

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
2014-YL-043

**BAZI BİRYOFİT TÜRLERİNDE SPOR ÇİMLENMESİ VE
ERKEN GELİŞİM EVRELERİNİN *IN VITRO*
KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI**

Münire Nihan BAĞDATLI

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Bengi ERDAĞ

AYDIN

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Münire Nihan BAĞDATLI tarafından hazırlanan ‘Bazı Biryofit Türlerinde Spor Çimlenmesi ve Erken Gelişim Evrelerinin *in vitro* Koşullarda Araştırılması’ başlıklı tez, tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan : Doç. Dr. Bengi ERDAĞ	Adnan Menderes Üniv.	
Üye : Doç. Dr. Lale Yıldız AKTAŞ	Ege Üniv.	
Üye : Doç. Dr. Mesut KIRMACI	Adnan Menderes Üniv.	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulununsayılı kararıyla ... / .../2014 tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cengiz ÖZARSLAN

Enstitü Müdürü

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

...../...../20....

Münire Nihan BAĞDATLI

ÖZET

BAZI BİRYOFİT TÜRLERİNDE SPOR ÇİMLENMESİ VE ERKEN GELİŞİM EVRELERİNİN *IN VITRO* KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI

Münire Nihan BAĞDATLI

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Bengi ERDAĞ

2014, 68 sayfa

Bu çalışmada karayosunu türlerinden *Grimmia dissimulata* E. Maier, *Dicranella varia* (Hedw.) Schimp., *Syntrichia ruralis* (Hedw.) F. Weber & D. Mohr, *Syntrichia laevipila* Brid., *Syntrichia princeps* (De Not.) Mitt., ‘in *in vitro* spor çimlenmesi ve erken gelişim evreleri araştırılmıştır. *Grimmia dissimulata* türünde çimlenme %1.5 (w/v) sukroz içeren distile su (DS) ortamında ve sukroz içermeyen ½ Murasige ve Skoog (MS) ortamında elde edilmiştir. Çimlenme yüzdeleri sırası ile % 94 ve % 51’dir. *Dicranella varia* türünde çimlenme %1.5 (w/v) sukroz içeren ve içermeyen agar ile katılaştırılmış distile su ortamında ve sukroz içermeyen ½ MS ortamında elde edilmiştir. Çimlenme yüzdeleri sırası % 50 % 48 ve % 56 dir. *Syntrichia ruralis*, *Syntrichia laevipila* ve *Syntrichia princeps* türlerinde ise yalnızca %1.5 (w/v) sukroz içeren DS ortamında çimlenme gözlenmiştir. Çimlenme yüzdeleri sırası ile % 34, % 54 ve % 43’tür. Denenen tüm türlerde çimlenme ekzosporik tiptedir ve 2 farklı protonemal gelişim (sporeling tip) gözlenmiştir. *Grimmia dissimulata*, *Dicranella varia* ve *Syntrichia laevipila* türlerinde sporeling tipi *Bryum* tip, *Syntrichia ruralis* ve *Syntrichia princeps* türlerinde ise *Encalypta* tiptir. *Grimmia dissimulata*, *Syntrichia ruralis*, *Syntrichia laevipila*, *Syntrichia princeps*’ te yaklaşık üç ay sonra gelişim protonemal evrede ile sınırlı kalmıştır. *Dicranella varia*’ da ise protonemal kültürler gametofor tomurcuğu oluşturmuş ve ileri evrede sağlıklı gametofitler üretmiştir.

Anahtar sözcükler: *Grimmia dissimulata*, *Dicranella varia*, *Syntrichia laevipila*, *Syntrichia ruralis*, *Syntrichia princeps*, *in vitro*, spor çimlenmesi, protonema

ABSTRACT

INVESTIGATION OF EARLY DEVELOPMENT STAGES AND SPORE GERMINATION IN SOME BRYOPHYTE SPECIES UNDER *IN VITRO* CONDITIONS

Münire Nihan BAĞDATLI

M.Sc. Thesis, Department of Biology
Supervisor: Associate Prof. Dr. Bengi ERDAĞ
2014, 68

