

***IN VITRO* KOŞULLARDA AKVARYUM BİTKİSİ *Shinnersia*
rivularis'in ÇOĞALTIMI**

Esra KAYA

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Hidrobiyoloji Programı

Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ

Ocak-2015

T.C.
KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***IN VITRO* KOŞULLARDA AKVARYUM BİTKİSİ *Shinnersia rivularis*'in**
ÇOĞALTIMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Esra KAYA

Anabilim Dalı : Biyoloji

Programı : Hidrobiyoloji

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ

KARAMAN-2015

TEZ ONAYI

Esra KAYA tarafından hazırlanan “*In Vitro* Koşullarda Akvaryum Bitkisi *Shinnersia rivularis’in* Çoğaltımı” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir

Danışman:

Prof.Dr. Mehmet KARATAŞ

Juri Üyeleri

Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ
Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Kamil Özdağ Fen Fak. Biyoloji Bölümü

5 4 2 1

Prof. Dr. Khalid Mahmood KHAWAR
Ankara Üniversitesi Ziraat Fak.
Tarla Bitkileri Bölümü

Khawar

Doç. Dr. Muhammad AASIM
Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Kamil Özdağ Fen Fak. Biyoloji Bölümü

M. A. Asim

Tez Savunma Tarihi: 14/01/2015

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Fevzi KILIÇEL
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Esra KAYA

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

***IN VITRO* KOŞULLARDA AKVARYUM BİTKİSİ *Shinnersia rivularis*'in ÇOĞALTIMI**

Esra KAYA

**Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı**

Danışman: Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ

Ocak, 2015, 44 sayfa

Shinnersia rivularis, *Asteraceae* familyasına ait Meksika kökenli bir akvaryum bitkisidir. Akvaryumlarda oluşturdukları güzel görünüşleriyle oldukça fazla tercih edilmektedir. Bu çalışmanın amacı ise *in vitro* koşullarda *S. rivularis* bitkisinin çoğaltımıdır. Bitkilerden alınan parçalar öncelikle çamaşır suyu ve H₂O₂ ile sterilizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. En iyi sterilizasyon H₂O₂ ile sağlanmıştır. Steril edilen bitkilerden yaprak, sürgün ucu, 1. ve 2.koltuklatı, 1. ve 2. boğum arası eksplantlarıyla farklı oranlarda BAP, TDZ ve BAP+NAA içeren agar ile katılaştırılmış MS ortamlarına aktarılmıştır. En iyi sürgün rejenerasyonu 0,80 mg/l TDZ içeren ortamda sürgün ucu eksplantından elde edilmiştir. Eksplanta başına sürgün sayısı en fazla 49,60 adet olarak 0,80 mg/l TDZ içeren ortamdaki 2.koltukaltı eksplantından elde edilmiştir. En uzun sürgün (2,00 cm), 0,10 mg/l BAP içeren ortamda 1.boğum arası eksplantında rastlanmıştır. Tüm rejenerasyon ortamlarında bitkiler üzerinde kökler görülmüştür, dolayısıyla sürgünleri köklendirmek amacıyla ayrıca bir köklendirme çalışması yapılmamıştır. Çoğaltımı yapılan bitkiler farklı pH taşıyan kavanozlardaki sulara dört hafta bekletilmiştir. Bitkilerin gelişimi için en iyi pH 7,00 olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Akvaryum, *In vitro*, *Shinnersia*, Sucul Bitkisi, Sürgün rejenerasyonu

ABSTRACT

Ms Thesis

IN VITRO PROPAGATION OF AQUARIUM PLANT *Shinnersia rivularis*

Esra KAYA

**Karamanoglu Mehmetbey University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology**

Danışman: Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ

January, 2015, 44 pages

Shinnersia rivularis, belongs to *Asteraceae* family is an aquatic plant native to Mexico. The plant has been used in the aquariums due to its ornamental appearance. The objective of this study is to propagate plants under in vitro conditions. Plant twigs were at first surface sterilized with commercial bleach or H₂O₂ and H₂O₂ was found more suitable for sterilization. Lead, shoot tip, 1st and 2nd nodal stem, 1st and 2nd internode explants were cultured on agar solidified MS medium supplemented with different concentrations of BAP, TDZ or BAP+NAA. Maximum shoot regeneration frequency was achieved on lead shoot tip explant cultured on MS medium containing 0.80 mg/l TDZ. Maximum number of 49.60 shoots per explants were scored from 2nd nodal stem explant cultured on MS medium containing 0.80 mg/l TDZ. The longest shoots (2.0 cm) were obtained on 1st nodal stem explant cultured on MS medium. Rooting experiment were not done due to direct rooting observed in the all regeneration medium. Regenerated plantlets were acclimatized in the jars containing water at different pH levels and showed best growth at pH 7,0.

Key Words: Aquariums, Aquatic plant, *In vitro*, *Shinnersia*, Shoot regeneration

ÖN SÖZ

Yüksek lisans öğrenimim boyunca yardım ve desteklerinden dolayı danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ'a, çalışmalarında engin bilgileriyle beni yönlendiren ve yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Muhammad AASIM hocama, beni bütün hayatım boyunca destekleyip hep yanımda olan ailem; annem Elmas KAYA, babam Durmuş Ali KAYA, kardeşim Ebru KAYA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Esra KAYA

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	İ
ABSTRACT	İi
ÖN SÖZ	İii
ÇİZELGELER DİZİNİ	İv
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	X
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
3. MATERYAL ve YÖNTEM	10
3.1. Bitki Materyali	10
3.2. <i>In Vitro</i> 'da Yüzey Sterilizasyonu	10
3.3. Besin Ortamı ve Doku Kültür Koşulları.	10
3.4. Eksplant İzolasyonu ve Kültürü	10
3.5. Akvaryuma Adaptasyon ve Uygun pH Aralığının Belirlenmesi.....	12
3.6. İstatiksel Değerlendirme	12
4. SONUÇLAR	13
4.1 Sterilizasyon Çalışmaları.....	13
4.2. Farklı BAP Hormon Oranlarında Sürgün Rejenerasyon Çalışmaları.....	15
4.2.1. Katı BAP Ortamda <i>S. rivularis</i> Bitkisinin Sürgün Ucu Eksplantından Sürgün Rejenerasyon Çalışması	15
4.2.2. Katı BAP Ortamında Farklı BAP Oranlarının <i>S. rivularis</i> Bitkisinde 1. Koltuk Altı Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu Çalışması.....	16
4.2.3. Katı BAP Ortamda <i>S.rivularis</i> Bitkisinin 1. Boğum Arası Eksplantından Sürgün Rejenerasyon Çalışması.....	18
4.3. Farklı BAP ve NAA Oranlarında Sürgün Rejenerasyonu.....	20
4.3.1. Katı BAP+NAA Ortamında <i>S. rivularis</i> bitkisinin sürgün ucu	

eksplantından sürgün rejenerasyonu.....	20
4.3.2. Katı BAP+NAA ortamında <i>S. rivularis</i> bitkisinin 1.K.A. eksplantından sürgün rejenerasyonu	22
4.3.3. Katı BAP+NAA ortamında <i>S. rivularis</i> Bitkisinin 2.K.A. Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu	24
4.3.4. Katı BAP+NAA Ortamında <i>S. rivularis</i> Bitkisinin 1.B.A. Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu	25
4.3.5. Katı BAP+NAA Ortamında <i>S. rivularis</i> Bitkisinin 2.B.A. Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu	27
4.4. Farklı TDZ Oranlarında Sürgün Rejenerasyonu	27
4.4.1. Katı TDZ Ortamda <i>S. rivularis</i> Bitkisinin Yaprak Eksplantından Sürgün Rejenerasyon Çalışması	28
4.4.2. Katı TDZ Ortamda <i>S. rivularis</i> Bitkisinin Sürgün Ucu Eksplantından Sürgün Rejenerasyon Çalışması	30
4.4.3 Katı TDZ Ortamda <i>S. rivularis</i> Bitkisinin 1. K.A. Eksplantından Sürgün Rejenerasyon Çalışması	32
4.4.4. Katı TDZ Ortamda <i>S. rivularis</i> Bitkisinin 2.K.A. Eksplantından Sürgün Rejenerasyon Çalışması	34
4.5. Büyüme ve Gelişme İçin En Uygun Ph'nın Belirlenmesi	36
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	38
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1:	Murashige ve Skoog (1962) ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları	11
Çizelge 3.2:	Kullanılan büyüme düzenleyici ve antibiyotik çözücüleri, stok konsantrasyonu ve saklama koşulları	11
Çizelge 4.1:	Çizelge 4.1.Farklı konsantrasyonlarda uygulanan hidrojen peroksit ve çamaşır suyunun bulaşık oranı üzerine etkisi.....	14
Çizelge 4.2:	Katı ortamda farklı BAP dozlarının S.rivularis bitkisinin sürgün ucu eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.	15
Çizelge 4.3:	Katı ortamda farklı BAP dozlarının S. rivularis bitkisinin sürgün ucu eksplantından sürgün ejene syonu	16
Çizelge 4.4:	Katı ortamda farklı BAP dozlarının S. r vularis bitkisinin 1. Koltukaltı eksplantından sürgün rejenreasyonuna ait varyans analizi.	17
Çizelge 4.5:	Katı ortamda farklı BAP oranlarının S. rivularis bitkisinin 1.koltukaltı eks lantından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunl ğuna etkisi.	18
Çizelge 4.6:	Katı ortamda farklı BAP dozlarının S.rivularis bitkisinin 1. Boğum Arası eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	19
Çizelge 4.7:	Katı ortamda farklı BAP oranlarının S. rivularis bitkisinin 1.Boğum A ası eksplantından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna etkisi	19
Çizelge 4.8:	Katı ortamda farklı BAP+0,20mg/l NAA dozlarının S. rivularis bitkisinin sürgün ucu eksplantından sürgün rejenreasyonuna ait varyans anali i.	21
Çizelge 4.9:	Katı ortamda farklı BAP+0,20 NAA oranlarının S. rivularis bitkisinin sürgün ucu eksplantından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna etkisi.	21
Çizelge 4.10:	Katı ortamda farklı BAP-NAA dozlarının S.rivularis bitkisinin 1. Koltuk altı eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.	22
Çizelge 4.11:	Katı ortamda farklı BAP+0,20 NAA dozlarının S. rivularis bitkisinin 1. Koltuk altı Eksplantından sürgün rejenerasyonu	23
Çizelge 4.12:	Katı ortamda farklı BAP+0,20mg/l NAA dozlarının S. rivularis bitkisinin 2.K.A. eksplantından sürgün rejenreasyonuna ait varyans analizi.	24
Çizelge 4.13:	Katı ortamda farklı BAP+0,20 NAA oranlarının S. rivularis bitkisinin 2.K.A. eksplantından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna etkisi.....	25

Çizelge 4.14:	Katı ortamda farklı BAP+0,20 mg/l NAA dozlarının S. rivularis bitkisinin 1.B.A. eksplantından sürgün rejenreasyonuna ait varyans analizi	26
Çizelge 4.15:	Katı ortamda farklı BAP+0,20 NAA oranlarının S. rivularis bitkisinin 1.B.A. eksplantından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna etkisi.	26
Çizelge 4.16	Katı ortamda farklı BAP+0,20mg/l NAA dozlarının S. rivularis bitkisinin 2.B.A. eksplantından sürgün rejenreasyonuna ait varyans analizi.	27
Çizelge 4.17:	Katı ortamda farklı BAP+0,20 NAA oranlarının S. rivularis bitkisinin 2.B.A. eksplantından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna etkisi	28
Çizelge 4.18:	Katı ortamda farklı TDZ dozlarının S.rivularis bitkisinin yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.	29
Çizelge 4.19	Katı ortamda farklı TDZ dozlarının S. rivularis bitkisini yaprak eksplantından sürgün rejenrasyonuna etkisi.	30
Çizelge 4.20:	Katı ortamda farklı TDZ dozlarının S.rivularis bitkisinin sürgün ucu eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.	31
Çizelge 4.21:	Katı ortamda farklı TDZ dozlarının S. rivularis bitkisinin sürgün ucu eksplantından sürgün rejenrasyonuna etkisi.	32
Çizelge 4.22:	Katı ortamda farklı TDZ dozlarının S.rivularis bitkisinin 1.Koltukaltı eksplantın an s rgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.	33
Çizelge 4.23:	Katı ortamda farklı TDZ dozlarının S. riv laris bitkisinin 1.Koltukaltı eksplantından sürgün rejenrasyonuna etkisi.....	34
Çizelge 4.24:	Katı ortamda farklı TDZ dozlarının S.rivularis bitkisinin 2.Koltukaltı eksplantından sürgün rejenerasyon na ait varyans analizi.	35
Çizelge 4.25:	Katı ortamda farklı TDZ dozlarının S. rivularis bitkisinin 2.Koltukaltı eksplantından sürgün rejenrasyonuna etkisi....	36
Çizelge 4.26:	Farklı pH'la da su içeren cam kavanozlarda bitkilerin dört hafta sonunda boyunda ve boğum arası sayılarının artışı.....	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1:	<i>Shinnersia rivularis</i> bitkisinin genel görünümü	2
Şekil 4.1:	Sterilizasyon çalışmasından elde edilen sonuçlar.....	13
Şekil 4.2:	H ₂ O ₂ ile yapılan sterilizasyon çalışması	14
Şekil 4.3:	Sürgün ucu eksplantından sürgün	15
Şekil 4.4:	1. Koltuklatı eksplantından sürgün oluşumu	17
Şekil 4.5:	Boğum arası eksplantında sürgün oluşumu	18
Şekil 4.6:	BAP+NAA içeren ortamda sürgün ucu eksplantında sürgün rejenerasyonu	20
Şekil 4.7:	1. Koltukaltı eksplantında BAP+NAA içeren ortamda sürgün oluşumu	23
Şekil 4.8:	BAP+NAA içeren ortamda 2.koltukaltı Eksplantından sürgün rejenerasyonu	24
Şekil 4.9:	1.boğum arası eksplantında BAP+NAA içeren ortamda sürgün rejenerasyonu	26
Şekil 4.10:	TDZ içeren ortamda sürgün oluşumları	29
Şekil 4.11:	Sürgün ucu eksplantından TDZ içeren ortamlarda sürgün rejenerasyonu.....	31
Şekil 4.12:	1.koltukaltı eksplantından TDZ içeren ortamlarda sürgün oluşumları	33
Şekil 4.13:	TDZ içeren besin ortamlarında sürgün oluşumları	35
Şekil 4.14:	pH 7,00 de gelişim gösteren bitkiler	37

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Cm

g, mg, µg

HCl

H₂O₂

L, ml, µl

MS

NAA

NaOH

Açıklama

Santimetre

Gram, Miligram, Mikrogram

Hidroklorik Asit

Hidrojen Peroksit

Litre, Mililitre, Mikrolitre

Murashige ve Skoog Temel Besin Ortamı

α- Naftalen Asetik Asit

Sodyum Hidroksit

Kısaltmalar

BAP

ÇS

GA₃

TDZ

VK

Açıklama

6 Benzylaminopurin

Çamaşır Suyu

Gibberellik Asit

Thidazuron (1 Phenyl 3-(1,2,3-thidiazol 5yL) urea)

Varyasyon Kaynakları

1. GİRİŞ

Yapısında klorofil bulunduran ve birincil üreticiler olan bitkiler sucul yaşamda da asıl üretici konumundadırlar. Fotosentez sayesinde ürettikleri organik maddelerin yanında suyun oksijenazyonunu da sağlamaktadırlar. Akuatik ortamdaki besin zincirinin ilk halkasını oluşturan sucul bitkiler ortamın dengesini korumada oldukça büyük önem taşımaktadır (Crik, 2001).

Sucul ekosistemde organik parçalanmanın gerçekleştirilebilmesi için aerob bakteriler ve mantarlara ihtiyaç vardır. Bu canlıların oksijen ihtiyacı su bitkileri tarafından karşılanmaktadır. Dolaylı olarak bitkiler atıkların parçalanmasında görev almaktadırlar. Sucul bitkiler aynı zamanda patojen bakterilerin de ortamdaki yok edilmesini sağlamaktadır. Patojen bakteriler yaşama alanı olarak asidik ortamları tercih ederler, sucul bitkiler ise ortamı bazikleştirirler ve böylece bakterileri ortamlardan uzaklaştırırlar.

Bitkiler bazı balıklar için üreme ortamı da oluşturmaktadır. Bazı balıklar yumurtalarını bitkilerin üzerine bırakmayı tercih etmekte ve yavrular bitki yapraklarını bir süre yaşama ve korunma alanı olarak kullanmaktadırlar (Yenice, 2010). Süs havuzları ve akvaryum son on yıl içinde birçok ülkede hızla yayılan bir hobi haline gelmektedir (Maki ve Galatowitsch, 2004). Sadece Amerika'da yaklaşık 16 milyon evde süs havuzu bulunmaktadır (Crosson, 2010). Avustralya'da yapılan istatistiklere göre son 30 yılda 400 akvaryum bitki türü kullanılmaktadır (Petroeschovsky ve Champion, 2008).

