 adet cam petriye steril olan bitkiden alınan sürgün ucu ve boğum eksplantları ekim yapılarak beyaz ışık altına 10 hafta rejenerasyon içi bırakılmıştır.Aynı zamanda 0.25 mg/L,0.50 mg/L,1.0 mg/L,2.0 mg/L, 3.0 mg/L oranlarında KIN eklenerek hazırlanan MS ortamına sürgün ucu ve boğum eksplantlarının ekimi yapılmıştır. 12 hafta boyunca beyaz ışık altında rejenerasyonu gözlemlenmiştir.Bu bitki için kullanılan bir diğer hormon ise 0.25 mg/L,0.50 mg/L,1.0 mg/L, 2.0 mg/L,3.0mg/L oranlarında kullanılan TDZ hormonudur. *G.viscidula* için toplamda 5 oranda 3 farklı hormon ve 3 tekerrür sayısı ile 45 adet petriye ekim yapıp beyaz ışık altına morfolojik değişimleri ve rejenerasyonu için gözlemlenmeye bırakılmıştır. Denemelerde 2 hafta içinde denemelerde bir değişiklik yokken 5 hafta sonrasında belirgin bir şekilde sürgün vermeye başlamıştır. 12 hafta sonunda rejenerasyonu sağlanmış bitkiler elde edilmiştir. Kültür sonrası veriler hesaplanarak istatistik analizi ile sonuçlanmıştır.

Çizelge 4.0. Farklı sürelerde uygulanan civa klorürün sterilizasyon ve eksplantlar üzerine gelişim etkisi

Muamele						
	Sürgün ucu		Eksplantlar		Boğum	
%0.01 HgCl ₂	Bulaşık oranı(%)	Steril ve ölen eksplant oranı%	Steril ve sağlam eksplant oranı%	Bulaşık oranı(%)	Steril ve ölen eksplant oranı%	Steril ve sağlam eksplant oranı%
5dk	100	0	0	100	0	0
7dk	86	0	13	75	10	15
10dk	70	5	40	10	90	0
15dk	58	6	35	15	0	82
20dk	18	35	46	8	86	25

Çizelge 4.1.Farklı BAP konsantrasyonunun *Gratiola viscidula* bitkisinin sürgün rejenerasyon çalışmasına ait varyans analizi.

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Kallus Oluşumu Yüzdesi (%)	
		KO	F	KO	F
BAP	4	2958,333	1,578*	2958,333	1,578*
Hata	10	1875,00	-	1875,00	-
Genel Toplam	14	-	-	-	-
VK	SD	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F
BAP	4	956,923	3,555**	6,531	10,568**
Hata	10	269,189	-	0,618	-
Genel Toplam	14	-	-	-	-

*p<0,05 düzeyinde önemlidir **p<0,01 düzeyinde önemlidir.

Farklı BAP konsantrasyonlarının sürgün rejenerasyon oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu istatistik analizine göre önemsiz bulunmuştur. Duncan testinin göstgesi ise Çizelge 4.2, 'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı BAP konsantrasyonunun *Gratiola viscidula* bitkisinin sürgün rejenerasyonu

BAP (mg/L)	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)	Kallus Oluşumu Yüzdesi (%)	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)
0,25	100,00a	100,00a	21,73ab	3,61a
0,50	66,67ab	66,67ab	16,30b	1,66bc
1,00	100,00a	100,00a	51,50a	2,95ab
2,00	33,33ab	33,33ab	2,58b	0,19c
3,00	41,67ab	41,67ab	22,40ab	0,57c

*p<0,05 düzeyinde önemlidir **p<0,01 düzeyinde önemlidir.

Bap hormon konsantrasyonunda en verimli sürgün rejenerasyonu kallus oluşumu 0.25 mg/L BAP VE 1.0 mg/L BAP oranlarında önemli düzeyde görülmüştür.



Şekil:4 1.0 mg/L BAP 1.Tekerrür Denemesi

Şekil:4 de görüldüğü gibi çoklu sürgün yapısı gözlemlenmiştir.



Şekil 5: 1.0 mg/L 1.0 BAP 2.Tekerrür Denemesi



Şekil 6: 0.25 mg/L BAP 1.Tekerrür Denemesi

Şekil 6' da görüldüğü üzere sürgün uzunluğu en fazla 10 cm'e kadar uzanan *Gratiola viscidula* morfolojik olarak son sürecini tamamlamış ve büyümesinin üst seviyesine ulaşmıştır.

Çizelge 4.3. Farklı KIN konsantrasyonun *G.viscidula* bitkisinin sürgün rejenerasyon çalışmasına ait varyans analizi.

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Kallus Oluşumu Yüzdesi (%)	
		KO	F	KO	F
KIN	4	2333,333	1,167*	2666,667	2,000*
Hata	10	2000,000	-	1333,333	-
Genel Toplam	14	-	-	-	-
VK	SD	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F
KIN	4	321,182	0,847 ^{ös}	1,367	1,368*
Hata	10	379,197	-	0,999	-
Genel Toplam	14	-	-	-	-

*p<0,05 düzeyinde önemlidir
^{ös} önemsizdir.

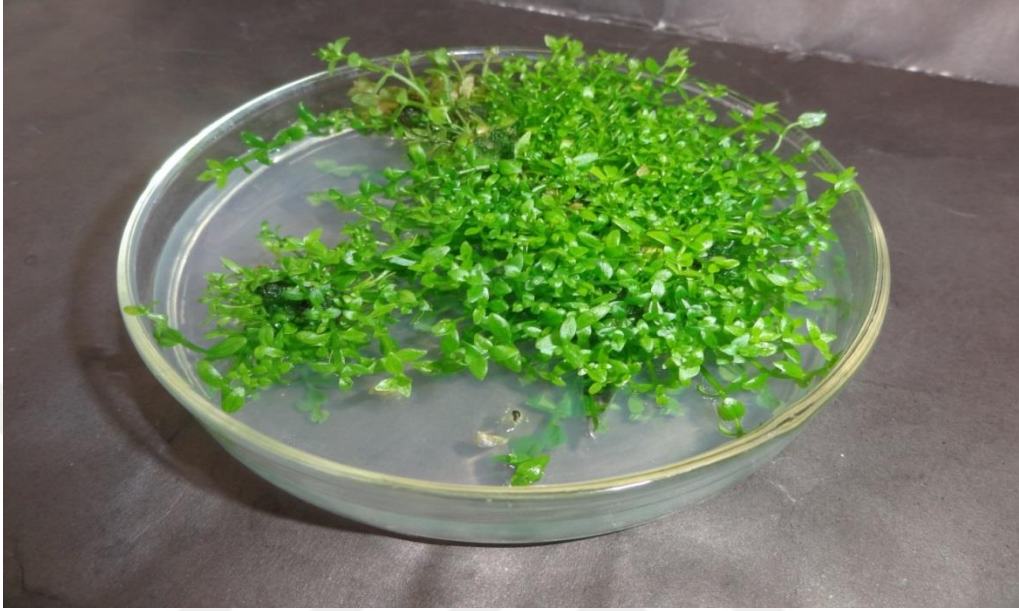
Çizelge 4.3 de görüldüğü gibi farklı KIN oranları sürgün rejenerasyon yüzdesini ,kallus oluşturma oranını ve sürgün uzunluğunu analize göre önemli bulunmuştur. Fakat eksplant başına sürgün sayısı ise önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.4.Farklı KIN Konsantrasyonun *G.viscidula* Bitkisinin Sürgün Rejenerasyonu