In this study, *in vitro* spor germination and early developmental stages of *Grimmia dissimulata* E. Maier, *Dicranella varia* (Hedw.) Schimp., *Syntrichia ruralis* (Hedw.) F. Weber & D. Mohr, *Syntrichia laevipila* Brid. and *Syntrichia princeps* (De Not.) Mitt. have been investigated. Germination was held on distilled water (DW) containing 1.5% sucrose and ½ Murashige and Skoog (MS) medium without sucrose. Germination percentages were 94% and 51% respectively. *Dicranella varia* gave germination in DW media with or without 1.5% sucrose and ½ MS medium. Germination rates were 50%, 48% and 56%. Germination in *Syntrichia ruralis*, *Syntrichia laevipila* and *Syntrichia princeps* was only observed in DW medium containing 1.5% sucrose. Germination rates were 34%, 54% and 43%. In all species examined, the germination was in exosporic type and two different sporeling pattern has been observed. In *Grimmia dissimulata*, *Dicranella varia* and *Syntrichia laevipila* sporeling type is *Bryum* type. In *Syntrichia ruralis* and *Syntrichia princeps* sporeling type is *Encalypta* type. *Grimmia dissimulata*, *Syntrichia ruralis*, *Syntrichia laevipila* and *Syntrichia princeps* post protonemal development could not be observed after three months. In *Dicranella varia* protonemata produced gametophore buds and then healthy gametophytes.

Key words: *Grimmia dissimulata*, *Dicranella varia*, *Syntrichia laevipila*, *Syntrichia ruralis*, *Syntrichia princeps*, *in vitro*, spore germination, protonemata

ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenmesi, yürütülmesi ve çalışmalarım süresince bana rehber olan, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Bengi ERDAĞ' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarımız sırasında birçok konuda derin bilgilerinden faydalandığım hocam Sayın Prof. Dr. Adnan ERDAĞ'a; türlerin toplanması ve tanımlanmasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Mesut KIRMACI' ya teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen, araştırmanın tüm aşamalarında bana yardımcı olan, bilgi ve tecrübesinden yararlandığım Arş. Gör. Dr. Yelda EMEK'e teşekkür ederim.

Araştırmalarım süresince laboratuvarıda beraber çalıştığım ve her türlü yardım ve desteğini gördüğüm Biyolog İlknur KUZU' ya teşekkür ederim.

Tezin gerçekleştirilmesi için FEF-13024 no'lu proje kapsamında finansal destekte bulunan ADÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine; olanakların tümünden etkin bir biçimde yararlanma imkanı veren Biyoloji Bölümü'ne teşekkürü bir borç bilirim.

Doğduğum andan bugüne kadar beni yetiştiren, maddi manevi her konuda destek olan aileme sonsuz teşekkürlerimle...

Münire Nihan BAĞDATLI

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI.....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ / KURAMSAL TEMELLER.....	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1 Materyal.....	15
3.2 Yöntem.....	20
3.2.1 Spor kapsüllerinin sterilizasyonu ve Spor süspansiyonlarının hazırlanması	20
3.2.2. Denemelerde kullanılan besi ortamlarının hazırlanması ve sterilizasyonu.	20
3.2.3. Alet ve ekipmanların sterilizasyonu.....	23
3.2.4.Kültür koşulları.....	24
3.2.5. Veri toplama ve örneklerin görüntülenmesi.....	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	25
4.1. <i>Grimmia dissimulata</i> E. Maier 'nın <i>in vitro</i> spor çimlenmesi ve erken gelişim evreleri.....	25
4.2. <i>Dicranella varia</i> (Hedw.) 'nın <i>in vitro</i> spor çimlenmesi ve erken gelişim evreleri.....	30
4.3. <i>Syntrichia ruralis</i> (Hedw.) F. Weber & D. Mohr 'in <i>in vitro</i> spor çimlenmesi ve erken gelişim evreleri.....	42
4.4. <i>Syntrichia laevipila</i> Brid.'nın <i>in vitro</i> spor çimlenmesi ve erken gelişim evreleri.....	46

4.5. <i>Syntrichia princeps</i> (De Not.) Mitt.' in <i>in vitro</i> spor çimlenmesi ve erken gelişim evreleri.....	51
5. SONUÇ.....	55
KAYNAKLAR.....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	67