Sucul bitkiler bunların yanında gıda olarak da tüketilmektedir. Bunlara örnek olarak; Uzak Doğu'da su kestanesi, Çin'de *Eleocharis dulcis* ve dünyanın farklı ülkelerinde tüketilen, yaprakları salatalarda kullanılan su teresi verilebilir. Su bitkileri kanalizasyon ve arıtma tesislerinde sıvı atıklardan ağır metallerin ayrıştırılmasını sağlar. Bunun için gerekli olan kimyasal sistemler oldukça pahalı olmasına karşılık, su bitkileriyle biyolojik ve ekonomik ayrıştırma gerçekleştirilmektedir. Su bitkilerinin yukarıdaki faydalı kullanımının yanında en çok süs bitkisi ve peyzaj amaçlı tercih edilmektedir. Bitkiler akvaryumdaki canlıların dengeli bir yaşam sürdürebilmeleri için oldukça önemlidir. Fotosentez sayesinde balıklara oksijen sağlarken, balıkların atıklarının da kökleriyle alarak dengeyi sağlar. Aynı zamanda da güzel görünüşleriyle de peyzajı öneme sahiptirler (Öztürk, 2008). Akvaryum bitkileri

günümüzde, dünyada ve ülkemizde oldukça büyük ticari önem kazanmıştır. Almanya, Hollanda ve Danimarka'da su kaynaklarında kurulan seralarda önemli miktarlarda akvaryum bitkisi yetiştirildiği bildirilmektedir. Hollanda'daki üretim tesislerinde 240 çeşit bitki türü yetiştirilerek piyasaya sunulmaktadır. Hollanda'dan yılda 2-3 milyon dolar tutarında akvaryum bitkisi ithal edildiği bildirilmektedir (Hekimoğlu, 2006).

Dünyada son yıllarda akvaryum bitkileri ile ilgili çalışmalar hızla artmaktadır. Bazı bitkilerle yapılan çalışmalar; *Bacopa monnieri* (Sharma ve ark. 2010), *Alternanthera sessilis* (Gnanaraj ve ark. 2011), *Veronica anagallis-aquatica* (Shahzad ve ark. 2011), *Aponogeton madagascariensis* (Carter ve Gunawardena 2011), *Ceretaphyllum demersum* (Doğan, 2013), *Rotala rotundifolia* (Çiftçioğlu, 2013), *Hygrophila polysperma* (Çınar 2013).



Şekil 1.1 *Shinnersia rivularis* bitkisinin genel görünümü

Asteraceae familyasına ait olan *Shinnersia rivularis* Weiss-Grün'in akvaryumlarda yaygın bir şekilde kültürü yapılmaktadır (Zwerin, 2010; Arbuatti 2011). Yapraklarındaki beyaz damarlarıyla (Şekil 1.) ayırt edilen bu akvaryum bitkisi oldukça çekici bir görünüme sahiptir (Eliáš jun, 2009). Bulunduğu ortamda ışık yoğunluğu az ise yapraklar arasındaki mesafe fazladır. Yaprak uzunluğu da doğrudan ışık yoğunluğuna bağlıdır. Bitkinin uzunluğu 10-50 cm ve eni ise 5-15 cm arasında değişmektedir. pH'ı 5.0-8.0 ve sıcaklığı 15-30°C olan su ortamında yaşamını sürdürebilmektedir (Anonim, 2007).

Bu tezin amacı ise akvaryumlarda popüler olan *S. rivularis* bitkisinin *in vitro* koşullarda çoğaltımını gerçekleştirmektir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

Agrawal ve Ram (1995), su kestanesi (*Trapa sp.*)'nin in vitro çimlenmesi ve mikro çoğaltımı konusunda çalışmışlardır. Yüzey sterilizasyonundan sonra embriyolar Nitsch'in temel yarı katı ortamı (NBS ortamı) ortamına kültüre alınarak bitkiler elde edilmiştir. Bu filizlerden sürgün ucu ve nodal kısımlar alınarak Nitsch'in temel sıvı (NBL ortamı) ortamında kültüre alınmıştır. Rejenere olan sürgülerden alınan eksplantlar çeşitli bitki büyüme düzenleyicilerinin bulunduğu NBL ortamına kültüre alınmış ve sürgün uzunluğu, dallanma, nod sayısı ve kök gelişimi gibi özellikler incelenmiştir. Ortamda bulunan oksin axillary tomurcuk üretimini engellemiş ancak yeşil renkli kök oluşumunu artırmışlardır. Absisik asit içeren ortamda ise genç yapraklar üzerinde sürgün oluşumuna ve gelişmelerine engel rastlanmıştır. 1-6 µM BAP içeren rejenerasyon ortamında belirgin yan sürgün oluşumu gözlenmiştir. Bu sürgünler NBL ortamına transfer edildiğinde gövdelerde uzamayla beraber kök oluşumu gözlenmiştir.

Taylor ve ark., (1998), *Piper methysticum* bitkisinin doku kültürü çalışmasında endojen bulaşıklığın büyük bir sorun olduğunu bildirmişlerdir. Seradan alınan bitkilerin benomil ve rifampicin ile muamelesi sonucu kontaminasyonun önüne geçilemediğini bildirmişlerdir. Bir diğer uygulama da, ayrı ayrı birkaç çeşit antibiyotik kültür ortamına ilave edilmesinden sonra 3-5 hafta hiç kontaminasyon çıkmamasına rağmen daha sonra kontaminasyonun tekrar meydana geldiğini gözlemişlerdir. Kontamine olmayanlar yeni bir ortama aktarılırken kontamine olanlara ikinci bir yüzey sterilizasyon uygulama yapılmıştır. Az sayıda eksplantları kurtarabildiklerini bildirmişlerdir.

Öztürk (2002), *Ludwigia sp*'nin in vitro hızlı çoğaltımı çalışmaları için uç meristemi, birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü koltukaltı meristem eksplantları dört hafta süreyle % 0,8 agar ile katılaştıran 0,1, 0,2 ve 0,3 mg/l BAP, 0,05, 0,1, 0,15 mg/l ve 0,1 mg/l NAA içeren MS ortamlarında tutulduktan sonra ½ MS ortamına kültüre alınmıştır. En fazla sürgün (12.31 adet/eksplant) uç meristemi ile 0,05 mg/l TDZ ve 0,1mg/l NAA içeren MS besi ortamından elde edilmiştir. Rejenere olan sürgünler 10–20 mm uzunluğa geldiklerinde kesilerek steril Magenta veya cam kavanozlar (baby jar) içinde ½ MS ortamda köklendirmeye alınmıştır. Köklendirilmiş sürgünler daha sonra 24 °C ± 2 °C sıcaklık, pH 7, 12 saat ışık ve 12 saat karanlık fotoperiyodunda akvaryum ortamına adapte edilmiştir.

Wawrzyn'czak ve Goszczyńska (2003), *Dianthus caryophyllus* türünde çalışmışlardır. *D. caryophyllus* (Karanfil-Dianthus) bitkisinin 'Dolce Vita', 'İmpala', 'Domingo', 'Tango' ve 'Charlotte' çeşitlerinden elde edilen kalemler 24 saat BAP ve kinetin içeren ortamda tutulmuştur. Karanfil çiçeklerinin uzun süre taze kalabilmesi 0,05 veya 0,1 μM kinetin ve BAP kullanarak sağlanabilmiştir. 'Dolce Vita', 'İmpala', 'Domingo' ve 'Tango' çeşitlerinde 0,05 μM kinetin veya BAP kullanılarak çiçek ömründe belirgin bir fark gözlenmiştir. Fakat 'Charlotte' çeşidinde 0,05 μM kinetin, 0,1 μM BAP muamelesi ile çiçek ömrü ve çiçek çapı üzerinde olumlu etki görülmüştür.

Moncalean ve ark. (2003), bu çalışmada *Actinidia deliciosa* türünün sürgün uçlarını değişik oranda BAP ile muamele ettikten sonra selüloz ile sabitleştirilen MS ortama yerleştirmişlerdir. 4,4 μM BAP ile 30 dk, 1 gün, 2 gün, 35 gün muamele edilmiş, eksplantlardan gelişen bitkilerin yapraklarında absisik asit, IAA, zeatin, dehidrozeatin zeatinribosit, dihidrozeatinribosit, N6 izopentiladenin, N6 izopentenil adenosin, oranlarına aktarılmıştır. Analizler üç alt kültürden 31 gün sonra ex vitro koşullarda yapılmıştır. Çalışma sonucunda endogen fitohormonlar ve bitkinin gelişimi arasında bir etkileşim olduğu gözlenmiştir. En iyi bitkicikler 4,4 μM BAP ile 1 gün muameleden elde edilmiştir. Bu bitkilerde, diğer bitkilere göre yüksek oranda IAA, sitokininler ve absisik asit kaydedilmiştir.

Panigrahi ve ark.(2006), *Hygrophila auriculata* bitkisinin yaprak eksplantlarından BAP ve NAA içeren MS ortamda sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir. Yaprak eksplantından kallus yoluyla en başarılı sürgün rejenerasyonu 2 mg/l BAP ve 0,2 mg/l NAA içeren ortamda görülmüş, 3 cm'den fazla gelişen sürgünler 0,1 mg/l NAA içeren MS ortamda köklendirilmiştir. Elde edilen bitkilerin % 80'i başarıyla toprağa aktarılmış ve adaptasyon sağlanmıştır.

Li ve ark. (2007), Mango bitkisinin kotiledon parçaları 28 gün süreyle agar içeren ortamda kültüre almışlardır. Eksplantlara ön muamele uygulaması sonraki gelişme üzerinde etkili olmuştur. Bu eksplantlarda kotiledonun sap kısmında adventif kökler oluşmuş, uç tarafında (karşı taraf) hiç kök gözlenmemiştir. Köklenmede kotiledon yaprağın uzunluğu, IAA ya da IBA ile 1 saat muamelenin etkisi olmuştur. Bunun yanı sıra eksplantın 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA-antioksin) ile muamelesi adventif kök oluşumunda inhibisyona neden olmuştur. 2700 μM NAA ile 1 saat muamelede kotiledonların abaksial tarafında köklenme görülmüştür. Histolojik incelemede her iki tip kökün parenkima hücrelerinden olduğu tespit edilmiştir.

Fakat kök primordiaların gelişimi değişik olmuştur. Sonuçta oksinlerin polar (kutuplu) taşınması adventif kök oluşumunda önemli rolü olmuştur. Fakat NAA'in etkisi difüzyon ile nüfuzu nedeniyle eksenden uzak tarafta kök oluşumuna sebep olmuştur.

Najaf (2008), kebere tohumlarının çimlenmesinde etkili, benzer zamanda mikro çoğaltımda kullanılabilir olan bir yöntem geliştirmeye çalışmıştır. Tohumlar farklı oranlarda BAP, NAA ve GA3 içeren MS ortamında başarılı bir şekilde (%100) çimlendirmiştir. Daha sonra in vitro ortamda gelişen bitkiciklerden alınan gövde, yaprak ve koltuk altı meristem eksplantları değişik oranlarda BAP ve NAA içeren MS ortamlarda rejenerasyona alınmıştır. En fazla sürgün rejenerasyonu 0,4 mg/L BAP ve 0,1 mg/L NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir. Elde edilen sürgünleri 50 mg/L IBA ile 5 dk.muamele edilip, MS ortamında köklendirilmiştir.

Aasim ve ark., (2009) Çemen (*Trigonella fonemgraecum* L.) bitkisinde doku kültürü çalışmasıyla in vitro rejenerasyon protokolü geliştirmişlerdir. Bu çalışmada çemen bitkisinin sürgün ucu ve kotiledon yaprak eksplantları farklı oranda TDZ veya TDZ-IBA içeren ve agarla katılaştırılmış MS ortamında kültüre alınmıştır. En fazla sürgün rejenerasyonu 0,40 mg/L TDZ içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Elde edilen sürgünler köklendirememişlerdir.

Şumlu (2009), *Rotala macrandra* Koehne'nin in vitro koşullarda hızlı çoğaltımı ve gen aktarımı ile ilgili yapılan çalışmada *R. macrandra*'nın 1'inci koltukaltı ve 2'inci koltukaltı meristemi ile yaprak, 1'inci ve 2'inci boğum arası, eksplantları agar ve gelrit ile katılaştıran ve içerisinde sitokinin ve oksin bulunan ortamlarda kültüre alınmıştır. Sıvı MS besi ortamında sürgün rejenerasyonu sağlanmıştır. En fazla sürgün rejenerasyonu (27.33 adet) 1'inci boğum arası eksplantında 0.25mg/l BAP-0.50 mg/l NAA içeren MS besi ortamından elde edilmiştir. Buna karşılık sıvı kültürde ise 0.25 mg/l BAP-0.50 mg/l NAA ve 0.50 mg/l BAP-0.50 mg/l NAA içeren MS ortamında birer eksplant üzerinde sürgün rejenerasyonu gözlenmiştir. Daha sonra yaprak ve 1'inci boğum arası eksplantlarıyla *Agrobacterium tumefaciens* Smith & Townsend GV2260 P35GUS-INT ve LBA4404 pRGGbar hatları kullanılarak gen aktarım çalışması yapılmıştır. Her iki hatta da değişik oranda GUS pozitif transgenik aday bitkiler elde edilmiştir. Elde edilen tüm rejenere olmuş ve transgenik aday bitkileri akvaryum ortamına adapte edilmiştir.

Aasim ve ark., (2010) *Trigonella* bitkisinin in vitro koşullarda çimlenen 8-10 günlük fidelerden elde edilen kotiledon boğum eksplantları 0,05-0,80 mg/L Kinetin, 0,25-1,0 mg/L BA ile 0 veya 0,20 mg/L NAA ve 0,05-0,80 mg/L TDZ ile 0 veya 0,10 mg/L IBA içeren ve gelrit ile katılaştırılan ortamlarda kültüre almışlardır. En fazla sürgün rejenerasyonunu TDZ-IBA içeren ortamlarda elde edilmiştir. Eksplant başına en fazla 22,21 adet sürgün 0,40 mg/L TDZ içeren ortamda kaydedilmiştir. Ortamlarda oksin varlığını sürgün uzunluğunu arttırmıştır. Elde edilen sürgünler 0,1-1,0 mg/L IBA veya NAA içeren ortamlara köklendirmek için kültüre alınmış

Sharma ve ark. (2010), yüksek ticari potansiyele sahip olan *Bacopa monnieri* (L) Wettst'in çoğaltımı için çalışmalar yapmışlardır. Bitki yüzey sterilizasyonu için nodal segmentler, %0,1 oranında civa klorid ile 5 dk muamele edilmiş ve kültür ortamına aktarılmıştır. 0,2 mg/l BAP içeren yarı katı MS ortamında %100 kültürler elde edilmiştir. *In vitro* koşullarda çoğaltılan aksillar sürgünler, hızlı sürgün çoğaltımı için 0,2 mg/l BAP içeren MS ortamında demetler halinde gruplara ayrılarak alt kültüre alınmıştır. Rejenere olan sürgünler, 0,15 mg/l IBA içeren MS ortamında %100 köklendirilmiş ve köklendirilen bitkiciklerin başarıyla adaptasyonu sağlanmıştır.

Yenice (2010), su mercimeği (*Lemna minor* L.) bitkisini farklı oranlarda BAP, kinetin ve TDZ içeren şekerli ve şekersiz sıvı MS ortamlarında kültüre almıştır. En fazla bitki çoğaltımı 0,2 mg/l BAP içeren şekersiz sıvı MS ortamında pH 7.23 te görülmüştür. Bu ortamda eksplant başına 50.44 adet bitki kaydetmiştir. Ayrıca 0,05 mg/l kinetin içeren sıvı MS ortamında eksplant başına düşen bitki sayısı en fazla 57,823 adet ve 0.6 mg/l TDZ içeren sıvı MS ortamında eksplant başına bitki sayısı en fazla 50,74 adet hesaplamıştır.

Gnanaraj ve ark. (2011) *Alternanthera sessilis* L.'in doku kültürü tekniklerinden yararlanarak hızlı çoğaltımı için sürgün ucu, yapraklar, gövde nodları ve internodları farklı oranlarda bitki büyüme düzenleyicilerini içeren MS ortamında kültüre almışlardır. Sürgün ucu eksplantlarında, en yüksek sürgün rejenerasyon oranı ($94,3 \pm 0,43$) ve eksplant başına en fazla sürgün sayısı ($23,4 \pm 0,38$) 2,0 mg/l BAP içeren MS ortamında kaydedilmiştir. Nodal eksplantlarda ise en yüksek sürgün rejenerasyon oranı ($90,4 \pm 0,82$) ve nod başına en fazla sürgün sayısı ($15,2 \pm 0,63$ adet) 1,5 mg/l BAP içeren MS ortamında kaydedilmiştir.

Stanly ve ark. (2011), *C. wendtii* de Wit ve *C. beckettii* Thwaites ex Trimen türlerinin sürgün uçlarını kullanarak *in vitro* ortamda çoğaltmak için etkili bir protokol oluşturma çalışması yapmışlardır. Her iki türde de çoklu sürgün oluşumu 0,5 mg/L BA ve 0,2 mg/L IBA içeren sıvı MS besi ortamında ve agar kullanılmış MS besi ortamında görülmüştür. Her iki türde de yüksek oranda çoklu sürgün oluşumu, kültürün 4. haftasından sonra sıvı çoğaltma ortamında görülmüştür. En az çoklu sürgün oluşumu ise agar kullanılmış besi ortamında görülmüştür (4 hafta sonra). Ayrıca her iki ortamda ve her iki türden alınan explantlarda 4. hafta sonunda kök ve yaprak oluşumu görülmüştür. Bu çalışmada, %95'in üzerinde adaptasyon sağlanmıştır.