KIN (mg/L)	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)	Kallus Oluşumu Yüzdesi (%)	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)
0,25	66,67ab	100,00a	27,63	1,29ab
0,50	100,00a	100,00a	27,07	2,25a
1,00	100,00a	100,00a	28,73	2,22a
2,00	66,67ab	66,67ab	31,47	1,49ab
3,00	33,33ab	33,33ab	5,90	0,65ab

*p<0,05 düzeyinde önemlidir.
^{ös} önemsizdir.

Alınan verilerde KIN hormonu ile kurulan denemelerde en iyi rejenerasyon yeteneği ve sürgün sayısının fazlalılığı 0.50 mg/L ve 1 mg/L KIN konsantrasyonlarında meydana gelmiştir. Eksplant başına düşen sürgün sayısı miktarı oldukça fazladır.



Şekil :7 0.50 mg/L KIN 1. Tekerrür Deneme



Şekil 8: 1.0 mg/L KIN 1. Tekerrür Deneme

Çizelge 4.5.Farklı TDZ konsantrasyonunun *G.viscidula* bitkisinin sürgün rejenerasyon çalışmasına ait varyans analizi.

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Kallus Oluşumu Yüzdesi (%)	
		KO	F	KO	F
TDZ	4	2333,333	1,436*	2333,333	1,436*
Hata	10	1625,000	-	1625,000	-
Genel Toplam	14	-	-	-	-
VK	SD	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F
TDZ	4	938,454	1,086*	1,423	4,997**
Hata	10	863,875	-	0,291	-
Genel Toplam	14	-	-	-	-

*p<0,05 düzeyinde önemlidir **p<0,01 düzeyinde önemlidir.

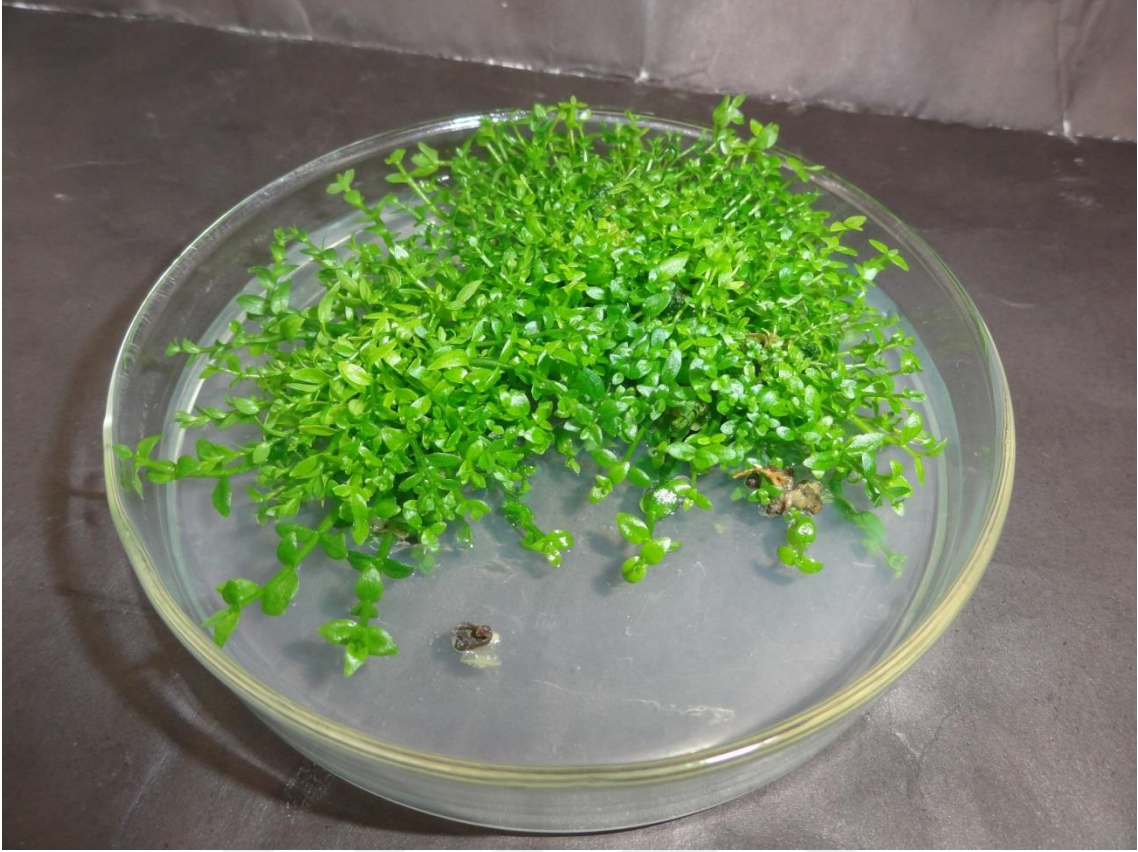
Şekil 4.5 de görüldüğü üzere farklı TDZ konsantrasyonlarında sürgün rejenerasyon oranı ve kallus oluşumu yüzdesi p<0.05 düzeyinde önemli olduğu analiz hesabına göre kayıt edilmiştir.Eksplant başına sürgün sayısı bu analiz hesabına göre önemli görülürken sürgün uzunluğu analizlerde önemsiz kabul edilmiştir.