SİMGELER DİZİNİ

w/v	Ağırlık/hacim
BA	Benzil adenin
DS	Distile su
EtOH	Etil alkol
GA₃	Gibberellik asit
G	Gram
g/L	gram/litre
IAA	İndol-3-asetik asit
IBA	İndol-3-butirik asit
KIN	Kinetin
L	Litre
μM	Mikromol
mg/L	Miligram/litre
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimol
MS	Murashige and Skoog, 1962
NaDCC	Sodyum dikloroizosiyanürat
NaOCl	Sodyum Hipoklorit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Soyu tükenmiş ve günümüze kadar gelen kara bitkilerinin morfolojik karakterlere dayanan filogenetik ilişkisi	2
Şekil 1.2 Karayosunu yaşam döngüsü.....	5
Şekil 3.1. <i>Grimmia dissimulata</i> 'nın doğal habitatında genel bir görüntüsü	15
Şekil 3.2. <i>Syntrichia ruralis</i> 'in doğal habitatında genel bir görüntüsü.....	17
Şekil 3.3. <i>Syntrichia laevipila</i> 'nın doğal habitatında genel bir görüntüsü	18
Şekil 3.4. <i>Syntrichia princeps</i> 'in doğal habitatında genel bir görüntüsü.....	19
Şekil 4.1. <i>Grimmia dissimulata</i> 'da normal spor, şişmiş spor.....	27
Şekil 4.2. <i>Grimmia dissimulata</i> 'da monopolar çimlenmiş sporlar, bipolar çimlenmiş sporlar.....	28
Şekil 4.3. <i>Grimmia dissimulata</i> 'da ikiz görünümlü hücreler, obtuz uç, akut uç, uzayan kloronemal iplik.....	28
Şekil 4.4. <i>Grimmia dissimulata</i> 'da primer ve sekonder dallanmalar.....	29
Şekil 4.5. <i>Grimmia dissimulata</i> 'da %1.5 (w/v) sukroz içeren DS ortamında gelişmiş kloronemal iplikler.....	29
Şekil 4.6. <i>Grimmia dissimulata</i> 'da sukroz içermeyen ½ MS ortamında gelişmiş kloronemal iplikler	30
Şekil 4.7. <i>Dicranella varia</i> 'da normal spor, şişmiş spor.....	33
Şekil 4.8. <i>Dicranella varia</i> 'da monopolar çimlenmiş spor, bipolar çimlenmiş spor.....	33
Şekil 4.9. <i>Dicranella varia</i> 'da Subgloboz-globoz hücrelerin silindirik hücrelere dönüşümü, obtuz-dairesel apikal uç, spatulat-obtuz apikal uç.....	34
Şekil 4.10. <i>Dicranella varia</i> 'da kama biçimli hücre, globoz dal başlangıç yeri..	34
Şekil 4.11. <i>Dicranella varia</i> 'da % 1.5 (w/v) sukroz içeren DS ortamında gelişen kloronemal iplikler	35
Şekil 4.12. <i>Dicranella varia</i> 'da sukroz içermeyen DS ortamında gelişen kloronemal iplikler.....	35

- Şekil 4.13. *Dicranella varia*' da sukroz içermeyen ½ MS ortamında gelişen kloronemal iplikler..... 35
- Şekil 4.14. *Dicranella varia*' da kaulonema, kallus benzeri yapıda gametofor tomurcuğu.....36
- Şekil 4.15. *Dicranella varia* 'da sukroz içermeyen DS ortamında oluşmuş kallus benzeri gametofor tomurcuğu.....37
- Şekil 4.16. *Dicranella varia* % 1.5 (w/v) sukroz içeren DS ortamında oluşmuş gametofor tomurcuğu.....37
- Şekil 4.17. *Dicranella varia*'da yapraksı gametofit oluşumu.....38
- Şekil 4.18. *Dicranella varia*' da sukroz içermeyen DS ortamında gelişmiş yapraksı gametofit..... 38
- Şekil 4.19. *Dicranella varia*' da % 1.5(w/v) sukroz içeren DS ortamında gelişmiş yapraksı gametofit..... 39
- Şekil 4.20. *Dicranella varia*' da 1mg/L KIN içeren ortamda ana kallus, sekonder kloronemal dallar üzerinde yeni oluşan kalluslar41
- Şekil 4.21. *Dicranella varia*' da 1 mg/L IAA içeren ortamda gametofit farklılaşması..... 41
- Şekil 4.22. *Syntrichia ruralis*' de globoz hücreli masif protonema oluşumu, monopolar çimlenmiş sporlar, bipolar çimlenmiş spor..... 43
- Şekil 4.23. *Syntrichia ruralis*' de yoğun spor yığını, spor yığınının kalluslaşım kararması, yeni gelişen kloronemal iplikler..... 44
- Şekil 4.24. *Syntrichia ruralis*' de %1.5 (w/v) sukroz içeren DS ortamında gelişmiş protonemalar..... 45
- Şekil 4.25. *Syntrichia ruralis*' de %1.5 (w/v) sukroz içeren DS ortamında kaulonemal görünüm..... 45
- Şekil 4.26. *Syntrichia laevipila*' da normal spor, şişmiş spor..... 48
- Şekil 4.27. *Syntrichia laevipila*' da monopolar çimlenmiş spor, bipolar çimlenmiş spor..... 48
- Şekil 4.28. *Syntrichia laevipila*' da %1.5 sukroz içeren DS ortamında kloronemal dallanma.....49