Shahzad ve ark. (2011), *Veronica anagallis-aquatica L.*'nin nodal eksplantları sürgün rejenerasyonu için çeşitli sitokininleri (BAP, Kin ve 2-iP) farklı oranlarda (0,1-5,0 µM) içeren katı MS ortamında kültüre almışlardır. Ayrıca farklı oranlarda BAP (0,1-5,0 µM) içeren sıvı MS ortamında da denemeler yapılmıştır. En fazla sürgün rejenerasyonu sayısı ($43,7 \pm 1,85$) ve sürgün uzunluğu ($5,0 \pm 0,25$) 0,5 µM BAP içeren katı MS ortamında elde edilmiştir. Daha sonra sürgün rejenerasyonu için optimal sitokinin konsantrasyonu olan 0,5 µM BAP ile farklı oranlarda (0,1, 0,5 ve 1,0 µM) IBA ve NAA içeren katı MS ortamında çalışmalar yapılmıştır. Uzayan sürgünleri köklendirmek için farklı oranlarda (0,1-2,0 µM) IBA ve NAA içeren MS ve ½ MS ortamlarına aktarılmıştır. En fazla kök oluşumu 0,5 µM NAA içeren MS ve ½ MS ortamlarında kaydedilmiştir. Köklendirilen bitkilerin %80 başarıyla adaptasyonu sağlanmıştır.

Banerjee ve Shrivastava (2012) *Bacopa monnieri (L.)*'nin etkili üretimi için doku kültürü tekniklerinden yararlanarak bir protokol geliştirme çalışması yapmışlardır. Eksplant olarak 2,5 cm'lik internodal parçalar kullanılmıştır. Bitki yüzey sterilizasyonu için 2-3 aylık bitkilerden alınan eksplantlar yaklaşık yarım saat musluk suyunda ardından da 4-3 damla sıvı sabun damlatılmış suda 20 dk boyunca yıkanmış ve musluk suyuyla durulanmıştır. Ardından eksplantlara 2-3 dk %0,1 HgCl₂'le uygulanmış ve 3-4 kez steril distile su ile yıkanmıştır. Sürgün rejenerasyonu için BAP (0,5-2 mg/l) ve Kin (0,5-2 mg/l) oranlarını hem tek olarak hem de her ikisinin kombinasyonlarını içeren MS veya ½ MS besin ortamları kullanılmıştır. Üç hafta sonra en fazla sürgün rejenerasyonu ve sürgün sayısı 1,0 mg/l BAP - 0,5 mg/l Kin besin ortamında görülmüştür. Büyüyen sürgünler, köklendirme için farklı oranlarda NAA (0,5-2,0 mg/l) içeren katı ve sıvı MS ortamlarına aktarılmıştır. En fazla kök oluşumu 0,15 mg/l NAA içeren sıvı MS ortamında kaydedilmiştir. Köklendirilen bitkiciklerin adaptasyonu başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Karataş ve ark.(2013), sucul ve tıbbi bitki olan *Bacopa monnieri*'nin adventif sürgün oluşumu için nodal eksplantlar ve yaprak eksplantları BAP-NAA içeren besin ortamlarında kültüre alınmışlardır. Bütün BAP-NAA içeren besin ortamlarında kallus ve sürgün oluşumları gözlenmiştir. Her iki eksplantta en fazla eksplant başına sürgün sayısı 0.25 mg/L BAP+ 0.25 mg/L NAA içeren MS ortamlarında elde edilmiştir. Ortamdaki yüksek NAA oranı BAP'ın tüm oranlarıyla olumsuz etkiler meydana getirmiştir. Yaprak eksplantlarından elde edilen sürgünler diğer eksplantlardan elde edilen sürgünlerle karşılaştırıldığında daha uzun oldukları kaydedilmiştir. Elde edilen sürgünler 4,00-10,00 pH aralığına adaptasyon sağlarken en iyi adaptasyon oranı pH 8,00'de göstermiştir.

Doğan (2013), su ekosisteminde ve ticari açıdan önemli olan tilki kuyruğu (*Ceratophyllum demersum L.*) bitkisinin *in vitro* koşullarda hızlı çoğaltımı için çalışma yapmışlardır. Bitkinin yüzey sterilizasyonu için farklı konsantrasyon ve sürelerde hidrojen peroksit (H₂O₂) ve çamaşır suyu (NaOCl) kullanılmıştır. En fazla steril ve sağlam eksplantlar, %5'lik H₂O₂ ile 7 dk muamele ile elde edilmiştir. Sürgün rejenerasyonu amacıyla sürgün ucu, 1. ve 2. koltukaltı meristem eksplantları farklı konsantrasyonlarda veya kombinasyonlarda sitokininleri (BAP, TDZ ve Kinetin), oksinleri (IBA ve NAA) veya gibberellik asiti (GA3) içeren agarla katılaştırılmış ya da sıvı MS besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Agarla katılaştırılan kültür ortamlarında eksplant başına sürgün sayısı en fazla (61,92 adet) 0,10 mg/l TDZ, 0,10 mg/l IBA ve 0,10 mg/l GA3 kombinasyonlarını içeren MS ortamında sürgün ucu meristem eksplantından elde edilmiştir. Sıvı kültür ortamlarında en fazla (204,33 adet) sürgün 0,40 mg/l BAP içeren MS ortamında 2. koltukaltı meristem eksplantından elde edilmiştir. Her iki kültür ortamlarından elde edilen rejenere bitkilerin su ortamına başarıyla adaptasyonu sağlanmıştır ve ½ MS ortamlarına aktarılmıştır. En fazla kök oluşumu 0,5 µM NAA içeren MS ve ½ MS ortamlarında kaydedilmiştir. Köklendirilen bitkilerin %80 başarıyla adaptasyonu sağlanmıştır.

Çınar (2013), *Hygrophila polysperma* yüksek ışıktaki yaprakları pembeye dönen ve akvaryum bitki endüstrisinde süs bitkisi olarak kullanılan bir türdür. Hindistan ve Bengal'da tıbbi amaçlı olarak kullanılmakla beraber tıbbi bitkiler listesinde de yerini almaktadır. Ayrıca toksisitelerin tarama aracı olarak ve alg tespiti için de kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, bitkinin *in vitro* koşullarda hem sıvı hem de katı ortamlarda çoğaltımıdır. Bitkinin 3-5 cm'lik gövdeleri alınarak H₂O₂ ile sterilizasyon sağlandıktan sonra izole edilen sürgün ucu, birinci koltukaltı meristemi ve yaprak eksplantları BAP, TDZ, kinetin ve IBA'nın farklı

kombinasyon ve konsantrasyonlarında kültüre alınmıştır. Katı denemelerde endojenik bakteri kontaminasyonunu önlemek için 500 mg/L bakteriostatik antibiyotiği Amoklavlin de ilave edilmiştir. Agar ile katılaştırılmış ortamlarda eksplant başına en fazla 31,00 adet sürgün, sürgün ucu eksplantından 0,40 mg/L kinetin içeren ortamdan, eksplant başına en az sürgün (1,33 adet) ise yaprak eksplantında saptanmıştır.

iftioğlu (2013), *Rotalla rotundifolia* bitkisi akvaryumlarda kullanılan ve fazla bakıma ihtiyaç gerektirmeyen bir süs bitkisidir. Akvaryumlarda uyum sorunu olmayan, aşırı nitratı sevmeyen ve yüksek ısılara dayanıklı olup yüksek ışıkta kırmızı renge dönen akuatik bir bitkidir. *R. rotundifolia* 'nın in vitro çoğaltımı için yaprak, sürgün ucu, birinci koltukaltı ve ikinci koltukaltı meristemlerinin BAP, TDZ, Kinetin ve GA₃ içeren sıvı ve agarla katılaştırılan MS ortamda kültüre alınmıştır. Sürgün ucu eksplantlarından 0,20 mg/l BAP ve 0,20 mg/l GA₃'de sıvı kültür ortamında, eksplant başına 26 sürgün elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu ise 5,9 cm olarak kaydedilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNETEM

3.1. Bitki Mateyali

Bitki materyali olarak kullanılacak olan *S. rivularis* 'Weiss-Grün' Karaman'daki akvaryumculardan temin edilmiştir.

3.2. In Vitro'da Yüzey Sterilizasyonu

Bitkinin yüzey sterilizasyonu için en iyi başarımın elde edileceği en düşük oranda dezenfektan dozu belirlemek için çalışmalar yapılmıştır. Bitkinin yüzey sterilizasyonundan önce, üzerindeki kalıntıları uzaklaştırmak için ilk olarak 15-30 dk. akan çeşme suyu altında tutulmuştur. Daha sonra farklı oranlarda çamaşır suyu, H₂O₂ vb. maddelerle yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Sonrasında dezenfektanları uzaklaştırmak için steril saf su ile 5'er dakika 3 defa durulama işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.3. Besin Ortamı ve Doku Kültür Koşulları

Yapılacak olan denemelerde temel besin ortamı olarak MS (Murashige ve Skoog; 1962) ortamı kullanılmıştır. Katı olan besin ortamlarına, farklı oranlarda büyüme düzenleyicileri (BAP, NAA ve TDZ gibi), %3,0 sukroz ve katılaştırıcı olarak %0,65 agar ve %0.3 gelrite ilave edilmiştir. Besin ortamının pH'sı 1 N NaOH ya da 1 N HCl ile ayarlanmış olup 1.2 atm basınç altında 120 C°de 20 dk otoklavda bekletilerek steril edilmiştir. Kültürler beyaz floresans veya LED ışığı altında 16 saat ışık fotoperiyotta 24±1 °C de bekletilmiştir.

3.4. Eksplant İzolasyonu ve Kültürü

Bitkinin yüzey sterilizasyon işleminden sonra izole edilen bitkilerden sürgün ucu, 1.koltuk altı, 2.koltuk altı, boğum araları ve yaprak eksplantları sürgün rejenerasyonu için farklı oranda BAP, TDZ, NAA, vb içeren MS ortamına yerleştirilmiştir.

Çizelge 3.1. Murashige ve Skoog (1962) ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları

Ortamda Bulunan Maddeler	Konsantrasyonu (mg/l)	
<i>Makro Elementler</i>	NH ₄ NO ₃	1650,000
	KNO ₃	1900,000
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440,000
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370,000
	KH ₂ PO ₄	170,000
<i>Mikro Elementler</i>	KI	0,830
	H ₃ BO ₃	6,200
	MnSO ₄ .4H ₂ O	22,300
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,600
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,250
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,850
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
	Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37,250
<i>Vitaminler</i>	Myo-Inositol	100,000
	Nicotinic Acid	0,500
	Pyrotinic Acid	0,500
	Thiamine-HCl	0,100
	Glycine	2,000

Çizelge 3.2. Kullanılan büyüme düzenleyici ve antibiyotik çözümleri, stok konsantrasyonu ve saklama koşulları.

Bitki büyüme düzenleyicileri	Çözücü	Stok konsantrasyonu (mg/ml)	Sterilizasyon şekli	Saklama koşulları (°C)
Oksinler				
IBA	1N NaOH	1/1	Filtre	- 20
Sitokininler				
TDZ	DMSO	1/1	Otoklav	4
BAP	1N NaOH	1/1	Otoklav	4
Kinetin	1N NaOH	1/1	Filtre	- 20
Giberellin				
GA ₃	dH ₂ O	1/1	Filtre	- 20
Antibiyotik				
Amoklavın	dH ₂ O	100/1	-	- 20

3.5. Akvaryuma Adaptasyon ve Uygun pH Aralığının Belirlenmesi

In vitro koşullarda elde edilen bitkiler eşme suyu içeren akvaryum ortamına aktarılmıştır.. Ayrıca, bitki için uygun pH derecesi de belirlenmiştir.. Her bir akvaryumda 10-15'er bitki pH'sı; 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 olan distile suya yerleştirilmiştir. Yerleştirmeden önce ise akvaryum tabanına 3-4 cm yüksekliğinde dere kumu dökülmüştür.

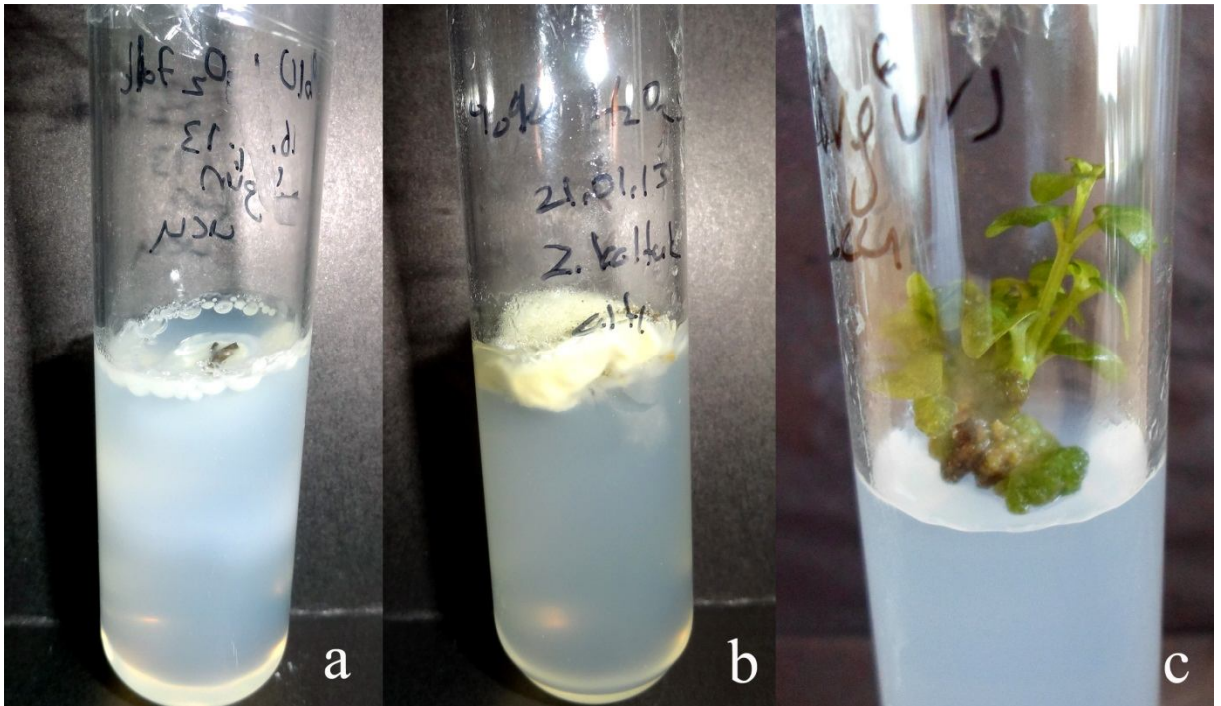
3.6. İstatistiki Analizler

Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş olup, , her muamele içerisinde 4 adet eksplantın bulunduğu 3 tekrarlı 100 x10 mm'lik petri kapları, Magenta kutuları GA7 veya cam tüplerden oluşturulmuştur. Elde edilen veriler ise SPSS 17 for Windows programı ile varyans analizine tabi tutularak, yüzde değerler, istatistik analizinden önce arcsin değerlerine çevrilmiştir (Snedecor ve Cochran; 1967).

4. SONUÇLAR

4.1. Sterilizasyon Çalışmaları

S. rivularis bitkisinin yüzey sterilizasyonu için en iyi başarımın sağlanacağı en kısa süre ve en düşük dezenfektan dozu belirlenmeye çalışılmıştır. Yüzey sterilizasyonu için bitkilere %5 ve %10 konsantrasyonlarda çamaşır suyu (Hipo) ve %10, 20 ve 30 konsantrasyonlarında da hidrojen peroksit (H_2O_2) muamele edilmiştir. Ardından 3 kez 5'er dk durulama işlemi yapılmış ve sürgün ucu, 1. ve 2. koltuk altı meristem, boğum araları ve yaprak eksplantları aktarılmıştır.



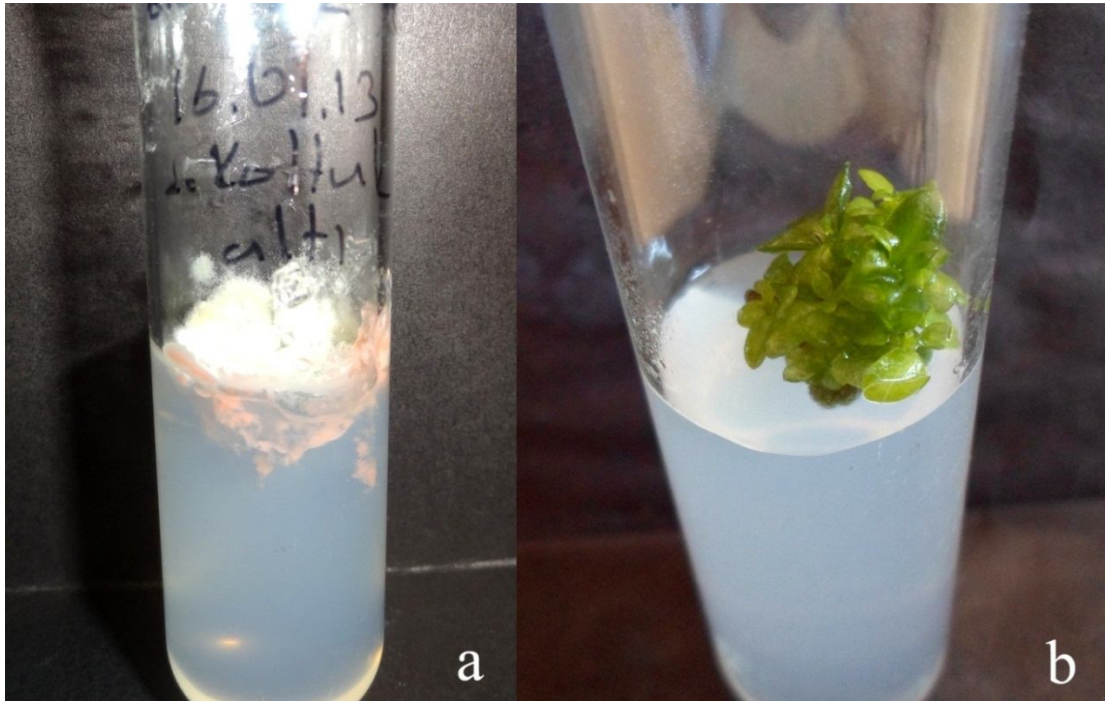
Şekil 4.1. Sterilizasyon çalışmasından elde edilen sonuçlar (a) Bakteri (b) fungal bulaşıklar ve (c) elde edilen steril bitkinin şematik görüntüsü.