Çizelge 4.6.Farklı TDZ Konsantrasyonunun *G.viscidula* Bitkisinin Sürgün Rejenerasyonu

TDZ (mg/L)	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)	Kallus Oluşumu Yüzdesi (%)	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)
0,25	100,00a	100,00a	49,57a	2,07a
0,50	100,00a	100,00a	57,30a	0,97b
1,00	66,67ab	66,67ab	22,13ab	0,32b
2,00	66,67ab	66,67ab	15,87ab	0,94b
3,00	33,33b	33,33b	31,73ab	0,47b

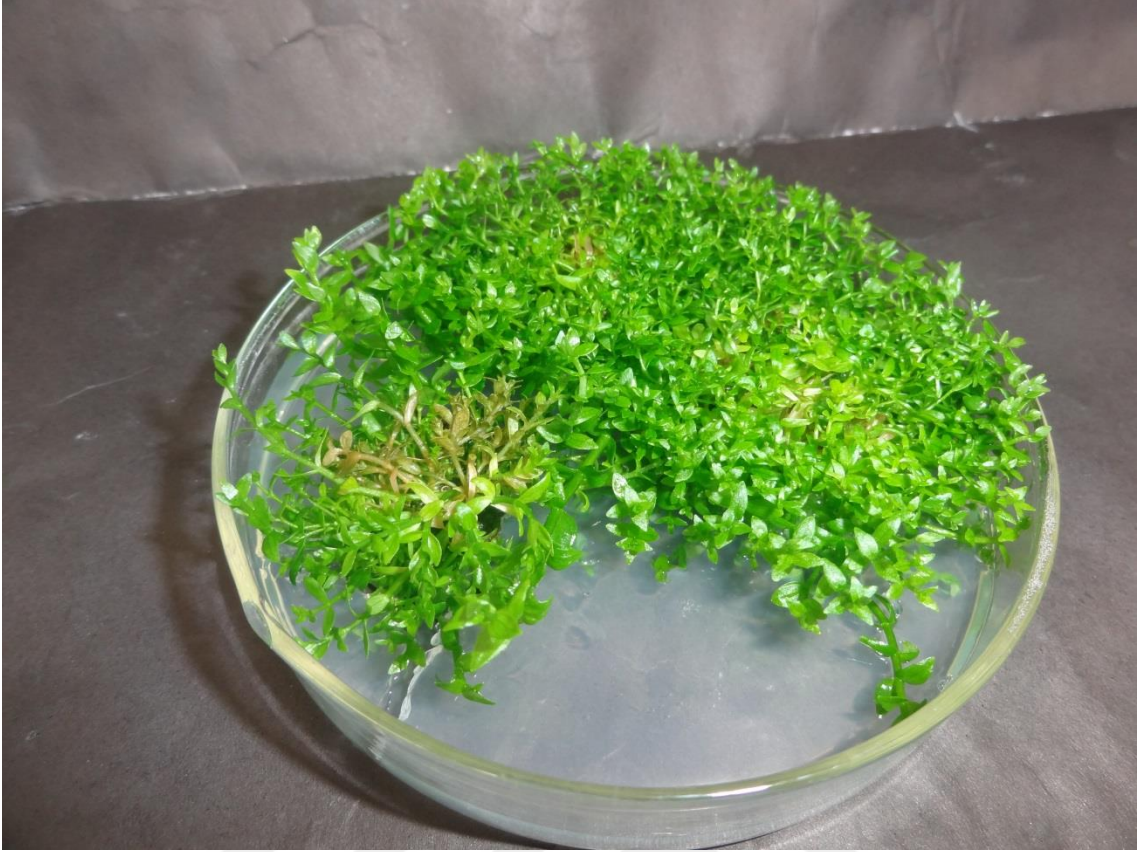
*p<0,05 düzeyinde önemlidir **p<0,01 düzeyinde önemlidir.

TDZ verilerinde en iyi rejenere olan konsantrasyon 0.25 mg/L TDZ ve 0.50 mg/L TDZ olarak belirlenmiştir.



Şekil 9 : 0.25 mg/L TDZ 1.Tekerrür Deneme

Şekil 9'da görüldüğü üzere çoklu sürgün yapısının gözlemlendiği 0.25mg/L konsantrasyonu oldukça dallanmış yapıdadır. Eksplant başına düşen sürgün sayısının fazlaca olduğu bu oran en iyi verime sahiptir. Kinetin fotosentezi yüksek oranda sağlayan bir büyüme düzenleyici olduğundan dolayı bu bitkinin oksijen miktarı oldukça fazladır. *G.viscidula*'nın sürgün rejenerasyonu aynı zamanda kallus oluşumunu da destekleyen kinetin, hedeflenmiş genleri aktif hale getirerek rejenerasyonu da hızlandırmıştır.



Şekil 10 : 0.50 mg/L TDZ 1.Tekerrür Deneme

Tüm tekerrürlerinde %100 oranını veren TDZ rejenerasyonu ve büyümeyi olumlu yönde etkilemektedir. Sürgünlerin kısa kalmasının nedeninin, TDZ'nin sürgün uzamasını dormansiye maruz bırakmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. TDZ tarafından geç sürgün oluşumu ve TDZ'nin baskılayıcı etkisi daha önce, *Cercis canadensis* (Yusnita ve diğerleri 1990) ve *Hibiscus rosa-sinensis* L. (Preece ve diğerleri 1987) bitkilerinde kaydetmişlerdir. (Malik ve Saxena , 1992), Bezelye bitkisi için yüksek TDZ konsantrasyonlarının sürgün rejenerasyonunu azalttığını ve bodur sürgünler oluşturduğunu bildirmişlerdir.

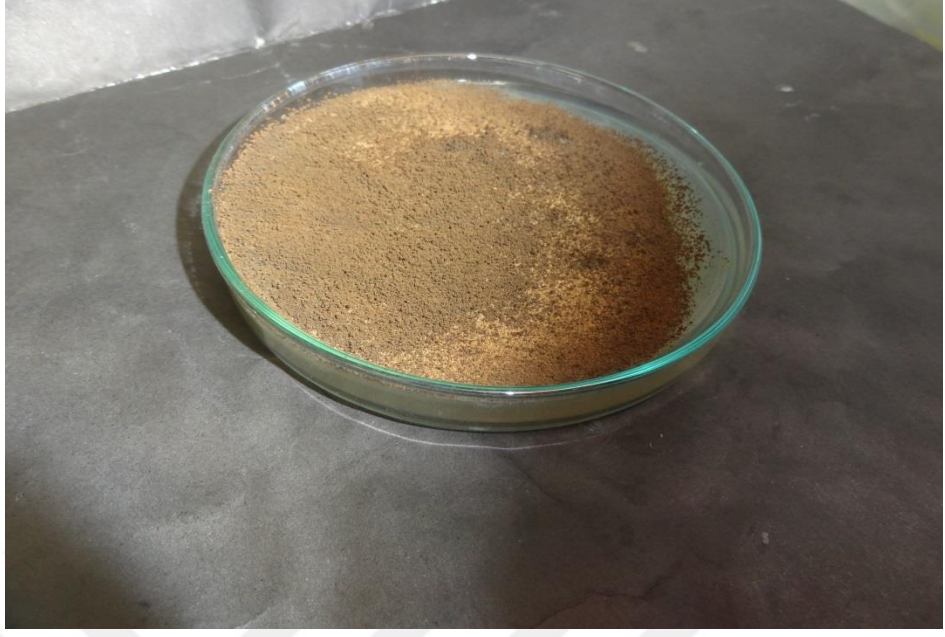
Ludwugia ovalis bitkisinin sterilizasyonu başarıyla gerçekleşmesine rağmen tüm denemelerde kontamine gözlemlendiği için çalışmaları yapılamamıştır. Bu tür durumlarda endojenik bakterilerin varlığından söz edilmektedir.