Şekil 4.29. <i>Syntrichia laevipila</i> ' da sukroz içeren DS ortamında kaulonemal iplikler.....	49
Şekil 4.30. <i>Syntrichia laevipila</i> ' da oklar tmema hücrelerini göstermektedir.....	50
Şekil 4.31. <i>Syntrichia princeps</i> ' te normal spor, şişmiş spor.....	52
Şekil 4.32. <i>Syntrichia princeps</i> ' te monopolar çimlenmiş spor, bipolar çimlenmiş spor.....	52
Şekil 4.33. <i>Syntrichia princeps</i> ' te %1.5 sukroz içeren DS ortamında çoklu hücre gruplarından türemiş bir veya iki protonemal iplik geliştirmiş hücreler.....	53
Şekil 4.34. <i>Syntrichia princeps</i> ' te %1.5 sukroz içeren DS ortamında kloronemal iplik.....	53
Şekil 4.35. <i>Syntrichia princeps</i> ' te %1.5 sukroz içeren DS ortamında havai gelişen protonemalar.....	54

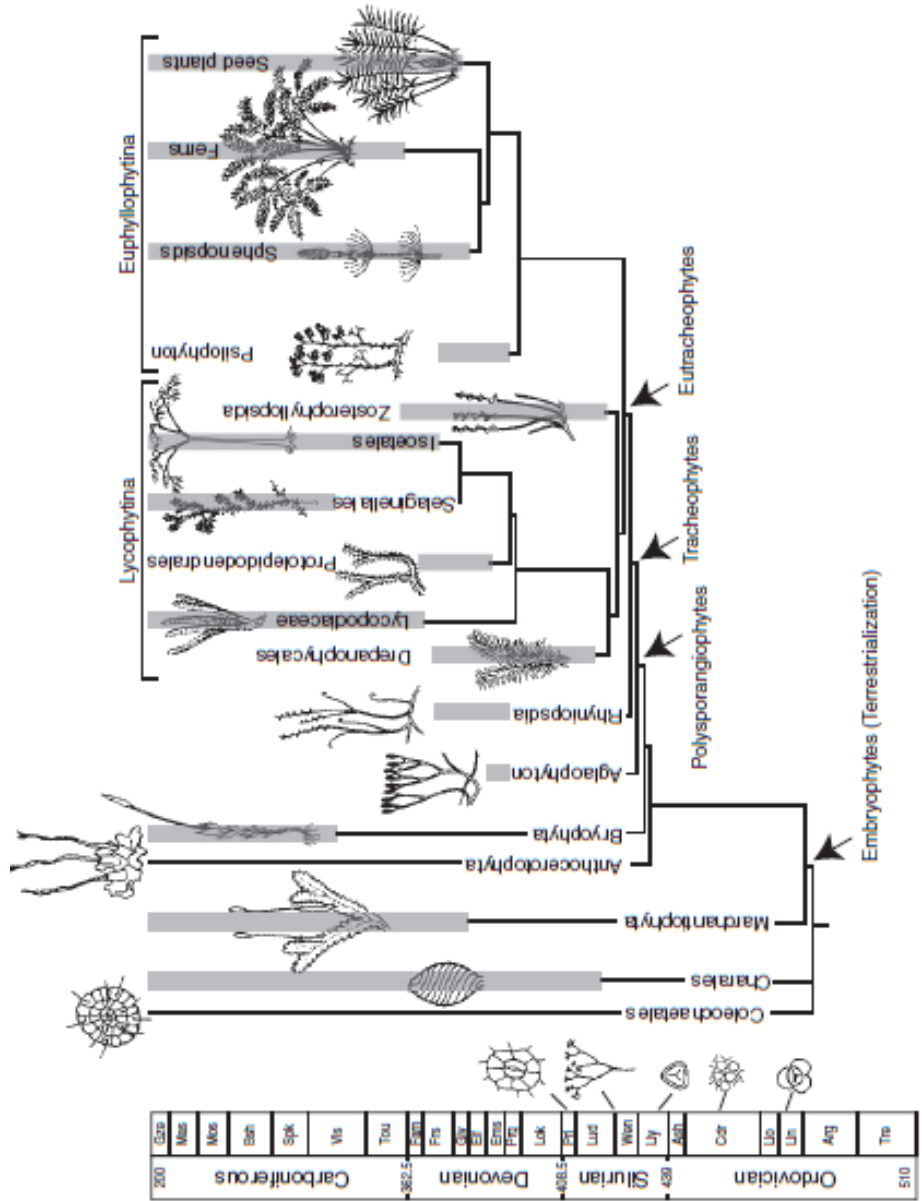
ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çimlenme denemelerinde kullanılan Murashige ve Skoog (1962) ortamının bileşenleri ve miktarları.....	23
Çizelge 4.1. <i>Dicranella varia</i> 'da canlılık ve gametofit farklılaşması üzerine ekzojen olarak uygulanan fitohormonların etkisi.....	42
Çizelge 5.1. Türlerin spor çimlenmesi ve erken gelişim evrelerine ilişkin sonuçlar.....	58

1. GİRİŞ