Eksplantlar üzerinde 4. günde bakteriyel (Şekil 4.1.a.) ve fungal bulaşıklar (Şekil 4.1.b.) ile 15 gün sonrasında bakteriyel bulaşıklar gözlenmeye başlanmış olup bulaşık oranı (%) Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Sterilizasyonu sağlanan eksplantlardan çoğaltım çalışmaları yapılacaktır.

Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan hidrojen peroksit ve çamaşır suyunun bulaşık oranı üzerine etkisi

Kimyasal	%	Süre (dakika)	Yaprak eksplantında bulaşık oranı(%)	Sürgün ucu eksplantında bulaşık oranı (%)	1.Koltukaltı eksplantında bulaşık oranı (%)	2.Koltukaltı eksplantında bulaşık oranı (%)	Boğum arasieksplantında bulaşık oranı (%)
Hipo	5	5 dk	50	50	20	20	25
Hipo	10	5dk	40	0	0	0	0
H ₂ O ₂	10	5 dk	75	75	80	50	80
H ₂ O ₂	10	8 dk	50	50	40	40	75
H ₂ O ₂	10	10 dk	10	0	40	20	30
H ₂ O ₂	20	8 dk	0	100	30	50	20
H ₂ O ₂	30	5 dk	40	30	0	25	60
H ₂ O ₂	30	7 dk	80	70	20	10	10

Yapılan sterilizasyon çalışmalarında en iyi sonuçlar %10 oranında Hipo ile 5 dk boyunca yapılan sterilizasyon işleminden elde edilmiştir. H₂O₂ ile yapılan sterilizasyon işleminde ise en iyi sonuçları %10 oranında 10 dk sterilizasyon ile elde edilmiştir.

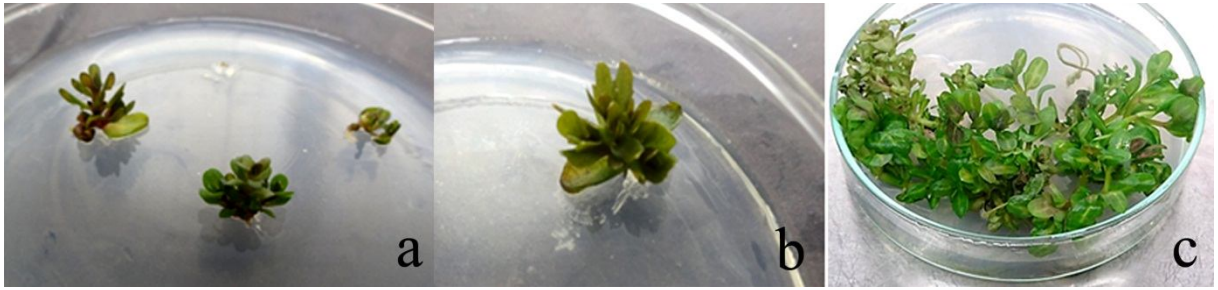


Şekil 4.2. H₂O₂ ile yapılan sterilizasyon çalışması (a) bulaşık gözlenen eksplant (b) steril elde edilen bitki üzerindeki gelişmeleri.

4.2. Farklı BAP Hormon Oranlarında Sürgün Rejenerasyon Çalışmaları

4.2.1. Katı BAP Ortamda *S. rivularis* Bitkisinin Sürgün Ucu Eksplantından Sürgün Rejenerasyon Çalışması

MS ortamında çoğaltılan bitkilerden, sürgün ucu eksplantları keserek farklı oranlardaki BAP bulunan MS ortamına kültüre alınmıştır. Kültüre alınan eksplantlarda 2 hafta sonrasında sürgün oluşumu (Şekil4.3a) gözlenmeye başlanmıştır. Dört hafta sonra çoklu sürgün oluşumları (Şekil4.3b) gözlenirken, beş hafta sonra kök oluşumu (Şekil 4.3c) da kaydedilmiştir. Yedi hafta sonra (Şekil4.3.c.) sürgün rejenerasyon oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunlukların verileri alınıp, varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4,2).



Şekil 4.3. Sürgün ucu eksplantından sürgün oluşumu (a) iki haftalık (b) dört haftalık (c) yedi haftalık gelişmiş ve çoğaltılmış sürgünler.

Çizelge 4.2. Katı ortamda farklı BAP dozlarının *S. rivularis* bitkisinin sürgün ucu eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.

VK	SD	Sürgün rejenerasyon oranı (%)		Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
BAP	5	555,55	0,72 ^{ös}	13,88	1,74*	0,21	0,63 ^{ös}
Hata	12	763,88	-	7,95	-	0,34	-
Genel Toplam	17	-	-	-	-	-	-

* $p < 0,05$ düzeyinde önemli, ^{ös} önemsiz

Çizelge 4.2. incelendiğinde, farklı BAP (sıvı) içeren ortamlarda sürgün ucu eksplantından sürgün rejenerasyonu oranı ve sürgün uzunluğu istatistiki olarak önemsiz bulunurken, eksplant başına sürgün sayısı istatistiki olarak $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Bu

farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.3.'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Katı ortamda farklı BAP dozlarının *S. rivularis* bitkisinin sürgün ucu eksplantından sürgün rejenerasyonu

BAP (mg/l)	Sürgün rejenerasyon yüzdesi ^{ös}	Eksplant başına sürgün sayısı ^{**}	Sürgün uzunluğu ^{ös}
0,05	41,66	3,40 ^b	0,72
0,10	75,00	5,80 ^{ab}	1,53
0,20	58,30	5,06 ^{ab}	1,14
0,40	66,60	9,20 ^a	1,27
0,80	62,50	5,23 ^{ab}	1,87
1,60	50,00	8,13 ^{ab}	1,11

^{**}Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark $p<0,001$ düzeyinde önemlidir.

^{ös}önemsiz

Çizelgede 4.3.'te görüldüğü üzere BAP konsantrasyonları sürgün rejenerasyonu oranı ve sürgün uzunluğu istatistiki olarak benzerlik göstermiştir. Sürgün ucu eksplant başına sürgün sayısında bir takım istatistiki farklılıklar gözlenmiştir. Sürgün rejenerasyonu %41.66-75.00 olarak kaydedilmiş ve sürgün başına eksplant sayısı 3.40-9.20 arasında değişiklik göstermiştir. Sürgün uzunluğu ise 0,72-1.87 arasında değişmiştir.

En fazla sürgün 0.40 mg/l BAP içeren ortamdan elde edilmiştir. En fazla sürgün rejenerasyon ise 0.10 mg/l BAP ortamında görülmüştür. En fazla sürgün uzunluğu ise 0.80 mg/l BAP içeren ortamından elde edilmiştir. Bütün BAP içeren oranlarda gelişen sürgünlerde beş haftanın sonunda köklenme gözlemlenmiştir.

4.2.2. Katı BAP Ortamında Farklı BAP Oranlarının *S. rivularis* Bitkisinde 1. Koltuk Altı Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu Çalışması

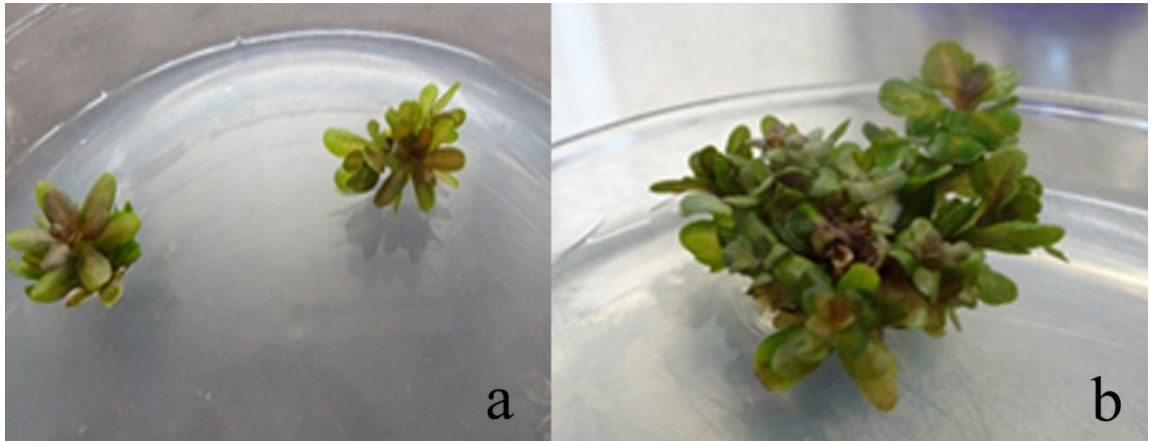
MS ortamında çoğalttığımız bitkilerin 1.koltuk altı meristem bölgelerinden eksplantlar olarak farklı oranlarda BAP içeren MS ortamına aktarılmıştır. Üç hafta sonra sürgün oluşumu (Şekil 4.4.a.) beş hafta sonra çoklu sürgünler ve kök oluşumları gözlenmiştir (Şekil 4.4.b.). Sekiz hafta sonra sürgün rejenerasyon oranı varyans analizi yapılmıştır (Çizelge 4.4.)

Çizelge 4.4. Katı ortamda farklı BAP dozlarının *S. rivularis* bitkisinin 1. Koltukaltı eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.

VK	SD	Sürgün rejenerasyon oranı (%)		Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
BAP	5	55,55	0,11 ^{ös}	28,12	5,12 ^{**}	0,15	1,36 ^{ös}
Hata	12	486,11	-	5,48	-	0,11	-
Genel Toplam	17	-	-	-	-	-	-

**p<0,001 düzeyinde önemli; *p<0,05 düzeyinde önemli, ös önemsiz

Çizelge 4.4.'e bakıldığında farklı BAP dozlarındaki ortamlarda 1. koltukaltı eksplantından sürgün rejenerasyon oranı istatistiki olarak önemsiz hesaplanırken, eksplant başına sürgün sayısı p<0.01 düzeyinde sürgün uzunluğu ise p<0.05 öneme sahip olduğu görülmüştür. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek için Duncan testi sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir (Çizelge 4.5.).



Şekil 4.4. *S. rivularis* bitkisinin BAP içeren MS ortamda 1. Koltukaltı eksplantından sürgün oluşumu (a) üç haftalık ve (b) 8 haftalık sürgün oluşumları

Çizelge 4.5. incelendiğinde sürgün rejenerasyonunda en yüksek değer %75.00 olarak 0.10 mg/l, 0.20mg/l, 0.40mg/l ve 1.60mg/l BAP'lı ortamlarda görülmüştür. Eksplant başına en fazla sürgün (12.90 adet) olarak 0.80 mg/l BAP'lı ortamda, sürgün uzunluğu olarak da en uzun 0.05 mg/l BAP'lı ortamda meydana geldiği görülmüştür. Sürgün rejenerasyonu ve sürgün uzunluğuna farklı konsantrasyonlardaki BAP hormonu benzer etkiler oluşturmuşken, eksplant başına sürgün sayısında farklı etkiler görülmüştür.

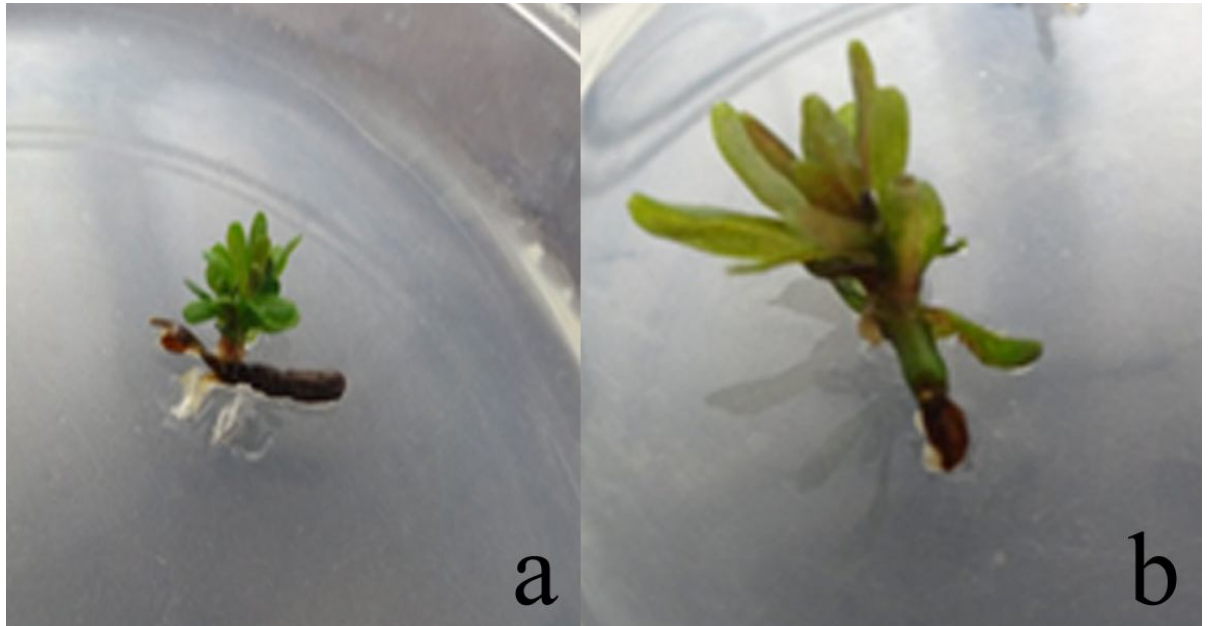
Çizelge 4.5. Katı ortamda farklı BAP oranlarının *S. rivularis* bitkisinin 1.koltukaltı eksplantından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait etkileri.

BAP (mg/l)	Sürgün rejenerasyon oranı (%) ^{ös}	Eksplant başına sürgün sayısı (adet) ^{**}	Sürgün uzunluğu (cm) ^{ös}
0,05	66,60	5,20 ^c	1,63
0,10	75,00	5,50 ^c	0,73
0,20	75,00	6,50 ^{bc}	1,10
0,40	75,00	10,58 ^{ab}	1,45
0,80	66,60	12,90 ^a	1,40
1,60	75,00	8,00 ^{bc}	1,30

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,001 düzeyinde önemlidir.
ös önemsiz

4.2.3. Katı BAP Ortamda *S.rivularis* Bitkisinin 1. Boğum Arası Eksplantından Sürgün Rejenerasyon Çalışması

S. rivularis bitkisinin eksplantlar alınarak farklı oranlardaki BAP içeren MS ortamlarına yerleştirilmiştir. Dört hafta sonra sürgün oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.5.a.). Çoklu sürgün oluşumları yedinci haftanın sonunda gözlemlenmiştir (Şekil 4.5.b.). Çoklu sürgün oluşumuyla kök oluşumu da meydana gelmiştir. Onuncu haftanın sonunda deneme sonuçlandırılarak istatistikî analizler yapılmıştır (Çizelge 4.6.).



Şekil 4.5. Boğum arası eksplantında sürgün oluşumu (a)kültüre aldıktan iki hafta sonra sürgün rejenerasyonu (b) dört hafta sonra eksplantları üzerinde sürgün rejenerasyonu

Çizelge 4.6. Katı ortamda farklı BAP dozlarının *S.rivularis* bitkisinin 1. boğum arası eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Sürgün rejenerasyon oranı (%)		Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
BAP	5	118,05	0,68 ^{ös}	57,72	103,49 ^{**}	0,60	9,74 ^{**}
Hata	12	173,61	-	0,55	-	0,06	-
Genel Toplam	17	-	-	-	-	-	-

**p<0,01 düzeyinde önemli; ös önemsiz

Verilen çizelge 4.6.'da sürgün rejenerasyonuna BAP hormon oranlarının önemsiz olduğu hesaplanan değerlerde gözlenmiştir. Ancak eksplant başına düşen sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından BAP'ın oranlarını p<0.001 düzeyinde farklı etkileri görülmüştür. Farklılığın önem düzeyi ise Duncan testi yapılarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7.).

Çizelge 4.7. Katı ortamda farklı BAP oranlarının *S. rivularis* bitkisinin 1.boğum arası eksplantından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna etkisi.

BAP (mg/l)	Sürgün rejenerasyon oranı (%) ^{ös}	Eksplant başına Sürgün sayısı (adet) ^{**}	Sürgün uzunluğu (cm) ^{**}
0,05	58,00	2,66 ^d	1,25 ^{bc}
0,10	50,00	2,90 ^d	2,00 ^a
0,20	66,60	2,90 ^d	1,63 ^{ab}
0,40	58,33	6,50 ^c	1,25 ^{bc}
0,80	66,60	12,50 ^a	0,85 ^c
1,60	58,33	10,90 ^b	0,86 ^c

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,001 düzeyinde önemlidir.