Şekil 11: *Ludwugia ovalis* bitkisinin kontaminasyon görüntüsü



Şekil 12: *L. ovalis*'in 1.0 mg/L BAP ortamında sürgün uç ve boğum kontaminasyonu



Şekil.13: *L.ovalis* bitkisinin 3.0 mg/L KIN denemesinde boğum eksplantında bakteriyel kontaminasyonu

5. İn Vitro Köklendirme

5.1. Farklı IBA,NAA, IAA Oranlarının Kök Oluşumuna Etkisi

Sürgün rejenerasyonu denemelerinden elde edilen *G.viscidula* sürgünleri köklendirme için 0,25, 0,50, 0,75 ve 1,00 mg/L ayrı ayrı IBA, NAA, IAA içeren MS ortamlarına alınmıştır. Bir hafta içinde sürgünlerin alt kısmında kök uçları görülmeye başlanırken, iki hafta içinde IBA VE NAA içeren tüm ortamlarda %100 köklendirme sağlanmıştır. Dört hafta sonra sürgünler alınıp adaptasyon çalışmaları için kullanılmıştır.

5.1.2.Akvaryum Koşullarda Bitkilerin Adaptasyonu

Rejenere olan köklü sürgünlerin dış koşullara adaptasyonu için çeşme suyu (Cl: 0,5 ppm, pH: 8,5) içeren akvaryum ortamına aktarılmıştır. Akvaryumlarda bir hafta içinde bitkilerin boylarında ve yapraklarında belirgin şekilde uzama ve gelişmeler kaydedilmiştir. İn vitro rejenere olan bitkiler akvaryumda iklim oda koşullarında büyüme ve gelişmede herhangi olumsuz etki göstermeden devam etmişlerdir.

6.TARTIŞMA

Türkiye’de akvaryum bitkileri genelde yurt dışından ithal edilmektedir. Bu yolla ülkemiz önemli derecede döviz kaybına uğramaktadır. *G.viscidula* da Türkiye’de akvaryumlarda kullanılan önemli bitkilerden birisidir ve çeşitli yollardan ülkemize getirilmesi önemli ölçüde mali zararlara neden olmaktadır. Bu tez çalışmasında doku kültürü ile bitki çoğaltımı yapılarak optimizasyonu amaçlanmıştır. Her bitki eksplantının yüzeysel olarak maya, mantar ve diğer mikroorganizmalardan temizlenebilmesi için ihtiyaç duyulan dezenfektan dozu ve sterilizasyon süresi farklıdır. Bu nedenle en uygun dezenfektan dozu ve sterilizasyon süresinin belirlenmesi çok önemli olup, eksplantın yüzey sterilizasyonu için etkili ve düşük dezenfektan dozunun belirlenmesi gerekmektedir. Bu amaçla kullanılan piyasada bulunan sodyum hipoklorit, hidrojen peroksit, civa klorür, gümüş nitrat gibi birçok dezenfektanlar vardır. Bu çalışmada, in vitro koşullarda mikroçoğaltım için bitkilerin yüzey sterilizasyonu sağlamak amacıyla sabit oranda ve farklı sürelerde (5, 7, 10, 15 ve 20dk) HgCl₂ denenmiştir. En iyi sonuç %0.01 HgCl₂ ile 5dk ve 10 dk muamele sonucu elde edilmiştir. Benzer şekilde (Shekhawat vd, 2016). *Alternanthera philoxeroides*’ın boğum eksplantlarını HgCl₂ 4-5 dakika sterilizasyona tabi tutmuştur. Benzer şekilde *Gratiola* türlerinin in vitro rejenerasyon çalışmalarında, HgCl₂’nin %0,01 konsantrasyonunda ana sterilizasyon maddesi olarak kullanıldığını ortaya koymaktadır (Showkat vd, 2010), (Vijayakumar vd, 2010), (Mohan vd,2011), (Kumari vd,2014), (Jain vd,2013), (Subashri ve Pillai 2014). Sonuçlar Kumari ve diğerleri ile uyumludur. Aynı yöntemlerle (Çınar vd, 2013), *Hygrophila polysperma* bitkisinde HgCl₂ ile sterilizasyonu sağlandıktan sonra, sürgün ucu, birinci koltukaltı meristemi ve yaprak eksplantları BAP, TDZ, Kinetin ve IBA’nın farklı oran ve kombinasyonlarında kültüre almışlardır. Katı ortamlardaki denemelerde endojenik bakteri kontaminasyonunu engellemek amacıyla 500 mg/L bakteriyostatik antibiyotiği olan Amoklavın de besin ortamına ilave ederek başarılı bir sterilizasyon çalışması yapmışlardır. (Chalenko vd, 2017), *A. reineckii*’nin yüzey sterilizasyonu için bitki parçalarını % 0.1 civa (II) klorür çözeltisinde (1, 2 ve 3 dk) bekleterek yüzey sterilizasyonunu başarmışlardır. Benzer şekilde (Sowmya Kuppusomy, 2019), *Eucalyptus* bitkisinde % 0.1 HgCl₂ ve rifampisin (1 mg /L) ile muamele edilen eksplantların hayatta kalma oranında önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir. Buna karşın (Taylor vd, 1998), *Piper methysticum* bitkisinde HgCl₂ ve rifampisin kullanıldığı halde endojen bulaşıklığın önüne geçilemediğini rapor