Embriophyta veya embryofitler (kara bitkileri olarak da bilinirler) yeşil bitkiler içerisindeki monofiletik bir gruptur (Şekil 1.1). Yaklaşık 400 milyon yıl önce Silüriyen döneminde bitkilerin karaya ilk yerleşimi çok sayıda önemli özelliklerin evrimiyle birlikte gerçekleşmiştir. Kara bitkilerinin önemli bir yeniliği embriyo ve sporofitin evrimidir. Embriyo, gametofite bağlı veya onun tarafından çevrelenmiş olgunlaşmamış bir sporofit olarak tanımlanır. Sporofit bütün kara bitkilerinin yaşam döngüsünün ayrı bir diploid evresidir. Sporofit soyun yaşam döngüsünün ayrı bir evresi olarak uyumsal avantajı spor üretimindeki büyük artıştır. İkinci yenilik kütin ve kütikula'nın evrimidir. Kütikula kara bitkilerinin organlarının en dış tabakası olan epidermis hücrelerinin dışına doğru salgılanan koruyucu bir tabakasıdır. Epidermis iç dokuların mekanik korunmasında ve su kaybının önlenmesinde iş görür. Diğer bir yenilik parenkima dokusunun evrimidir. Parenkima hücreleri solunum, fotosentez, lateral taşınım, depo ve rejenerasyon/yara iyileşmesi gibi metabolik aktivitelerde iş görür. Bir başka evrimsel yenilik anteridyumdur. Çoğunlukla steril "ceket" tabakası olarak adlandırılan bu sarıcı steril çeper hücreleri tabakasının evrimi, gelişen sperm hücresini kurumaktan korumak amaçlı bir uyumdur. Bir diğer yenilik dışı gametangium olan arkegoniyumun evrimidir. Arkegoniyum, yumurtayı saran bir dış steril hücre katmanı ile diğerleri dış kısma doğru bir tüp şeklinde uzanan boyundan ibarettir. Yumurtayı korumakta ve döllenmede işlev görür (Simpson, 2012).