* ös önemsiz

Çizelgede (4.7.) gözlemlendiği gibi sürgün rejenerasyon oranları bakımından farklı oranda BAP içeren MS ortamların önemsiz etkileri görülmüştür. Sürgün rejenerasyonu %50-66.60 arasında değerler almıştır. En yüksek sürgün rejenerasyonu 0.20mg/l ve 0.80mg/l BAP içeren ortamdadır.

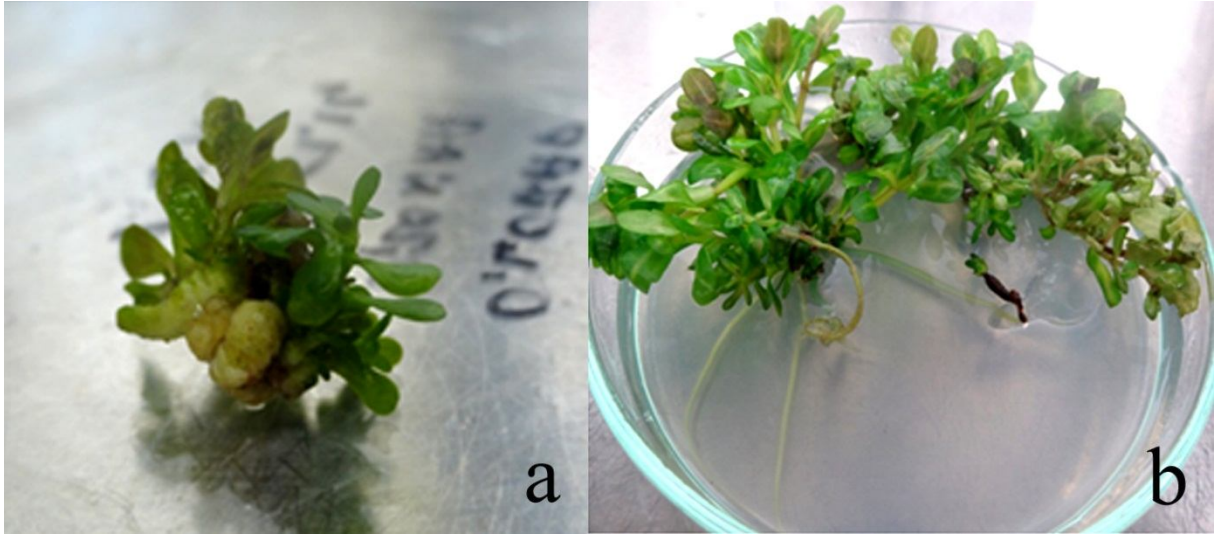
Eksplant başına sürgün sayısına farklı dozların etkisi birbirinde farklılıklar göstermektedir. Eksplant başına sürgün sayısı farklı oranlardaki BAP ortamlarında 2.66-12.50 adet olmuştur. En fazla sürgün sayısı 0.80mg/l BAP içeren ortamdan elde edilmiştir. Ortamda BAP oranının artışı ile sürgün sayısında da artış gözlenmiştir. Sürgün uzunlukları bakımından farklı

oranlardaki hormonlu BAP ortamlarda 0.85-2.00 cm arasında değişmiştir. En uzun (2.00 cm) sürgün ise 0.10 mg/l BAP içeren ortamdan elde edilmiştir,

4.3. Farklı BAP ve NAA Oranlarında Sürgün Rejenerasyonu

4.3.1. Katı BAP+NAA Ortamında *S.rivularis* Bitkisinin Sürgün Ucu Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu

MS ortamındaki bitkilerden sürgün ucu eksplantı farklı BAP hormon konsantrasyonlarında ve sabit olarak 0.20mg/l NAA eklenen MS ortamına aktararak sürgün rejenerasyonları gözlenmiştir. 10. günün sonun da sürgün ucu eksplantlarından kallus oluşumları, 15. günün sonunda oluşan kalluslardan sürgün oluşmaya başladığı gözlenmiştir. 7 hafta sonra kök oluşumları meydana gelmiştir. 8.haftanın sonunda deneme sonlandırılmıştır (Şekil 4.6.b.). Denemelerde kullanılan sürgün ucu eksplantında sürgün rejenerasyonu elde ederken kullanılan farklı BAP ve 0.20 NAA oranlarında ortaya çıkan etkiler varyans analizi tablosunda gösterilmiştir (Çizelge 4.8.).



Şekil 4.6. BAP+NAA içeren ortamda sürgün ucu eksplantında sürgün rejenerasyonu (a) dört haftalık sonra kalluslardan sürgün çıkışı (b) sekiz hafta sonra oluşan sürgünler.

Çizelge 4.8. Katı ortamda farklı BAP+0,20mg/l NAA dozlarının *S. rivularis* bitkisinin sürgün ucu eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.

VK	SD	Sürgün rejenerasyon oranı (%)		Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
BAP	5	333,33	1,20*	32,55	6,24**	0,20	6,28**
Hata	12	277,77	-	5,21	-	0,03	-
Genel Toplam	17	-	-	-	-	-	-

**p<0,01 düzeyinde önemli; *p<0,05 düzeyinde önemli,

Çizelge (4.8.)'e göre sürgün rejenerasyonuna farklı BAP oranlarının etkisi p<0,05 öneme sahiptir. Eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu ise p<0,01 öneme sahiptir. Ortaya çıkan bu farklılıkların önem dereceleri yapılan Duncan testi sonucu belirlenmiştir (Çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. Katı ortamda farklı BAP+0,20 NAA oranlarının *S. rivularis* bitkisinin sürgün ucu eksplantından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna etkisi.

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Sürgün rejenerasyon oranı (%)*	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)**	Sürgün uzunluğu (cm)**
0,05	0,20	75,00 ^a	4,33 ^c	1,39 ^a
0,10	0,20	75,00 ^a	10,41 ^a	0,83 ^b
0,20	0,20	66,66 ^{ab}	12,71 ^a	1,28 ^a
0,40	0,20	50,00 ^c	6,00 ^{bc}	1,23 ^a
0,80	0,20	58,33 ^b	9,00 ^{ab}	0,84 ^b
MS		75,00 ^a	5,20 ^{bc}	0,83 ^b

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,01 düzeyinde önemlidir.

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

Çizelgede (4.9.) verilere bakıldığında sürgün rejenerasyonu tüm BAP+NAA içeren ortamlarında %50-75 arasında değerlere rastlanmıştır. En düşük sürgün rejenerasyonu ise 0,40 mg/l BAP+0,20 mg/l NAA içeren ortamda gözlemlenmiştir. Eksplant başına sürgün sayısının yapılan analiz sonucunda farklı BAP oranlarında farklı değerler aldıkları gözlemlenmiştir. Sürgün sayısı farklı BAP-NAA hormon oranlarında 4,33-12,71 arasında değerler almıştır. En fazla 12,71 adet eksplant başına sürgün sayısı 0,20 mg/l BAP+0,20 mg/l NAA oranlarında hormon bulunduran ortamda rastlanmıştır. Sürgün uzunluğu 0,83-1,39 cm arasında kaydedilirken, en uzun sürgünler (1,39 cm) 0,05 BAP+0,20 NAA içeren ortamda görülmüştür.

Sürgün uzunluğu oranları da 0,05 mg/l BAP,0,20 mg/l BAP ve 0,40 mg/l BAP oranları arasında benzerlik ile 0,10 mg/l BAP, 0,80 mg/l BAP ve MS ortamları arasında da benzerlik göstermiştir. En iyi sürgün uzunluğu değeri 0,05 mg/l BAP oranında kaydedilmiştir.

4.3.2. Katı BAP+NAA Ortamında *S.rivularis* Bitkisinin 1.K.A. Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu

S.rivularis bitkisinin 1.K.A. eksplantları 0,05-0,80 mg/l BAP ile 0,20 mg/l NAA içeren MS ortamlara aktarılmıştır. 2 hafta sonunda kallus oluşumu (Şekil 4.7.a.), 3. haftanın sonunda sürgün oluşumları meydana gelmeye başlamıştır (Şekil 4.7.b.). 7. haftanın sonunda ise kök oluşumu da gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler ise varyans analizine tabi tutulup, sonuçlar Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Katı ortamda farklı BAP-NAA dozlarının *S.rivularis* bitkisinin 1. Koltuk altı eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.

VK	SD	Sürgün rejenerasyon oranı (%)		Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
BAP	5	138,88	0,308 ^{0s}	58,18	3,77 ^{**}	0,26	8,89 ^{**}
Hata	12	451,38	-	15,41	-	0,03	-
Genel Toplam	17	-	-	-	-	-	-

**p<0,01 düzeyinde önemli; 0s önemsiz

Çizelge 4.10'da gördüğümüz sonuçlar ise sürgün rejenerasyonuna farklı oranlardaki BAP hormonu ve 0,20 NAA hormonunun etkisi önemsiz olduğu hesaplanmıştır. Eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna hormon oranlarının etkisi ise $p<0,001$ öneme sahip olduğu gözlemlenmiştir. Meydana gelen bu farklı değerlerin önem dereceleri yapılan Duncan testi sonucunda belirlenmiştir (Çizelge 4.11.).

Çizelge 4.11. Katı ortamda farklı BAP+0,20 NAA dozlarının *S. rivularis* bitkisinin 1. Koltuk altı Eksplantından sürgün rejenerasyonu

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Sürgün rejenerasyon oranı (%) ^{ös}	Eksplant başına sürgün sayısı (adet) ^{**}	Sürgün uzunluğu (cm) ^{**}
0,05	0,20	75,00 ^a	6,24 ^b	0,79 ^a
0,10	0,20	75,00 ^a	12,27 ^{ab}	0,98 ^c
0,20	0,20	75,00 ^a	14,61 ^a	1,06 ^{bc}
0,40	0,20	75,00 ^a	6,12 ^b	1,25 ^{bc}
0,80	0,20	58,33 ^a	15,61 ^a	1,22 ^b
MS		75,00 ^a	6,78 ^b	1,65 ^b

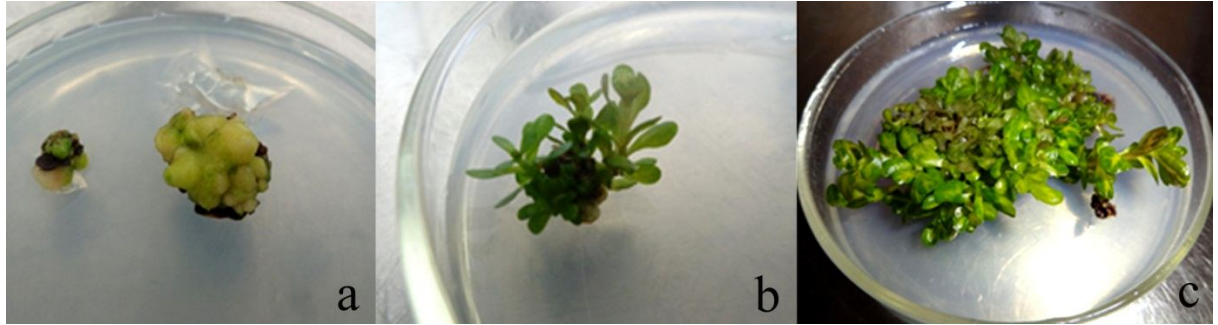
^{**}Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,01 düzeyinde önemlidir.

^{*}Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.11'e bakıldığında Duncan testi sonucu elde ettiğimiz bu verilere bakıldığında 0,80 BAP+0,20 NAA oranında hormon bulunan ortam dışındaki tüm ortamlardaki sürgün rejenerasyon oranı %75 olarak bulunmuştur.

Eksplant başına sürgün sayısına bakıldığında farklı oranlarda hormon değerlerinde 6,12-15,61 arasında değerler elde edilmiştir. En yüksek eksplant başına 15,61 adet sürgün 0,80 BAP+0,20 NAA oranında hormon içeren ortamda tespit edilmiştir.

Farklı oranlarda BAP ve 0,20 NAA içeren ortamlarda 0,79-1,65 cm uzunluğunda bitkiler elde edilmiştir. En uzun bitkilerin (1,65 cm) ise hormon içermeyen MS ortamında geliştiği gözlemlenmiştir.



Şekil 4.7. 1. Koltukaltı eksplantında BAP+NAA içeren ortamda sürgün oluşumu (a) iki haftalık kallus oluşumu (b) dört haftalık sürgünler (c) yedi haftalık sürgün oluşumları.

4.3.3. Katı BAP+NAA Ortamında *S.rivularis* Bitkisinin 2.K.A. Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu

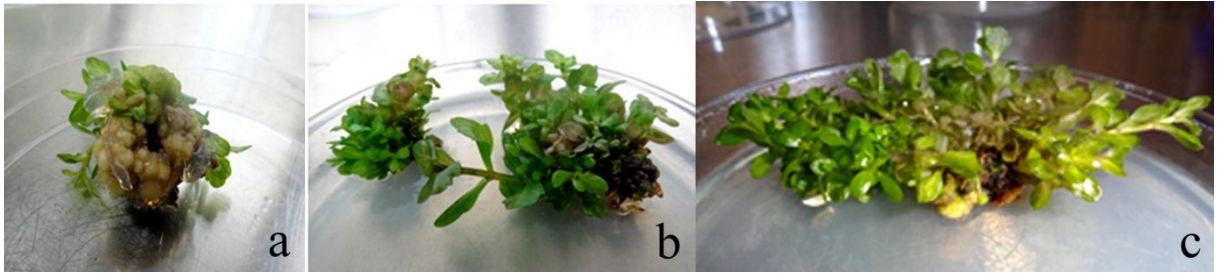
Elde edilen steril bitkilerden 2.K.A. eksplantı kesilerek alınıp farklı dozlarda BAP hormonu ile 0,20 mg/l NAA bulunan ortamlara aktarılmıştır. 2 hafta sonra kallus oluşumu 3.haftanın sonunda da sürgün oluşumları gözlenmiştir (Şekil 4.8.a-b). 7.haftanın sonunda ise kök oluşumları görülmüştür. 8.haftanın sonunda deneme sonlandırılıp (Şekil 4.8.c), sürgün rejenerasyonu elde ederken ortaya çıkan sonuçlar verilen varyans analiz tablosunda görülmektedir (Çizelge 4.12.)

Çizelge 4.12. Katı ortamda farklı BAP+0,20mg/l NAA dozlarının *S. rivularis* bitkisinin 2.K.A. eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.

VK	SD	Sürgün rejenerasyon oranı (%)		Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
BAP	5	222,22	1,28*	31,20	4,90**	0,32	3,97**
Hata	12	173,61	-	6,35	-	0,08	-
Genel Toplam	17	-	-	-	-	-	-

**p<0,01 düzeyinde önemli; *p<0,05 düzeyinde önemli,

Çizelge 4.12’te görüldüğü üzere varyans analizi sonucunda sürgün rejenerasyon sonuçları p<0,05 öneme sahipken, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu p<0,01 öneme sahip olduğu görülmektedir. Duncan testi sonucu varyans analizinde çıkan bu farklılıkların önem dereceleri belirlenmiştir (Çizelge 4.13.).



Şekil 4.8. BAP+NAA içeren ortamda 2.koltukaltı Eksplantından sürgün rejenerasyonu (a) iki haftalık sürgünler (b) dört haftalık sonuçlar (c) sekiz haftalık sürgünler.

Çizelge 4.13. Katı ortamda farklı BAP+0,20 NAA oranlarının *S. rivularis* bitkisinin 2.K.A. eksplantından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna etkisi.

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Sürgün rejenerasyon oranı (%) ^{ös}	Eksplant başına sürgün sayısı (adet) ^{**}	Sürgün uzunluğu (cm) ^{**}
0,05	0,20	75,00	8,35 ^{ab}	1,71 ^a
0,10	0,20	75,00	8,65 ^{ab}	0,87 ^b
0,20	0,20	75,00	11,8 ^a	1,05 ^b
0,40	0,20	75,00	4,99 ^b	0,88 ^b
0,80	0,20	58,33	12,50 ^a	0,91 ^b
MS		58,33	5,00 ^b	1,12 ^a

^{**}Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,01 düzeyinde önemlidir.

^{*}Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

^{ös} önemsiz

Çizelge 4.13. incelendiğinde elde edilen verilere göre sürgün rejenerasyon %58,33-75,00 arasında kaydedilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı 4,99-12,50 adet arasında farklı değerler almıştır. En iyi (12,50 adet) sonuç 0,80 mg/l BAP+0,20 mg/l NAA içeren ortamda gözlenirken, en düşük eksplant başına 4,99 adet sürgün 0,40 mg/l BAP+0,20 mg/l NAA içeren veya MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğuna bakıldığında 0,87-1,71 cm arasında değerlerde uzunluklara sahip sürgünler elde edilmiştir. En kısa (0,87cm) sürgünler 0,10 mg/l BAP+0,20 mg/l NAA içeren ortamda elde edilirken, en uzun (5,00 cm) sürgünler MS ortamda meydana gelmiştir.

4.3.4. Katı BAP+NAA Ortamında *S.rivularis* Bitkisinin 1.B.A. Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu

Sterilizasyon işleminden sonra MS ortamında çoğaltılan bitkilerden kesit olarak 1.B.A. eksplantları alınıp farklı oranlarda BAP ve 0,20 mg/l NAA içeren ortamlara aktarılmıştır. 1.B.A.eksplantında diğer eksplantlara göre daha geç kallus ve sürgün oluşumları gözlemlenmiştir. Kallus oluşumu 3. haftanın sonunda, sürgün oluşumu ise 5.haftanın sonunda gözlenmiştir(Şekil 4.9.b.).