etmişlerdir. (Himisha Dixit ve Ajay Thakur 2017), *Bacopa monnieri* bitkisine ait boğum eksplantlarının sterilizasyonunda % 0.01 ve % 0.1 HgCl₂ kullanmışlardır. Eksplantların HgCl₂'ye duyarlı olduğu, bu nedenle siyaha döndüğünü ve konsantrasyonlardan herhangi birinde (% 0.01 ve % 0.1) 10 dakika muamele edildiğinde öldüğünü rapor etmişlerdir. Benzer şekilde (Zulkarnain vd, 2019) *Elaeis guineensis* bitkisinin sterilizasyon çalışmasında kullanılan HgCl₂ ile 10 ve 15 dakikalardaki muamelesinden sonra yüksek kontaminasyona ve bitkide hasara sebep olduğunu rapor etmişlerdir. HgCl₂ yapılan sterilizasyon çalışmalarındaki bu farklılıkların sebebi değişen bitki türleri ve uygulanan konsantrasyon dozları ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında *Gratiola viscidula*'nın in vitro çoğaltım çalışmaları için sürgün ucu ve boğum eksplantları tercih edilmiştir. Boğum eksplantları meristematik bölgeleri içerdikleri için (Jackson ve Hobbs, 1990) in vitro rejenerasyon çalışmalarında tercih etmişlerdir. Benzer şekilde, doku kültürü çalışmalarında boğum eksplantlarının kullanımı *Annona muricata* (Abubacker ve Deepalakshmi, 2017), *Rotala rotundifolia* (Buch-Ham. ex Roxb), (Dogan, 2017), *Vernonia amygdalina delile* (Mei-Yin ve Sani, 2017), *Clerodendrum inerme* (Farooq vd, 2018) gibi birçok bitki türü için bildirmişlerdir. In vitro çoğaltım için sürgün ucu, ve boğum eksplantları katı kültür ortamına alınmıştır. Benzer şekilde *Hgrophila difformis* (Öztürk, 2008), *Mentha viridis* (Raja ve Arockiasamy, 2008), *Rotala macrandra* (Şumlu, 2009), *Stevia rebaudiana* (Janarthanam vd, 2009), *Vitex negundo* (Islam vd, 2009), *Marsdenia brunoniana* (Ugraiyah vd, 2010), *Bacopa monnieri* (Karataş vd, 2013), *Rotala rotundifolia* (Çiftçioğlu, 2013) bitkilerinin in vitro rejenerasyonu için katı ortamları kullanmışlardır. Katı ve sıvı MS ortamları kıyaslandığında her iki kültür ortamından sürgün rejenerasyonu elde edilirken katı ortamlarda sıvı ortamlara göre daha erken sürgün oluşumu gözlenmiştir. (Şumlu, 2009), *Rotala macandra*'nın birinci ve ikinci nodal eksplantlarının olduğu sıvı MS ortamında sürgün rejenerasyonun olmadığını görmüştür. (Doğan, 2013), çalışmalarında ise sıvı ortamlardaki sürgün rejenerasyonunun katı ortamlara oranla daha erken başladığını rapor etmiştir. (Dandin ve Murthy, 2012) ve (Karataş vd, 2013) 'de *Bacopa monnieri* bitkisinin boğum arası ve yaprak eksplantlarında sürgün rejenerasyon oranına bakıldığında hem katı hem de sıvı ortamda kullanılan tüm eksplantlarda ve içerdiği hormonlarda çok yüksek oranda sürgün rejenerasyonu kaydetmişlerdir. *Alocasia amazonica* (Jo vd, 2008), *Bacopa monnieri* (Praveen vd, 2009) ve *Nothapodytes mimmonia* (Dandin ve Murthy, 2012) bitkilerinde

katı ortamın sıvı ortama göre daha fazla sürgün rejenerasyonu oluşturduğu tespit etmişlerdir. Buna karşın, (Shahzad vd, 2011), sıvı BAP ortamının katı ortama oranla daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Eksplant başına sürgün sayısı bakımından ise katı ortamda en fazla sürgün 0,40 mg/L kinetin içeren ortamda görülürken sıvı ortamda en fazla sürgünler 0,10 mg/L BAP içeren ortamda sürgün ucu eksplantında kaydetmişlerdir. Eksplantlar kıyaslandığında sürgün ucu, yaprak ve birinci koltukaltı eksplantları farklı sitokinin (BAP, TDZ ve KINETİN) ile oksin (IBA) içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. Tüm eksplantlarda çoklu sürgün oluşumu kaydedilmiştir. *Mentha viridis* (Raja ve Arockiasamy, 2008), *Stevia rebaudiana* (Janarthanam vd, 2009), *Vitex negundo* (Islam vd, 2009) ve *Marsdenia brunoniana* (Ugraiah vd, 2010) bitkilerinde sürgün ucu eksplantlarından çoklu sürgün oluşumunu elde etmişlerdir. En iyi sürgün rejenerasyonunu sırasıyla sürgün ucu, birinci koltukaltı meristem ve yaprak eksplantında saptamışlardır. Bunun sebebi ise sürgün ucu eksplantında daha fazla genç ve hızlı bölünebilen hücrelerin bulunmasıdır. *G.viscidula*'nın boğum ve sürgün ucu eksplantlarından sürgün rejenerasyonu için kültür ortamlarına farklı konsantrasyonlarda BAP, TDZ ve KIN hormonları eklenerek çoklu sürgünlerin oluşumları başarıyla kaydedilmiştir. Her üç hormonun kullanıldığı kültür denemelerinde de genel olarak yüksek sayıda sürgün rejenerasyon yüzdeleri elde edilmiştir. BAP'ı tek içeren kültür ortamında, en fazla eksplant başına sürgün sayısı sırasıyla 52, 37, 60, 77 adet ile 1,0 mg/L BAP içeren MS ortamında elde edilmiştir. Aynı şekilde (Gnanaraj vd, 2011), *A. Sessilis*'in sürgün meristem eksplantlarını 1.0 mg/L BAP içeren ortamda maksimum sayıda kaydetmişlerdir. Benzer şekilde (Doğan, 2019) sürgün ucu eksplantlarını 0.25, 0.50 ve 0.75 mg / L BAP içeren MS ortamında beyaz floresan ışık altında kültüre bırakmıştır. Bu çalışma sonucunda maximum sürgün rejenerasyonu 88.89'dan 0.25 mg/L BAP ortamında elde ettiğini rapor etmiştir. Benzer şekilde tek başına BAP, BANAA'ya kıyasla daha fazla sürgün indükledi, bu durumu (Aasim vd, 2015) rapor etmişlerdir. Benzer şekilde, (MeiYin ve Sani 2017) BAP'lı kültür ortamında *V. amygdalina*'nın in vitro çoğaltımını çalışmış ve daha yüksek sürgün sayılarını BAP'ın yüksek konsantrasyonlarını içeren kültür ortamlarında elde etmişlerdir. Buna karşın, (Sharma vd, 2007) *B.monnieri*'nin in vitro çoğaltımı için yürüttüğü çalışmada, BAP dozlarındaki artışın eksplantların rejenerasyon kabiliyetleri üzerinde negatif bir etki yaptığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada BAP'ın tek kullanımında konsantrasyon yükseldikçe kontaminasyonun arttığı, sürgün rejenerasyonun %100 den % 0 lara düştüğünü, sürgün uzunluğunun ise 0.25, 0.50 ve 1,0 mg/L BAP ihtiva eden MS

ortamlarında kaydedildiğini göstermiştir. Bu sonuçlar bize hormonların etkilerinin bitki türüne göre değişebileceğini göstermiştir.