Kara bitkilerinin erken evrimleri sırasında, üç büyük monofiletik soy, damarlı bitkilerden önce ayrılmıştır. Bu soylar damarsız kara bitkileri veya "biryofitler" olarak isimlendirilirler. Biryofitler parafiletik bir gruptur ve türevlenmiş özelliklerinin olmayışıyla tanımlanırlar. Bu grup gerçek iletim dokularının olmayışı, fotosentetik ve yaşam döngüsünü serbest yaşayan ve kalıcı bir evresi olan baskın bir gametofite sahip oluşlarıyla damarlı bitkilerden farklılık gösterirler (Simpson, 2012).



Şekil 1.1. Soyu tükenmiş ve günümüze kadar gelen kara bitkilerinin morfolojik karakterlere dayanan filogenetik ilişkisi (Vanderpoorten ve Goffinet, 2009).

Biryofitler; Marchantiophyta (ciğerotları), Anthocerotophyta (boynuzlu ciğerotları) ve Bryophyta (karayosunları) olmak üzere üç sınıfa ayrılmakta (Glime, 2007; Goffinet ve Shaw, 2009) ve dünya üzerinde yaklaşık 25.000 türle temsil edilmektedir (Crum, 2001). En gelişmiş üyeleri karayosunlarıdır ve bu sınıf yaklaşık 15.000 tür içermektedir (Hallingbäck ve Hodgetts 2000; Gradstein vd., 2001).

Biryofitler birkaç mm'den 70 cm'ye kadar ulaşabilen, genellikle küçük ve basit yapıdaki bitkilerdir. Karasal bitkiler olarak bilinmelerine rağmen, bazen tamamen suya gömülü olarak yada toprağın ve nemin çok az olduğu kurak ortamlar gibi ekstrem koşullarda da yaşamlarını sürdürebilmektedirler. Daha çok nemli iklime sahip bölgelerde, gölgelik alanlarda ve su kenarlarında geniş yayılışa sahiptirler. Birkaç karayosunu türü deniz kenarında bulunmasına rağmen, hiçbiri denizlerde yaşamamaktadır (Ören, 2004).

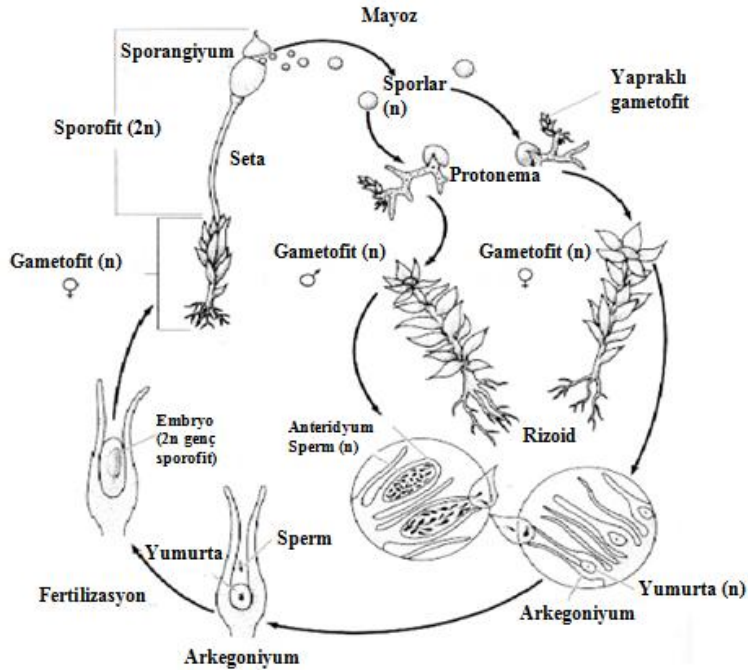
Biryofitlerin yaprak ve gövdeleri, vasküler bitkilerin yaprak ve gövdeleriyle homolog değildir. Biryofitlerin emici ve tutunucu organları gerçek bir kök olarak adlandırılmaz. Tek hücreli veya çok hücreli yapıda ipliksi şekilde rizoid adı verilen köksü yapılara sahiptirler (Altuner, 1997). Bu yapıların görevi biryofitleri substrata (toprak, kaya, ağaç) bağlamaktır.