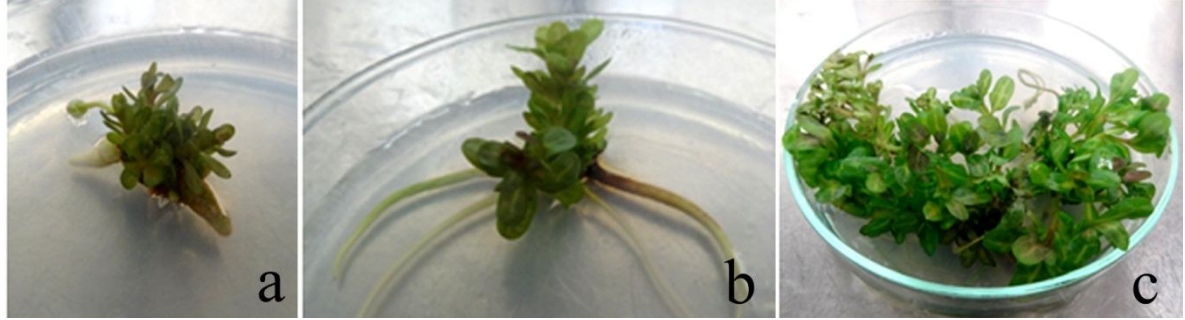
8 haftanın sonunda yaptığımız çalışmalar sonucu elde ettiğimiz sonuçların sürgün rejenerasyon oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu varyans analizi çizelgede gösterilmiştir (Çizelge 4.14.).

Çizelge 4.14. Katı ortamda farklı BAP+0,20 mg/l NAA dozlarının *S. rivularis* bitkisinin 1.B.A. eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Sürgün rejenerasyon oranı (%)		Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
BAP	5	388,88	2,24*	27,59	34,16**	0,09	7,90**
Hata	12	173,61	-	0,80	-	0,012	-
Genel Toplam	17	-	-	-	-	-	-

**p<0,01 düzeyinde önemli; *p<0,05 düzeyinde önemli,

Çizelge 4.14'te verilen varyans analizine bakıldığında sürgün rejenerasyon oranında p<0,05 öneme sahip olduğunu gözlemlenmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğunda ise p<0,01 oranında öneme sahiptir. Ortaya çıkan bu etkileşimin önem düzeyi yapılan Duncan testiyle belirlenmiştir (4.15.).



Şekil 4.9. 1.boğum arası eksplantında BAP+NAA içeren ortamda sürgün rejenerasyonu (a) üç haftalık sürgün oluşumu (b) altı haftalık sürgün oluşumu (c) sekiz haftalık sürgün oluşumu

Çizelge 4.15 Katı ortamda farklı BAP+0,20 NAA oranlarının *S. rivularis* bitkisinin 1.B.A. eksplantından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna etkisi.

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Sürgün rejenerasyon oranı (%) *	Eksplant başına sürgün sayısı (adet) **	Sürgün uzunluğu (cm) **
0,05	0,20	75,00 ^a	4,76 ^{cd}	0,83 ^b
0,10	0,20	58,33 ^b	11,37 ^a	0,86 ^b
0,20	0,20	58,33 ^b	10,57 ^a	1,11 ^a
0,40	0,20	50,00 ^a	5,84 ^c	0,83 ^b
0,80	0,20	50,00 ^b	7,53 ^b	0,66 ^b
MS		75,00 ^a	4,11 ^d	1,10 ^a

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,01 düzeyinde önemlidir.

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

Verilen çizelge 4.15.'e göre sürgün rejenerasyonu %50,00-75,00 arasında değerler almıştır. Eksplant başına sürgün sayısındaki değerler ise en düşük 4,11 MS ortamda elde edilirken, en

yüksek değer ise 11,37 0,10 mg/l BAP+0,20 mg/l NAA içeren ortamda gözlenmiştir. Sürgün uzunluğu 0,83-1,11 cm arasında değerler almış olup, en kısa (0,66 cm) sürgün 0,80 mg/l BAP+0,20mg/l NAA içeren ortamdaki elde edilirken en uzun (1,11 cm) sürgünler 0,20 mg/l BAP+0,20 NAA MS ortamdaki görülmüştür.

4.3.5. Katı BAP+NAA Ortamında *S.rivularis* Bitkisinin 2.B.A. Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu

Sterilizasyon çalışmaları sonucunda elde edilen bitkilerden 2.B.A. eksplantları kesilerek 0,05, 0,10, 0,20, 0,40 ve 0,80 mg/l oranında BAP hormonu ve 0,20 NAA içeren ortamlara aktarılmıştır. Bunun yanında kontrol olarak MS ortamı da kullanılmıştır. 2.B.A.arası eksplantında kallus oluşumu ve sürgün oluşumu diğer eksplantlarımıza göre (sürgün ucu, 1.K.A. ve 2.K.A.) daha geç oluşmuştur. Kallus oluşumu 3.haftanın sonunda gözlemlenirken sürgün oluşumu yine 5.haftada gözlemlenmiştir. 7. haftanın sonunda bütün eksplantlarımızda olduğu gibi kök oluşumuna rastlanmıştır. Sürgün rejenerasyon oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait veriler varyans analizinde tabloda gösterilmiştir (4.16.).

Çizelge 4.16. Katı ortamda farklı BAP+0,20mg/l NAA dozlarının *S. rivularis* bitkisinin 2.B.A. eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.

VK	SD	Sürgün rejenerasyon oranı (%)		Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
BAP	5	305,55	2,93**	22,18	24,20**	0,09	2,86**
Hata	12	104,16	-	0,91	-	0,03	-
Genel Toplam	17	-	-	-	-	-	-

**p<0,01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.16'ya göre varyans analizi verilerine bakıldığı zaman sürgün rejenerasyon oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu p<0,01 öneme sahiptir. Bu sonuçlara göre alınan değerlerin önem dereceleri yapılan Duncan testiyle verilen çizelgede belirlenmiştir(Çizelge 4.17.).

Çizelge 4.17. Katı ortamda farklı BAP+0,20 NAA oranlarının *S. rivularis* bitkisinin 2.B.A. eksplantından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna etkisi.

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Sürgün rejenerasyon oranı (%)**	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)**	Sürgün uzunluğu (cm)**
0,05	0,20	50,00 ^b	5,76 ^{bc}	1,15 ^a
0,10	0,20	66,66 ^{ab}	7,04 ^b	1,02 ^a
0,20	0,20	50,00 ^b	11,93 ^a	1,04 ^a
0,40	0,20	66,66 ^{ab}	5,03 ^c	0,69 ^b
0,80	0,20	75,00 ^a	5,76 ^{bc}	0,87 ^{ab}
MS		58,33 ^{ab}	4,48 ^c	1,13 ^a

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark $p<0,01$ düzeyinde önemlidir.

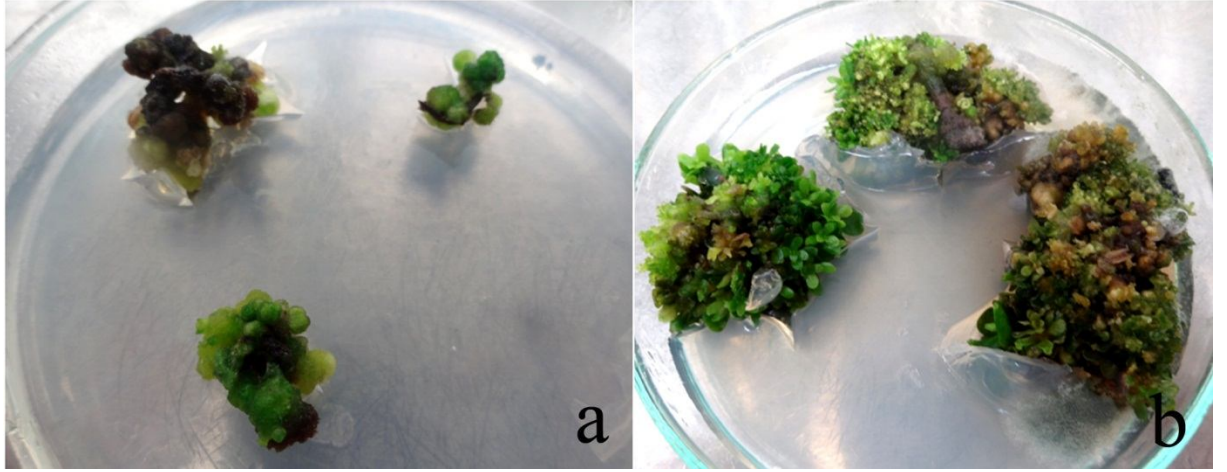
*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark $p<0,05$ düzeyinde önemlidir.

Çzeşge 4.17'ye bakıldığında Duncan testi sonucunda sürgün rejenerasyon %50,00-75,00 arasında değerler almaktadır. En iyi sonuç 0,80 mg/l BAP+0,20 mg/l NAA bulunan ortamda gözlenmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı 4,48-11,93 adet arasındadır. En fazla eksplant başına sürgün 0,20 mg/l BAP+0,20 mg/l NAA içeren ortamda bulunurken, en düşük 4.48 adet MS ortamdanda elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu değerleri de farklılık gösterirken, 0,69-1,15 cm uzunluğunda sürgünler elde edilmiştir. En uzun (1,15 cm) sürgünler 0,05 mg/l BAP+0,20 mg/l NAA oranında hormon bulunan ortamda görülmektedir. Buna karşı en kısa (0,69 cm) sürgünler 0,40 mg/l BAP+0,20 mg/l NAA ortamdanda elde edilmiştir.

4.4. Farklı TDZ Oranlarında Sürgün Rejenerasyonu

4.4.1. Katı TDZ Ortamda *S.rivularis* Bitkisinin Yaprak Eksplantından Sürgün Rejenerasyon Çalışması

Steril bitkilerden yaprak eksplantları kesilerek farklı oranlarda TDZ (0,05-0,80 mg/l) hormonu içeren ortamlara aktarılmıştır. 2.haftanın sonunda kallus oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.10.a.). Bunun için MS ortamı ile 0,25 GA3 ve 0,50 GA3 bulunan ortamlara alınmıştır. Bu ortamlara aktarımdanda bir hafta sonra eksplantlarda sürgün gelişimleri gözlenmeye başlamıştır. Sonraki 5. haftanın sonunda kök oluşumu da gözlenmiştir. 9 haftanın sonunda sürgün rejenerasyon oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verileri alınarak varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.18.).



Şekil 4.10. TDZ içeren ortamda sürgün oluşumları (a) iki haftalık sürgünler (b) dokuz hafta sonra kalluslardan sürgün gelişimi.

Çizelge 4.18. Katı ortamda farklı TDZ dozlarının *S.rivularis* bitkisinin yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
BAP	5	430,556	0,92 ^{ös}	76,581	66,592**	0,247	16,725**
Hata	12	472,222	-	1,150	-	0,015	-
Genel Toplam	17	-	-	-	-	-	-

**p<0,01 düzeyinde öneml

Çizelge 4.18.'de görüldüğü üzere sürgün rejenerasyon oranı önemsiz bulunurken, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu $p<0,01$ oranında öneme sahiptir. Oluşan bu farklıların önem düzeyi yapılan Duncan testi sonucu ortaya konulmuştur (Çizelge 4.19.)

Çizelge 4.19.'a bakıldığında sürgün rejenerasyon oranı %50-75 arasında kaydedilmiştir. Tüm MS ortamlarda 0,25 veya 0,50 mg/l GA3 içeren ortamlara göre daha az sürgün rejenerasyonu kaydedilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı bakıldığında 8,60-27,30 adet arasında elde edilmiştir. En düşük 8,60 adet eksplant başına sürgün 0,10 mg/l TDZ içeren ortamdan alınarak 0,50 mg/l GA3 içeren ortamlara aktarılarak görülmüştür. Buna karşı, en yüksek eksplant başına sürgün ise 0,05 mg/l TDZ içeren ortamdan sonra 0,50 mg/l GA3 içeren ortamdan elde edilmiştir. Genel olarak her hangi TDZ ortamından alınan eksplantlar daha sonra MS ve 0,50 mg/l 0 GA3 içeren ortamda daha yüksek miktarda sürgünler elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu bakıldığında 0,95 ile 1,99 cm arasında kaydedilirken en uzun sürgünler önce 0,05 mg/l TDZ va

daha sonra 0,50 mg/l GA₃ içeren ortamda görülmüştür. Buna karşı en kısa sürgünler, ilk olarak 0,80 mg/l TDZ ve ardından 0,50 mg/l GA₃ içeren ortamdan elde edilmiştir. Genel olarak, en uzun sürgünler 0,05 mg/l TDZ ortamdan MS veya GA₃ içeren ortamlara aktarıldığında elde edilmiştir.

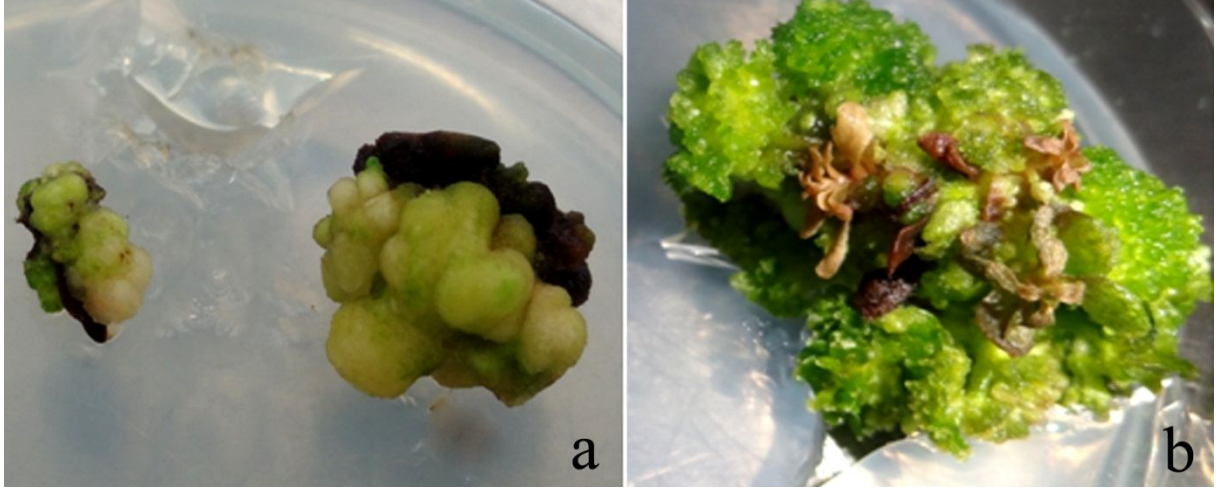
Çizelge 4.19.. Katı ortamda farklı TDZ dozlarının *S. rivularis* bitkisinin yaprak eksplantından sürgün rejenrasyonuna etkisi.

Ortam	Alt kültür	Rejenrasyon oranı (%) ^{ös}	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet) ^{**}	Sürgün uzunluğu (cm) ^{**}
0.05 TDZ	MS ortamı	50,00	20,50 ^b	1,47 ^{cd}
	0.25 mg/l GA ₃	50,00	15,00 ^d	1,70 ^b
	0.50 mg/l GA ₃	75,00	27,30 ^a	1,99 ^a
0.10 TDZ	MS ortamı	50,00	17,40 ^c	1,32 ^{def}
	0.25 mg/l GA ₃	75,00	13,30 ^d	1,21 ^{efg}
	0.50 mg/l GA ₃	75,00	8,60 ^e	1,10 ^{fgh}
0.20 TDZ	MS ortamı	50,00	14,60 ^d	1,40 ^{cde}
	0.25 mg/l GA ₃	75,00	13,40 ^d	1,60 ^{bc}
	0.50 mg/l GA ₃	66,60	15,20 ^d	1,50 ^{bcd}
0.40 TDZ	MS ortamı	50,00	21,00 ^b	1,32 ^{def}
	0.25 mg/l GA ₃	75,00	18,30 ^c	0,99 ^{gh}
	0,50 mg/l GA ₃	75,00	17,40 ^c	1,21 ^{efg}
0.80 TDZ	MS ortamı	75,00	20,60 ^b	1,05 ^{gh}
	0.25 mg/l GA ₃	75,00	13,60 ^d	1,14 ^{fgh}
	0,50 mg/l GA ₃	75,00	26,50 ^a	0,95 ^h

** Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,01 düzeyinde önemlidir.
ös önemsiz

4.4.2. Katı TDZ Ortamda *S.rivularis* Bitkisinin Sürgün Ucu Eksplantından Sürgün Rejenrasyon Çalışması

S.rivularis bitkisinden sürgün ucu eksplantları alınarak 0,05-0,80 TDZ hormonu içeren ortamlara yerleştirilmiştir. 2 haftanın sonunda kallus oluşumlarına rastlanmıştır (Şekil 4.11.a.). Sonrasında kalluslar da sürgün oluşumu gözlenemediği için MS, 0,25 GA₃ ve 0,50 GA₃ bulunan ortamlara aktarılmıştır. Aktarımdan 1 hafta sonra sürgün gelişimleri meydana gelmiştir (Şekil 4.11.b.). 4. Haftanın sonunda ise kök oluşumu gerçekleşmiştir. 8 haftanın sonunda deneme sonlandırılarak sürgün rejenrasyon oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verileri alınarak varyans analizi uygulanmıştır (Çizelge 4.20.).