KIN'i tek içeren kültür ortamında, en fazla eksplant başına sürgün sayısı sırasıyla 35, 32, 39, 26 adet ile 1,0 mg/L KIN ve 48, 14, 36, 63 adet ile 0.50mg/L KIN içeren MS ortamında elde edilmiştir. Benzer şekilde (Doğan,2016) *Pogostemon erectus* bitkisinin sürgün ucu ve nodal segment eksplantlarının eksplant başına ortalama sürgün sayısı sırasıyla 3.87-22.61 ve 2.50-24.44 olarak kaydetmiştir. MS üzerinde eksplant başına maksimum sürgün sayısı 1.00 mg/L KIN ihtiva eden MS ortamında çoklu sürgün sayılarının elde edildiğini rapor etmiştir. Farklı KIN ve KIN+IAA içeren kültür ortamlarında sürgün ucu ve boğum eksplantları kültüre alınmıştır. Sadece KIN içeren ortam kendi içinde kıyaslandığında, en fazla sayıda rejenere sürgünler 0,50 mg/L KIN ilave edilmiş kültür ortamında, ardından ise 7,16 adet ile 0,25 mg/L KIN eklenmiş kültür ortamında elde edilmiştir. KIN+IAA kültür ortamları kıyaslandığında, maksimum eksplant başına sürgün sayısı (6,55 adet) 0,25 mg/L KIN + 0,25 mg/L IAA eklenmiş MS besin ortamında elde edilmiştir. Bu sonuçlardan çıkarım yapılacağı gibi MS besin ortamında kullanılan KIN oranı arttıkça, sürgün sayısı azalış göstermiştir. Benzer şekilde, (Abu-Romman vd, 2015) *Cucumis sativus*'un sürgün ucu ve boğum eksplantlarını farklı KIN (0,5-3,0 mg/L) eklenmiş kültür ortamında aktarmış ve en yüksek sürgün sayılarını 1,0 mg/L KIN'li kültür ortamında elde etmişlerdir. Buna karşın (Sivanesan ve Park 2015) *Withania somnifera* (L.) bitkisinin gövde eksplantlarını in vitro üretimi için 0,1-3,0 mg/L KIN içeren kültür ortamında kültüre almış ve yüksek sürgün sayılarını KIN eklenmiş kültür ortamlarında belirlemişlerdir. Ayrıca yürütülen çalışmada KIN içeren kültür ortamlarında herhangi bir kallus oluşumu tespit edilmemiştir. Buna karşın, (Foo vd, 2018) *Solanum melongena* bitkisinin boğum eksplantlarını BAP+KIN ihtiva eden besin ortamında kültüre almış ve KIN varlığında kallus oluşumlarını raporlamışlardır. Bu sonuçlar hormonların etkilerinin bitki türlerine göre değişebileceğini göstermiştir.

TDZ'İ tek içeren kültür ortamında, en fazla eksplant başına sürgün sayısı sırasıyla 37, 53, 62, 98 adet ile 0.25 mg/L TDZ ve 63, 52, 74, 91 adet ile 0.50 mg/L TDZ içeren MS ortamlarında elde edilmiştir. Benzer şekilde, TDZ'li kültür ortamlarında *Spartina alterniflora* (Wang vd, 2003), *B. monnieri* (Praveen vd, 2009) ve *Ipomoea aquatica* (Akaracharanya vd, 2001) gibi sucul bitkilerin doku kültürü ile başarılı üretimini raporlamışlardır. (Prajapati vd, 2019) *Piper longum*'un in vitro üretimi için yürüttüğü çalışmada en yüksek sayıda sürgünleri 0,25 mg/L TDZ içeren kültür ortamında elde

etmişlerdir. Bu çalışmalar TDZ'nin *G.viscidula* için çoklu sürgün rejenerasyonu için etkili ve verimli bir büyüme düzenleyicisi olduğunu göstermiştir. TDZ'nin yüksek konsantrasyonlarındaki sürgün rejenerasyon yüzdesinin azalmasının, eksplant başına düşen sürgün sayısının da doğru orantılı bir şekilde azalmasının ve sürgünlerin kısa kalmasının nedeninin, TDZ'nin sürgün uzamasını dormansiye maruz bırakmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Kültür ortamlarında üretilen rejenere *G.viscidula* sürgünleri farklı oranlarda (0,25- 0,50 -0,75 ve 1,00 mg/L) IAA, IBA ve NAA içeren MS besin ortamlarında başarıyla köklendirilmiştir. Diğer bitkilerde de IBA kullanılarak kolayca köklendirmenin gerçekleştiği rapor edilmiştir (Tiwari ve Singh 2001), (Sharma vd, 2010), (Karataş vd, 2013). 0,25 mg/L oksin hormonlarını içeren kültür ortamlarında daha iyi kök oluşumlarını göstermişlerdir. Kök oluşturma özelliği bakımından IAA hormonu, NAA'ya göre daha etkili bulunmuştur. Benzer şekilde, *Piper betle L.* (Elahi vd, 2017) ve *Paeonia suffruticosa* (Shang vd, 2017) bitkilerinde de IAA hormonu ile başarılı kök oluşumlarını raporlamışlardır. Benzer şekilde *H.polisperma* bitkisinde T. Anderson çoğaltma ortamında kültürlenmiş bazı rejenere sürgünlerde kök indüksiyonu gözlemlemiştir. Sürgünleri kök oluşumu için 0.25-1.00 mg/L IAA içeren MS bazal ortamına aktarmış ve 4 haftalık gözlem sonucunda % 100 köklenme elde edildiğini rapor etmiştir. Benzer şekilde, (Chalenko ve Cherednichenko 2017) *A. reineckii*'nin rejenere sürgünlerini in vitro kök oluşumu için 0.25 mg/L IAA içeren kültür ortamına aktarmışlardır. Dört hafta sonra yoğun kök oluşumu tespit edildiğini rapor etmişlerdir.

Mevcut çalışmamızda, köklendirme ortamlarında köklendirilen *G.viscidula* bitkisi dış koşullara başarıyla alıştırmıştır. Sucul bitkilerin toprak substratında kolayca bitki oluşturabildiği bulunmuştur (Tiwari ve Singh, 2001; Sharma vd, 2010). Bununla birlikte, (Öztürk vd, 2002) *Ludwigia repens*'in akvaryumda başarılı bir şekilde adaptasyonunu sağlamışlardır. Bir başka çalışmada köklendirilmiş bitkilerin çeşme suyu içeren akvaryumda başarıyla adaptasyonu sağlanmıştır. *N. indica* (Jenks vd, 2000), *R. Macrandra* (Şumlu, 2009), *A. sessilis* (Gnanaraj vd, 2011), *V. anagallis-aquatica* (Shahzad vd, 2011), *C. wendtii* ve *C. beckettii* (Stanly vd, 2011), *B. monnieri* (Banerjee ve Shrivastava, 2012:47) gibi çalışılan türlerin de akvaryumlarda başarıyla adaptasyonunu gerçekleştirmişlerdir. (Öztürk vd, 2002) ve (Karataş vd, 2013) in vitro olarak elde edilen rejenere bitkilerin suda veya akvaryumlarda ortama alışmasının oldukça önemli bir adım olduğu bildirilmişlerdir.

7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

7.1. Sonuçlar

Sucul bir bitki olan *Gratiola viscidula* kırılğan bir tür olduğu için seleksiyona uğrama ihtimali oldukça yüksektir. Bundan ötürü verimi artırmaya çalışılmıştır.

Araştırmamızda bitki doku kültürü tekniği ile bitkinin sürgün ucu ve boğum eksplantları alınarak farklı hormonların (BAP, TDZ, KIN) farklı konsantrasyonları (0,25mg/L, 0,50mg/L, 1.0mg/L, 2.0mg/L, 3.0mg/L) MS besi ortamlarına aktararak sonuçlanmıştır. Cam tüp içindeki eksplantlarda 3 hafta gibi bir zamanda kallus oluşumunun ardından sürgün yapıları görülmeye başlamıştır. Besi ortamındaki eksplantlar 12 haftaya kadar bekletilmiştir. 5 farklı oran ve 3 farklı hormon arasındaki en iyi seçenek BAP'ın düşük konsantrasyonları (0.25 mg/L ve 0.50 mg/L) ve KIN'in (0.50 mg/L ve 1.00 mg/L) konsantrasyonlarıdır. TDZ hormonu daha geç yanıt verirken BAP ve KIN hormonlarının cevabı daha hızlıdır ve en yüksek verim alınmıştır.

Tezimdaki çalışmalardan elde edilen fikirler oldukça önemlidir. Bilimin eşsiz dünyasına da fayda sağlayacağı düşünülmektedir. *Ludwigia ovalis* ve *Gratiola viscidula* bitkileri kullanım açısından zengin bir bitki olma özelliği ile yüksek verim ve biyomas üretimi için ekonomik bir bitkidir. Atık sulardaki ağır metalleri absorbe etmesi, hayvan yemi, silaj preparasyonunda kullanılması bu bitkileri ayrıcalıklı kılar ve in vitro koşullarda üretimi sağlanarak süs bitkisi, teraryum bitkisi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca yaralardaki enfeksiyonu nötralize etme görevi ile potasyum açısından zengin olan yapraklarının kullanılması *Ludwigia ovalis* ve *Gratiola viscidula*'nın biyoteknolojik alanda çeşitliliğini gösterir. Bu çalışmada *Ludwigia ovalis* ve *Gratiola viscidula* bitkilerinin, in vitro koşullarda optimizasyonu sağlanarak korunma hedeflenmiştir.

7.1.2. Öneriler

Araştırmalarımıza göre, bu tez kapsamında kullanılan *Gratiola viscidula* bitkisinin doku kültürü ile çoğaltımı konusunda çok az bir çalışma bulunmuştur. Yaptığımız çalışmalar, *Gratiola viscidula*'nın in vitro koşullarda doku kültürü yöntemleriyle hızlı ve çoklu üretiminin yapılabileceğini göstermiştir. Ayrıca doku kültürü teknikleri ile yapılan bu çalışma, bu bitkiyle yapılacak gen aktarım çalışmaları ve sekonder metabolit üretimi gibi çalışmalara yardımcı olacak niteliktedir. Akvaryumlarda süs bitkisi olarak ticareti yapılan *Gratiola viscidula*'nın doku kültürüyle çoklu üretilmesi, akvaryum bitkileri üreticilerine önemli katkı sağlayabilir.

G.viscidula su ortamında bulunan ağır metalleri absorbe etme yeteneği yüksek bir bitki olduğundan fitoremediasyon ve biyoindikatör amacıyla da kullanılabilir.



8. KAYNAKLAR

Aasim, M., Hussain, N., Umer, E.M., Zubair, M., Hussain, S.B., Saeed, S., Rafique T.S., Sancak, C., 2010, *In vitro* shoot regeneration of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) using different cytokinins, *African Journal of Biotechnology*, 9(42), 7174-7179.

Aasim M, Khawar KM, Yalcin G, Bakhsh A (2014) Current trends in fenugreek biotechnology and approaches towards its improvement. *Am J Soc Issues Hum. Fenugreek Special Issue Mar/Apr*, pp 128–136

Amano, T., 2002. The Aquarium Plant Handbook. *Oriental Aquarium Pte Ltd.*, 184 s.

Anonim Albaz, A., 1984. Akvaryum Tekniği ve Balıkları. *Acargil Basımevi*, 433 İzmir.

Anthony, J.M., Senaratna,T., Dixon, K.W. ve Sivasithamparam, K., 2004. Somatic Embryogenesis for Mass Propagation of Ericaceae—a Case Study With *Leucopogon Verticillatus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 137–146.

Aquatic Botany 1989, Role of temperature, light and date: seeds were exhumed from soil on germination of four wetland perennials Issues 3–4, November 1989, Pages 387-394

Begum T, Mathur M (2014) In vitro Regeneration of *Catharanthus roseus* and *Bacopa monnieri* and their survey around Jaipur District. *Int J Pure App Biosci* 2 (4): 210-221

Behera, M., Thatoi, H.N. ve Sahoo, S.L., 2008. Effect of Growth Regulators on Biochemical Analysis of *Bacopa monnieri* (linn) Wettst in vitro. *Research Journal Of Biotechnology*, 3(2), 20-25

Carter, J. ve Gunawardena, A.H.L.A.N., 2011. Regeneration of the Aquatic Monocot *Aponogeton madagascariensis* (Lace Plant) Through Callus Induction. *Aquatic Botany*, 94(3), 143-149.

- Çınar, A. 2013. In Vitro Koşullarda *Hygrophila polysperma*'nın çoğaltımı. Yüksek Lisans Tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Karaman.
- Çiftçioğlu, M., 2013. In vitro Koşullarda *Rotala* [*Rotala Rotundifolia*(Buch-Ham. Ex Roxb) Koehne] Bitkisinin Çoğaltımı. Yüksek Lisans Tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Karaman.
- Dandin, V.S. ve Murthy, H.N., 2012. Enhanced *in vitro* Multiplication of *Nothapodytes nimmoniana* Graham Using Semisolid and Liquid Cultures and Estimation of Camptothecin in the Regenerated Plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34,1381-1386.
- Brunel, S., 2009. Pathway Analysis: Aquatic Plants Imported in 10 EPPO Countries. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 39, 201-213.
- David M. Spooner(1984) Intraspecific Variation In *Gratiola viscidula* Pennell (scrophulariaceae) . pages 79-87
- Dogan, M., Karatas, M. ve Aasim, M., 2016. In Vitro Shoot Regeneration from Shoot Tip and Nodal Segment Explants of *Pogostemon erectus* (Dalzell) Kuntze, a Multipurpose Ornamental Aquatic Plant. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25(11), 4777-4782.
- Doğan, M. 2018a. *Limnophila aromatica* (Lamk.) Merr.'nin Boğum ve Boğum Arası Eksplantlarından In Vitro Sürgün Rejenerasyonu. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(3), 77-84.
- Doğan, M., 2018b. Tıbbi Bitki *Lysimachia nummularia* L.'nin Boğum Eksplantlarından In vitro Mikroçoğaltımı. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(6), 875-881.
- Food and Chemical Toxicology 2019, Genotoxic properties of *Betonica officinalis*, *Vincetoxicum luteum* and *Vincetoxicum hirundinaria* extracts.