Şekil 4.11. Sürgün ucu eksplantından TDZ içeren ortamlarda sürgün rejenerasyonu (a) kallus oluşumu (b) oluşan kalluslar MS, 0,25 ve 0,50 GA₃ ortamlarına aktarıldıktan sonra sürgün gelişimi.

Çizelge 4.20. Katı ortamda farklı TDZ dozlarının *S.rivularis* bitkisinin sürgün ucu eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.

VK	SD	Sürgün rejenerasyon oranı (%)		Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
TDZ	14	928,57	4,46**	188,60	80,50**	0,101	51,45**
Hata	30	208,33	-	2,34	-	0,002	-
Genel Toplam	44	-	-	-	-	-	-

**p<0,01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.20. incelendiğinde yapılan analiz sonucu elde ettiğimiz çizelge de sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu $p<0,01$ oranında öneme sahip oldukları görülmüştür. Görülen farklı değişimlerin önem düzeylerini yapılan Duncan testi sonucu belirlenmiştir (Çizelge 4.21.).

Çizelge 4.21. incelendiğinde %50-100 arasında sürgün rejenerasyonu görülmüştür. Tüm hormon oranlarında en yüksek rejenerasyon 0,50 mg/l GA₃ içeren ortamda gözlenmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı yine tüm oranlara baktığımızda en iyi sonucun (24,5-44,5 adet) 0,50 mg/l GA₃ içeren ortamda meydana geldiği kaydedilmiştir. En iyi sürgün uzunluğu 0,20 mg/l TDZ hormonlu 0,25 mg/l GA₃ içeren ortamda görülmüştür. En kısa sürgünler 0,80 mg/l TDZ hormonlu 0,25 GA₃ içeren ortamdan elde edilmiştir.

Çizelge 4.21. Katı ortamda farklı TDZ dozlarının *S. rivularis* bitkisinin sürgün ucu eksplantından sürgün rejenrasyonuna etkisi.

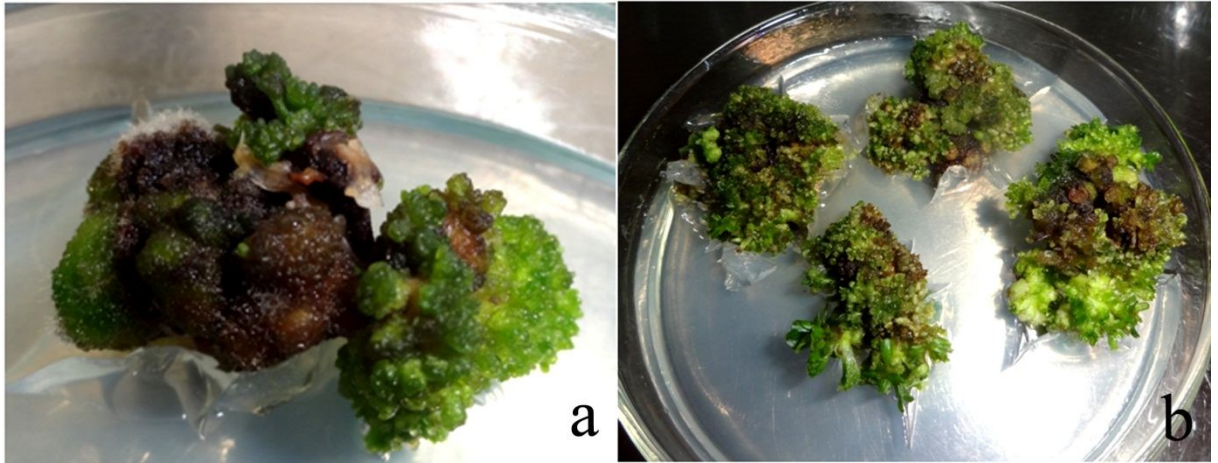
Ortam	Alt Kültür	Sürgün rejenrasyon oranı (%)**	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)**	Sürgün uzunluğu (cm)**
0.05 TDZ	MS ortamı	50,00 ^b	16,50 ^{efg}	1,03 ^{gh}
	0.25 mg/l GA ₃	75,00 ^{ab}	17,20 ^{efg}	1,13 ^{def}
	0.50 mg/l GA ₃	100,00 ^a	28,50 ^b	1,48 ^{ab}
0.10 TDZ	MS ortamı	75,00 ^{ab}	14,50 ^g	1,47 ^{ab}
	0.25 mg/l GA ₃	50,00 ^b	15,00 ^g	1,09 ^{efg}
	0.50 mg/l GA ₃	100,00 ^a	44,50 ^a	1,10 ^{defg}
0.20 TDZ	MS ortamı	75,00 ^{ab}	14,60 ^g	1,14 ^{de}
	0.25 mg/l GA ₃	75,00 ^{ab}	16,40 ^{fg}	1,52 ^a
	0.50 mg/l GA ₃	75,00 ^{ab}	26,00 ^{bc}	1,14 ^{de}
0.40 TDZ	MS ortamı	75,00 ^{ab}	14,60 ^g	1,18 ^d
	0.25 mg/l GA ₃	100,00 ^a	23,75 ^c	1,32 ^c
	0.50 mg/l GA ₃	100,00 ^a	24,50 ^c	1,05 ^{fg}
0.80 TDZ	MS ortamı	75,00 ^{ab}	20,50 ^d	1,41 ^b
	0.25 mg/l GA ₃	100,00 ^a	19,25 ^{de}	0,96 ^h
	0.50 mg/l GA ₃	100,00 ^a	18,25 ^{def}	1,07 ^{efg}

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,01 düzeyinde önemlidir.

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

4.4.3. Katı TDZ Ortamda *S.rivularis* Bitkisinin 1. K.A. Eksplantından Sürgün Rejenrasyon Çalışması

Elde ettiğimiz steril bitkilerden 1.K.A. eksplantı alınarak içerisinde farklı oranlarda (0,05-0,80) TDZ hormonu bulunan ortamlara aktarılmıştır. Kallus oluşumları 2 hafta sonra gözlenmeye başlanmıştır (Şekil 4.12.a.). Diğer eksplantlarda yapılan çalışmalarda olduğu gibi yine sürgün gelişimi gözlenememiş ve MS, 0,25 GA₃ VE 0,50 GA₃ bulunan ortamlara aktarılmıştır. 1 hafta sonrasında sürgün gelişimleri meydana gelmeye başlamıştır (Şekil 4.12.b.). 3 hafta sonrasında kök oluşumları gözlenmiştir. Deneme 8 haftanın sonunda bitirilerek sürgün Rejenrasyon oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verileri hesaplanarak varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.22.).



Şekil 4.12. 1.koltukaltı eksplantından TDZ içeren ortamlarda sürgün oluşumları (a) kallus oluşumları (b) kalluslardan sürgün gelişimi.

Çizelge 4.22. Katı ortamda farklı TDZ dozlarının *S.rivularis* bitkisinin 1.Koltukaltı eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.

VK	SD	Sürgün rejenerasyon oranı (%)		Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
TDZ	14	589,286	1,788**	201,359	68,929**	0,205	14,028**
Hata	30	333,333	-	2,921	-	0,015	-
Genel Toplam	44	-	-	-	-	-	-

**p<0,01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.22. incelendiğinde sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu $p<0,01$ oranında öneme sahip oldukları görülmüştür. Meydana gelen farklı değişimlerin önem düzeylerini yapılan Duncan testi sonucu belirlenmiştir (Çizelge 4.23.).

Çizelge 4.23.'e bakıldığında sürgün rejenerasyonu %50-100 arasında değerler aldığı görülmüştür. Tüm oranlara bakıldığında en iyi sürgün rejenerasyon değerlerine 0,50 GA₃ bulunan ortamlarda gözlenmiştir. Eksplant başına sürgün sayısına bakıldığında 9,50-39,25 adet arasında değerlere rastlanmıştır. En iyi eksplant başına sürgün sayısı 0,10 mg/l oranında TDZ bulunan ortamda ve 0,50 GA₃ içeren ortamda görülmüştür. Sürgün uzunluğu değerleri ise 0,57-1,68 cm) arasında değerler almıştır. 0,05 TDZ hormonu ve 0,50 GA₃ içeren ortamda en iyi sürgün uzunluğu (1,68) elde edilmiştir.

Çizelge 4.23. Katı ortamda farklı TDZ dozlarının *S. rivularis* bitkisinin 1.Koltukaltı eksplantından sürgün rejenrasyonuna etkisi.

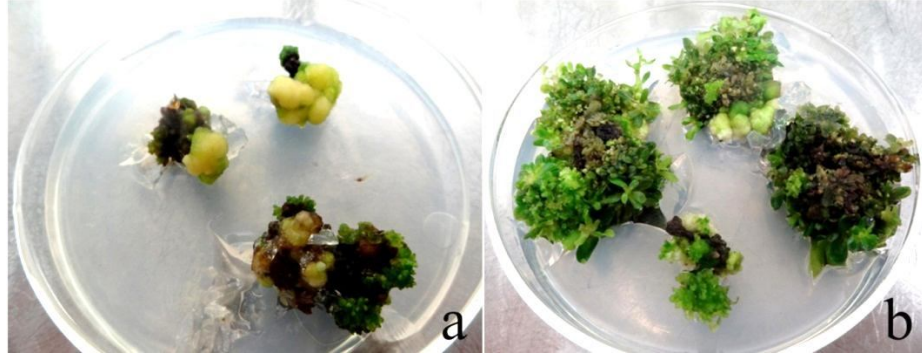
Ortam	Alt kültür	Rejenerasyon oranı (%)**	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)**	Sürgün uzunluğu (cm)**
0.05 TDZ	MS ortamı	75,00 ^{ab}	18,50 ^{fg}	1,25 ^{def}
	0.25 mg/l GA ₃	50,00 ^b	21,00 ^{ef}	0,57 ^g
	0.50 mg/l GA ₃	75,00 ^{ab}	29,00 ^{cd}	1,68 ^a
0.10 TDZ	MS ortamı	75,00 ^{ab}	14,30 ^h	1,30 ^{cdef}
	0.25 mg/l GA ₃	75,00 ^{ab}	26,40 ^d	1,43 ^{bcd}
	0.50 mg/l GA ₃	100,00 ^a	39,25 ^a	1,50 ^{abc}
0.20 TDZ	MS ortamı	75,00 ^{ab}	14,25 ^h	1,63 ^{ab}
	0.25 mg/l GA ₃	75,00 ^{ab}	9,50 ⁱ	1,39 ^{cd}
	0.50 mg/l GA ₃	75,00 ^{ab}	15,47 ^{gh}	1,35 ^{cde}
0.40 TDZ	MS ortamı	75,00 ^{ab}	22,00 ^e	1,15 ^{ef}
	0.25 mg/l GA ₃	100,00 ^a	17,00 ^{gh}	1,45 ^{bcd}
	0.50 mg/l GA ₃	100,00 ^a	23,205 ^e	1,27 ^{cdef}
0.80 TDZ	MS ortamı	75,00 ^{ab}	30,50 ^{b^c}	1,24 ^{def}
	0.25 mg/l GA ₃	75,00 ^{ab}	33,00 ^b	1,40 ^{cd}
	0.50 mg/l GA ₃	100,00 ^a	17,25 ^{gh}	1,10 ^f

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,01 düzeyinde önemlidir.

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

4.4.4. Katı TDZ Ortamda *S.rivularis* Bitkisinin 2.K.A. Eksplantından Sürgün Rejenerasyon Çalışması

2.K.A. eksplantları bitkilerden kesilerek alınıp 0,05-0,80 TDZ hormonu içeren ortamlara yerleştirilmiştir. Kallus oluşumları 2 haftanı sonunda gözlenmeye başlamıştır (Şekil 4.13.a.). Kalluslarda sürgün gelişimi gözlenmeyince MS, 0,25 GA₃ ve 0,50 GA₃ bulunan ortamlarda gelişimleri izlenmiştir. 2 hafta sonra sürgün gelişimleri gözlenmiştir (Şekil 4.13.b.). 4 haftanın sonunda bitkiler kök oluşumları meydana gelmiştir. 8 haftanın sonunda deneme sonlandırılarak sürgün rejenerasyon oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.24.).



Şekil 4.13. TDZ içeren besin ortamlarında sürgün oluşumları (a) kallus oluşumu (b) oluşan kallusların MS, 0,25 ve 0,50 GA₃ içeren ortamlara aktarıldıktan sonra sürgün gelişimleri.

Çizelge 4.24. Katı ortamda farklı TDZ dozlarının *S.rivularis* bitkisinin 2.Koltukaltı eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.

VK	SD	Sürgün rejenerasyon oranı (%)		Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
TDZ	14	500,00	2,00**	283,170	281,512**	0,212	22,146**
Hata	30	250,00	-	1,006	-	0,010	-
Genel Toplam	44	-	-	-	-	-	-

**p<0,01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.24.'e göre sürgün Rejenerasyon oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu $p<0,01$ oranında öneme sahip olduğu görülmüştür. Meydana gelen değişimlerin önem düzeyleri yapılan Duncan testi ile ortaya konmuştur (Çizelge 4.25.)

Çizelge 4.25. Katı ortamda farklı TDZ dozlarının *S. rivularis* bitkisinin 2.Koltukaltı eksplantından sürgün rejenerasyonuna etkisi.

Ortam	Alt kültür	Rejenerasyon oranı (%) ^{**}	Eksplant başına sürgün sayısı (adet) ^{**}	Sürgün uzunluğu (cm) ^{**}
0.05 TDZ	MS ortamı	75,00 ^b	25,25 ^d	1,83 ^a
	0.25 mg/l GA ₃	100,00 ^a	16,00 ^g	1,34 ^{ab}
	0.50 mg/l GA ₃	100,00 ^a	39,16 ^b	1,76 ^a
0.10 TDZ	MS ortamı	75,00 ^b	18,00 ^f	1,43 ^b
	0.25 mg/l GA ₃	100,00 ^a	26,25 ^d	1,33 ^{bc}
	0.50 mg/l GA ₃	100,00 ^a	38,50 ^c	1,30 ^{bcd}
0.20 TDZ	MS ortamı	75,00 ^b	20,30 ^e	1,08 ^{ef}
	0.25 mg/l GA ₃	75,00 ^b	16,60 ^{fg}	1,04 ^{ef}
	0.50 mg/l GA ₃	75,00 ^b	22,00 ^e	0,86 ^g
0.40 TDZ	MS ortamı	75,00 ^b	21,30 ^e	1,30 ^{bcd}
	0.25 mg/l GA ₃	100,00 ^a	24,75 ^d	1,21 ^{cde}
	0.50 mg/l GA ₃	100,00 ^a	20,75 ^e	1,12 ^{def}
0.80 TDZ	MS ortamı	75,00 ^b	49,60 ^a	0,96 ^{fg}
	0.25 mg/l GA ₃	100,00 ^a	30,75 ^c	1,12 ^{def}
	0.50 mg/l GA ₃	100,00 ^a	18,25 ^f	1,30 ^{bcd}

^{**}Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,01 düzeyinde önemlidir.

^{*}Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.25.'e bakıldığında sürgün rejenerasyon oranı %75-100 arasında gözlenmiştir. En iyi rejenerasyon 0,25 GA₃ ve 0,50 GA₃ ortamlarında görülmüştür. Eksplant başına sürgün sayısı 16,60-49,60 adet arasında gözlenmiştir. En fazla sürgün sayısı bütün hormon oranlarında 0,50 GA₃ içeren ortamda görülmüştür. Sürgün uzunluğu 0,86-1,83 cm arasında değerler almıştır. En uzun sürgün MS ortamlarından elde edilmiştir.

4.5. Büyüme ve Gelişme İçin En Uygun Ph'ın Belirlenmesi

İn vitro koşullarda çoğaltılan bitkiler, yaşamları için en uygun pH ortamını belirlemek amacıyla boyları ölçülüp boğum araları sayıldıktan sonra distile su 4,00 5,00 6,00 7,00 8,00 9,00 ve 10,00 pH olarak ayarlandıktan sonra içerisinde akvaryum kumu yerleştirilmiş kavanozlara aktarılmıştır. Her kavanoza rastgele seçilen 4'er bitki yerleştirilmiştir. Kavanozlardaki bitkiler 4 hafta boyunca bekletilmiştir. Deneme sonlandırılıp bitkilerin boy uzunluğu ve boğum araları sayılıp en uygun pH değeri tespit edilmiştir.

Çizelge 4.26. Farklı pH'lar da su içeren cam kavanozlarda bitkilerin dört hafta sonunda boyunda ve boğum arası sayılarının artışı.

pH	Uzunluk (cm)	3 Hafta sonraki uzunluğu (cm)	Fark (%100)	Boğum arası sayıları	3 Hafta sonraki sayıları	Fark (%100)
4,00	6,20	11,30	82,25	8,00	13,50	68,75
5,00	6,50	9,50	46,15	7,50	11,25	50,00
6,00	6,10	12,30	100,00	8,25	12,75	54,54
7,00	5,80	13,25	128,44	10,6	16,25	56,50
8,00	5,70	8,25	44,73	6,25	10,50	68,00
9,00	6,30	7,75	23,01	8,30	9,50	14,45
10,00	5,60	7,00	35,65	7,30	7,50	2,74

Çizelge 4.26'ya bakıldığında dört hafta sonunda bitkilerin farklı pH değerlerinde boy uzunlukları ve boğum arası sayılarında artış olduğu gözlenmiştir. Boy uzunluğu en fazla %128,44 olarak pH'sı 7,00 olan kavanozdaki bitkilerde görülmüştür. En az büyüme pH 9,00'da gözlenmiştir. En fazla boğum arası sayısı %68,75 olarak pH 4.00'de görülmüştür. En az boğum arası sayısı ise pH 10,00'da gözlenmiştir.



Şekil. 4.14. pH 7.00 da gelişim gösteren bitkiler.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Akvaryum bitkisi olan *S. rivularis*'in çoğaltımı için yapılan doku kültürü çalışmalarında, bitkinin farklı eksplantları (sürgün ucu, 1. koltukaltı, 2. koltukaltı 1. boğum arası, 2. boğum arası ve yaprak) kullanılmıştır. Bu eksplantları farklı oranlarda BAP, NAA ve TDZ içeren ortamlara aktarılmıştır.

In vitro koşullarda sürgün oluşumu için bitkilerin mantar, bakteri ve benzeri organizmalardan eksplantların yüzeysel olarak uzaklaştırılması gerekmektedir. Bunun için yapılan çalışmalarda farklı oranlarda H₂O₂ ve çamaşır suyu kullanılmıştır. %10, 20, 30 oranında H₂O₂ oranlarında 5,7,8 ve 10 dk sterilizasyon gerçekleştirilmiştir. %5 ve 10 oranlarında ise çamaşır suyu 5'er dk uygulanmıştır. Sonuç olarak en iyi sonuçlar %10 oranında Hipo ile 5 dk boyunca yapılan sterilizasyon işleminden elde edilmiştir. H₂O₂ ile yapılan sterilizasyon işleminde %10 oranında 10 dk yapılan çalışmadan elde edilmiştir.

Farklı oranlarda BAP hormon denemelerinde sürgün ucu eksplantında en fazla (%75) sürgün rejenerasyonu 0,10 mg/l BAP içeren ortamdan elde edilmiştir. Dandin ve Murthy (2012) ise 1 µM BAP'lı ortamda maksimum sürgün rejenerasyonunu %83 olarak kaydetmişlerdir. *S. rivularis* bitkisinin sürgün ucu eksplantında farklı BAP oranlarında sürgün uzunluğu 1,87 cm olarak 0,80 mg/l BAP içeren ortamda tespit edilmiştir. 1.koltukaltı eksplantında farklı BAP oranlarına bakıldığında en yüksek sürgün rejenerasyonu %75 olarak hesaplanmıştır. *L.repens* ile çalışma yapan Öztürk (2002), 0,10, 0,20 ve 0,30 mg/l BAP ve 0,10 mg/l NAA içeren ortamlarda sürgün sayısını sırasıyla; 3,69, 4,75 ve 5,36 adet olarak bildirmiştir. Bu tez kapsamında eksplant başına en fazla sürgün sayısı 12,90 adet olarak 0,80 mg/l BAP içeren ortamdan elde edilmiştir. En uzun sürgün 0,05 mg/l BAP içeren ortamda 1,63 cm olduğu gözlenmiştir. Adventif sürgün olarak 1.boğum arasıyla yapılan çalışmada sürgün rejenerasyonu en yüksek %66,60 oranında elde edilmiştir. Çalışmamızda eksplant başına en fazla sürgün sayısı 0,80 mg/l BAP içeren ortamda 12,50 adet sürgün elde ederek kaydedilmiştir. Tüm oranlar arasında kıyaslayınca 2,66-12,50 arasında değişen değerlere rastlanmaktadır. En uzun sürgün 1,63 cm uzunluğunda 0,20 mg/l BAP içeren ortamdan elde edilmiştir.

Farklı oranlarda BAP ve 0,20 mg/l NAA içeren ortamlarda sürgün ucu, 1.koltukaltı, 2.koltukaltı, 1,boğum arası ve 2.boğum arası eksplantlarıyla çalışmalar yapılmıştır. Sürgün

ucu, 1. koltukaltı ve 2.koltukaltı eksplantlarında sürgün rejenerasyonu %75 olarak gözlenmiştir. Şumlu (2009), *Rotala macandra*'nın birinci ve ikinci nodal eksplantlarının olduğu sıvı MS ortamında sürgün rejenerasyonun olmadığını görmüş, 0,25 mg/L BAP+0,50 mg/L NAA ve 0,50 mg/L BAP+0,50 mg/L NAA içeren katı MS ortamlarında 4 hafta sonra sürgün oluşumları elde etmiştir. Bu tez çalışmada sürgün ucu eksplantında en fazla sürgün sayısı 0,20 mg/l BAP ve 0,20 mg/l NAA ortamından elde edilmiştir. 0,80 mg/l BAP ve 0,20 mg/l NAA içeren ortamda 1.koltukaltı ve 2.koltukaltıeksplantlarından en fazla sürgün elde edilmiştir. . Karatas ve ark. (2013b), *B. monnieri* bitkisinin farklı boğum arası ve yaprak eksplantı ile yaptığı çoğaltım çalışmasında BAP-NAA içeren ortamda %100 sürgün rejenerasyonu gözlemlendiği bildirilmiştir. 1. ve 2. boğum arası eksplantlarının farklı BAP ve 0,20 mg/l NAA içeren ortamda yapılan çalışmalar kıyaslandığında en yüksek %75 sürgün rejenerasyon oranı tespit edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayıları ise sırasıyla en fazla 11,37 ve 11,93 adet olarak tespit edilmiştir. En uzun sürgünler 1.boğum arası eksplantı kullanılarak 0,20 mg/l BAP+0,20 mg/l NAA içeren ortama 1,11 cm olarak, 2.boğum arası eksplantında 0,05 mg/l BAP+0,20 mg/l NAA içeren ortamda 1,15 cm olarak belirlenmiştir. Karataş ve ark. (2013)'da *B. monnieri* bitkisinin boğum arası ve yaprak eksplantları kullanarak BAP-NAA içeren ortamlarda kallus oluşumunu rapor etmişlerdir.

Yaprak, sürgün ucu, 1.koltukaltı ve 2.koltukaltı eksplantları kullanılarak farklı oranlarda TDZ (0,05, 0,10, 0,20, 0,40 ve 0,80 mg/l) kullanılarak çalışmalar yapılmıştır. Ancak TDZ ortamlarına aktarılan eksplantlarda kallus oluşumları gözlenmiş olup, kalluslarda sürgün gelişimi görülmemiştir. Bunun üzerine oluşan kalluslar MS, 0,25 ve 0,50 mg/l GA₃ içeren ortamlara aktarılmıştır. Yaprak eksplantında en iyi sürgün rejenerasyon yüzdesi %75 oranında görülmüştür. En fazla eksplant başına sürgün sayısı (27,30 adet) 0,05 TDZ hormonu içindeki bitkilerden 0,50 GA₃ bulunan ortamdan elde edilmiştir. Yaprak eksplantıyla yapılan çalışmada en uzun sürgünler (1,99 cm) 0,05 TDZ hormonunda 0,50 GA₃ içeren ortamlarda gözlenmiştir. Akvaryum bitkilerin adventif sürgün rejenerasyonu için *Nymphaea* (Jenks ve ark., 1990), *H. auriculata* (Panigrahi ve ark., 2006), *R. macaranda* (Şumlu, 2009) ve *B. monnieri* (Karataş ve ark., 2013) bitkilerinden alınan yaprak eksplantları başarıyla kullanılmıştır. Sürgün ucu eksplantıyla TDZ hormonunda yapılan denemelerde sürgün rejenerasyon %100'e ulaşmıştır. Eksplant başına sürgün sayısı 0,10 TDZ içeren hormon ortamından 0,50 GA₃ ortamına aktarılan bitkilerde en fazla (44,5 adet) sürgün elde edilmiştir. En uzun sürgünler ise 0,20 TDZ içeren ortamdan 0,25 GA₃ içeren ortama aktarılan bitkilerde görülmüştür. Doğan (2013),

in vitro sürgün rejenerasyonu için *C. demersum*'un sürgün ucu, birinci ve ikinci koltukaltı meristem eksplantlarını 0,10, 0,20, 0,40 ve 0,80 mg/L TDZ, 0,10 mg/L IBA ve 0,10 mg/L GA₃ kombinasyonlarını içeren MS besi ortamında sekiz hafta boyunca kültürde bırakılmıştır. 1. ve 2.koltukaltı eksplantıyla yapılan çalışmalarda en yüksek sürgün rejenersyonu %100'dür. Eksplant başına oluşan sürgün sayısı sırasıyla 0,10 mg/l TDZ hormonundan 0,50 GA₃ aktarılan bitkilerde 39,25 adet, 0,80 mg/l TDZ hormonundan MS besi ortamına aktarılan bitkilerde 49,60 adet şeklinde olduğu görülmüştür. 1.koltukaltı eksplantında en uzun sürgün 1,63 cm olarak 0,20 mg/l TDZ bulunan ortamdan MS besi ortamına alınan bitkilerde gözlenmiştir. 2.koltukaltı eksplantı sürgün uzunluğu en iyi (1,83 cm) 0,05 mg/l TDZ bulunan ortamdan MS ortamına aktarılan bitkilerden elde edilmiştir.

Yapılan bütün çalışmalarda kök oluşumları gözlendiği için köklendirme denemesi yapılmamıştır. Çiftçioğlu (2013), *R.rotundifolia* bitkisinde yapılan çalışmaların taamında kök oluşumu gözlendiği için ayrı bir köklendirme denemesi uygulanmamıştır.

Yapılan adaptasyon çalışmasında en iyi boy uzunluk farkı %128,44 olarak pH 7,00 olan bitkilerin bulunduğu ortamdan elde edilmiştir. En fazla boğum arası sayısı %68,75 olarak pH 4,00 ortamında gözlenmiştir.

In vitro koşullarda elde edilen bitkiler çeşme suyu bulunan akvaryumda dış çevre koşullarına adaptasyona alınmıştır. Bitkilerde iki hafta içerisinde boy uzaması ve gelişim görülmüştür. Herhangi bir çevre koşulundan etkilenmeden gelişimlerine sürdürmüşlerdir.

Tez kapsamında elde edilen sonuçlar, uygulamaya yönelik çok önemli dir ve Türk araştırmacılara yol gösterici olacak ve bu anlamda bilimsel anlamda önemli katkılar sağlanmaktadır.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında dünya ve özellikle Türkiye için ekonomik değere sahip olan *S. rivularis* bitkisinde doku kültürü çalışmalarının devam etmesi büyük önem taşımakta ve bu alandaki açığın kapatılmasına yardımcı olacaktır. Ayrıca, akvatik ve özellikle akvaiyumlarda süs amacıyla kullanılan bitkilerde yapılan doku kültürü çalışmalarının ileride yapılacak ticari doku kültürü çalışmalarına yardımcı ve teşvik edici olacağı ve dolayısıyla sektöre önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aasim, M., Khawar, K.M. ve Ozcan, S., 2009. In vitro shoot regeneration of Fenugreek (*Trigonella foenumgraecum* L.). *American Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 3(2), 135-138.
- Aasim, M., Hussain, N., Umer, E.M., Zubair, M., Hussain, S.B., Saeed, S., Rafique, T.S. ve Sancak, C., 2010. *In vitro* shoot regeneration of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) using different cytokinins. *African Journal Biotechnology*, 9, 7174-7179.
- Agrawal, A. ve Mohan Ram, H.Y. 1995. In Vitro Germination and Micropropagation of Water Chestnut (*Trapa* sp.). *Aquatic Botany*, 51; 135-146.
- Anonim, 2007. Aquarium Plants. Product Cataloge 2007-2008. *Tropica Aquarium Plants*, 76 p., Danmark. (<http://share.luisquerido.com/Catalogo%20Plantas%20Tropica.pdf>-Erişim Tarihi:13.07.2013).
- 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.
- Cirik, S., Cirik, ř. ve Dalay, M. C. 2011. Su bitkileri II. (İçsu Bitkilerinin Biyolojisi, Ekolojisi, Yetiştirme Teknikleri). *Ege Üniv. Su Ürünleri Fakültesi Yay. No: 61. İzmir*
- Crosson, H., 2010. Keeping Aquatic Plants in Their Place: Common Sense Tips to Protect Lakes and Rivers. *Landscape Online* available at: <http://www.landscapeonline.com/research/article5226>; (Erişim Tarihi: 08.12.2011).
- 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 Rotundifolia* (Buch-Ham. Ex Roxb) Koehne] Bitkisinin Çoğaltımı. *Yüksek Lisans Tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Karaman
- Doğan, M., 2013. *In Vitro* Koşullarda Tilki Kuyruğu (*Ceratophyllum demersum* L.)'nun Çoğaltımı. *Yüksek Lisans*
- Eliáš, jun., P., Hájek, M. ve Hájková, P., 2009. A European Warm Waters Neophyte *Shinnersia rivularis* – New Alien Species to the Slovak Flora. *Biologia* 64(4), 684—686
- 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.
- Hekimoğlu, M.A., 2006. Akvaryum Sektörünün Dünyadaki ve Türkiye'deki Genel Durumu. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23 (1/2) 237-241.

- Jenks, M., Kane, M., Marasca, F., Mcconnell, D. ve Sheeran, T., 1990. In vitro Establishment and Epiphyllum Plantlets Regeneration of Nymphaea "Daubeniana". Hortscience, 25, 1664-1665.
- Jo, U.A., Murthy, H.N., Hahn, E.J. ve Paek, K.Y., 2008. Micropropagation of Alocasia amazonica Using Semisolid and Liquid Cultures. In vitro Cell Developmental Biology-Plant, 44, 26-32.
- Karatas, M., Aasım, 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, 65(1), 297-303, Belgrade
- Li, Y.H., Chen, Q.Z., Xiao, J.N., Chen, Y.F., Li, X.J. ve Huang, X.L., 2007. Characteristics of Adventitious Root Formation in Cotyledon Segments of Mango (*Mangifera indica* L. Cv. Zihua): Two Induction Patterns, Histological Origins and the Relationship Withpolar Auxin Transport. Plant Growth Regulation, 54, 165-177.
- Maki, K. ve Galatowitsch, S., 2004. Movement of Invasive Aquatic Plants Into Minnesota (USA) Through Horticultural Trade. Biological Conservation 118, 389-396.
- Moncalean, P., Rodriguez, A. ve Fernandez, B., 2003. Effect of Different Benzyladenine Time Pulses on the Endogenous Levels of Cytokinins, indole-3-acetic acid and abscisic acid in Micropropagated Explants of *Actinidia deliciosa*. Plant Physiology and Biochemistry, 41, 149-155.
- Murashige, T. ve Skoog, F., 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. Physiol Plant, 15(3), 473-497.
- Najaf, S., 2008. Kebere (*capparis* spp.)'nin in vitro çoğaltımı. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Öztürk, M., 2002. Akvaryum Bitkisi *Ludwigia* sp.'nin in vitro Koşullarda Çoğaltımına Farklı Oranlardaki Büyüme Düzenleyicilerin Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Panigrahi, J., Mishra, R.R. ve Behera, M., 2006. In vitro Multiplication of *Asteracantha longifolia* (L.) Nees-a Medicinal Herb. Indian Journal of Biotechnology, 5(4), 562-564.
- Petroeschovsky, A. ve Champion, P.D., 2008. Preventing Further Introduction and Spread of Aquatic Weeds Through The Ornamental Plant Trade. Sixteenth Australian Weed Conference, 200-302, Cairns.
- Sharma, S., Kamal, B., Rathi, N., Chauhan, S., Jadon, V., Vats, N., Gehlot, A. ve Arya, S., 2010. In Vitro Rapid and Mass Multiplication of Highly Valuable Medicinal Plant *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. African Journal of Biotechnology, 9(49), 8318-8322.

- Snedecor, G.W. ve Cochran, W.G., 1967. Statistical Methods. The Iowa State University Press, Iowa, USA.
- Şumlu, Ş., 2009. Akvaryum Bitkisi *Rotala macrandra*'nın İn Vitro Koşullarda Hızlı Çoğaltımı ve Gen Aktarımı. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Taylor, M., Taufä, L. ve Drew, R. A. 1998. Decomtamination of kava (*Piper methysticum*) for in vitro propagation. Proc. Intern. Symp. Biotechnol. Tropical and subtropical species, pp. 267-461.
- Yenice, Z., 2010. Geçici daldırma sistem biyorektörlerle su mercimeği (*Lemna minor* L.) bitkisinin in vitro çoğaltımı. *Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara.*
- Zwerin, I., 2010. *Aquatica, the Journal of the Brooklyn Aquarium Society*, vol XXIV, No:5, 23 p, *Brooklyn Aquarium Society*, Brooklyn, USA.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Esra KAYA
Doğum Tarihi ve Yer : 20.12.1988/ Karaman
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 05427816073
e-mail : esrakaya_kmubiyolog@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Karaman	2015
Lisans	Selçuk Üniversitesi	2012
Lise	Karaman Fatih Lisesi	2007

Bilimsel Çalışmalar

Kaya, E., 2013. *Bitki Doku Kültür Çalışmalarında Sterilizasyon ve Önemi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Karaman.*

Uluslararası Kongre/Sempozyum

Karataş, M. ve Kaya, E., 2014. *In vitro* Multiple Shoot regeneration from different nodal segments of aquatic *Shinnersia rivularis*. 3. Uluslararası Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, 02-06 Haziran 2014-Bosna-Hersek, Sayfa No: 255