Foo, P.C., Lee, Z.H., Chin, C.K., Subramaniam, S. ve Chew, B.L., 2018. Shoot Induction in White Eggplant (*Solanum melongena* L. Cv. Bulat Putih) using 6-Benzylaminopurine and Kinetin. *Tropical Life Sciences Research*, 29(2), 119– 129.

Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D.M. ve Thorpe, T.A., 1996. Plant Hormones and Plant Growth Regulators in Plant Tissue Culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 32(4), 272-289.

Gnanaraj, W.E., Marimuthu, J., Subramanian, K.M. ve Nallyan, S., 2011. Micropropagation of *Alternanthera sessilis* (L.) Using Shoot Tip and Nodal Segments. *Iranian Journal of Biotechnology*, 9(3), 206-212.

In vitro Koşullarda *Rotala* [*Rotala Rotundifolia*(Buch-Ham. Ex Roxb) Koehne] Bitkisinin Çoğaltımı. Yüksek Lisans Tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Karaman

Jenks, M.A., Kane, M.E. ve McConnell, D.B., 2000. Shoot Organogenesis from Petiole Explant in the Aquatic Plant *Nymphoides indica*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63, 1-8.

Karataş M , Aasim M, Dazkirli M. (2016) Influence Of Light-Emitting Diodes And Benzylaminopurin On Adventitious Shoot Regeneration Of Water Hyssop (*Bacopa Monnieri* (L.) Pennell) In Vitro

Karatas, M., Aasim, M. Dogan M ve Khawar K.M., 2013. Adventitious Shoot Regeneration of the Medicinal Aquatic Plant Water Hyssop (*Bacopa monnieri* L. Pennell) Using Different Internodes. *Archives of Biological Sciences, Belgrade*, 65(1), 297-303.

Karataş M , Aasim M, Efficient In Vitro Regeneration Of Medicinal Aquatic Plant Water Hyssop (*Bacopa Monnieri* L. Pennell)

Kuo-Hsiang Hung ,Barbara A. Schaal ,Tsai-Wen Hsu ,Yu-Chung Chiang ,Ching-I Peng ,Tzen-Yuh Chiang 2009. Phylogenetic relationships of diploid and polyploid species in *Ludwigia* sect. *Isnardia* (Onagraceae) based on chloroplast and nuclear DNAs.

Mohammad Abu Hena Mostofa Jamal, Imdadul Hoque Sharif , Md. Mostofa Shakil1 , A. N. M. Rubaiyath-Bin Rahman , Nilufa Akhter Banu , Md. Rezuanul Islam1 and Md. Nazmuzzaman 2016. In vitro regeneration of a common medicinal plant, *Ocimum sanctum* L. for mass propagation

Murashige T. ve Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15(3), 473-497.

Sancar Fatih ÖZCAN, Muhammad AASIM, Sebahattin ÖZCAN (2015) In vitro high frequency regeneration through apical shoot proliferation of *Hemianthus callitrichoides* ‘Cuba’ a multipurpose ornamental aquatic plant

Singh A, Kandasamy T, Odhav B (2009) In vitro propagation of *Alternanthera sessilis* (sessile joyweed), a famine food plant. *Afr J Biotechnol* 8:5691–5695

Singh SK, Rai MK, Sahoo L (2012) An improved and efficient micropropagation of *Eclipta alba* through transverse thin cell layer culture and assessment of clonal fidelity using RAPD analysis. *Ind Crop Prod* 37:328–333

Sivakumar G, Alagumanian S, Rao MV (2006) High frequency in vitro multiplication of *Centella asiatica*: an important industrial medicinal herb. *Eng Life Sci* 6:597–601

Snedecor, G. W. ve W. G. Cochran., 1967. *Statistical Methods*. The Iowa State Univ Press, 327-329 s, Iowa, USA. Surendra BARPETE,

Şumlu, Ş., 2004. Yüzen Yapraklı Su Bitkisi Nilüferin (*Nymphaea sp.*) *in vitro* Koşullarda Çoğaltımı. *Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.*

Vijayakumar M, Vijayakumar R, Stephen R (2010) *In vitro* propagation of *Bacopa monnieri* L. - a multipurpose medicinal plant. *Indian Journal of Science and Technology*, 3:7 781-786.

Wangdi K, Sarethy IP (2016) Evaluation of micropropagation system of *Bacopa monnieri* L. in liquid culture and its effect on antioxidant properties. *J Herbs Spices & Medicinal Plants* 22:69–80

Yenice, Z., 2010. Geçici Daldırma Sistem Biyorektörlerle Su mercimeği (*Lemna Minor* L.) Bitkisinin *in Vitro* Çoğaltımı. *Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara*

Yusuf A, T RK, Nikhilesh S, Rao PS (2011) Effects of antioxidants and gelling agents on regeneration, *in vitro* conservation and genetic stability of *Bacopa monnieri* (L.) Pennell. *International Journal Of Ayurvedic And Herbal Medicine* 1: 51:67

Zote RK, Patil YK, Londhe SS, Thakur VV, Choudhari NB (2018) *In vitro* regeneration of *Bacopa monnieri* (L.) from leaf and stem explants. *International Journal of Chemical Studies* 6(2): 1577-1580

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Tuba ALTUNKAYA
Uyruğu : T.C
Doğum Yeri ve Tarihi : ÇORUM/MERKEZ 06.06.1993
Telefon : 05541121285
Faks : -
e-mail : altunkayatuba@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Mehmet Çelik Anadolu Lisesi Alaca/Çorum	2012
Üniversite	: Erzurum Teknik Üniversitesi Merkez/Erzurum	2017
Yüksek Lisans	: Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram/Konya	2020
Doktora	:	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2016	Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Laboratuvarı	Stajyer

UZMANLIK ALANI Bitki Doku Kültürü

YABANCI DİLLER İngilizce ,Fransızca

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

Adli genetik alanı, bilim kitapları, romantik komedi filmleri, BBC News, Zaytung, Biyo RSS, bilim ve gelecek adlı internet sitelerini takip etmek.

YAYINLAR