Biryofitler dışındaki diğer bütün bitkilerin iletim dokularının, ksilem ve floemden oluşmuş olması bu grup ile diğer bitkiler arasındaki önemli farklardan biridir (Chien ve Crosby, 1999; Nyholm, 1981; Schofield, 1985). Biryofitlerin nonvasküler (iletim demetsiz) bitkiler olduğu söylenebilir fakat bu Biryofitlerin iletim dokusunun olmadığı anlamına gelmez. Birçok yapraklı karayosunu gövdesi ve birkaç Ciğerotu ile bazı yapraklı karayosunlarının sporofitik setası (spor kapsülü sapı) su ve diğer madensel tuzları ilettiği bilinen farklılaşmış hücrelerden oluşmuş bölgelere sahiptir. Bu bölgeler, uzun ölü hücrelerden oluşan, merkezde bulunan ve **hidroid** adı verilen yapılardır. Bu yapıların yan duvarları kalındır ve polifenolik bileşikler içerir. Fakat asla vasküler bitkilerin trakeidlerinin ve damarlarının çeper yapısında bulunan karakteristik ligninsel kalınlaşmaya sahip değildirler. Hidroid içeren birçok karayosunu, hidroidlerin çevresinde bulunan ve elementlerin geçişini kontrol eden hücrelere de sahiptirler. Bu hücreler **leptoid** olarak adlandırılırlar. Leptoidler uzun olup farklı bir sitoplazmaya sahip ve plasmodesmataya kadar uzanan sitoplazmik uzantılara sahiptirler. Leptoidler olgunlaşınca sitoplazmaları çökeler ve uç kısımlarının çeperi bölgesel

kalinlaşmalarla çevrelenmiş porlara sahiptir (Chien ve Crosby, 1999; Nyholm, 1981; Schofield, 1985).

Çok iyi gelişmiş leptoid ve hidroidler, *Atrichum* P. Beauv ve *Polytrichum* Hedw. gibi yapraklı karayosunları cinslerinin bazı türlerinde ve ayrıca *Dawsonia* R Br. cinsinin bazı türlerinde bulunur. Bununla birlikte birçok karayosununda su, dış yüzeyden fiziksel olarak hareket eder. Birçok ciğerotu genellikle çevrede suyla iç içedir. Bazı karayosunlarındaki hidroid ve leptoidlerin kara yaşamına cevap olarak gelişmiş olabileceği düşünülmektedir (Chien ve Crosby, 1999; Nyholm, 1981; Schofield, 1985).

Biryofitlerde diğer bütün kara bitkilerinde olduğu gibi gametofitik ve sporofitik döller arasında birbirini takip eden düzenli bir değişim olayı vardır. Karayosunlarında eşeyli üreme oogami iledir ve daima antitetik döl alması görülür. Canlıların hayatında morfolojik bakımdan birbirine benzeyen veya benzemeyen eşeyli bir döl ile eşeysiz bir dölün düzenli bir şekilde birbirini takip etmesine **döl alması** adı verilmektedir. Görülen en tipik şekilde karayosunlarında olduğu gibi haploid gametofitle diploid sporofit arasındaki almasıdır (Özdemir, 2000).



Şekil 1.2. Karayosunu yaşam döngüsü.

(http://www.esu.edu/~milewski/intro_biol_two/lab_2_moss_ferns/Moss_andFern_Diversity.html, 9 Haziran 2014).

Biryofitler yaşamlarını sürdürebilecekleri kadar nemin var olduğu tropikal bölgelerden, subarktik ve subantartik bölgelere kadar dünyanın bütün iklimlerinde oldukça geniş alan kaplamalarına rağmen, vasküler bitkilerin gölgesinde kalmış, gözden kaçan organizmalardır. Oysaki biryofitler birçok ekosistemin etkili bileşenleri ve çevresel değişimin mükemmel göstergeleri olabilirler (Station, 2012). Ayrıca birtakım geniş ölçekli ekosistem prosesleri için gereklidirler ve karbon, su, besin döngülerinde önemli rol oynarlar (Vitt, 2000; Porley ve Hodgetts, 2005).

Biryofitler karasal bitkilerin en geniş 2. grubunu oluşturmalarına rağmen, vasküler bitkiler ile kıyaslandığında biyolojileri hakkında daha az bilgi vardır. Bitki morfogenez çalışmaları temel olarak vasküler bitkiler üzerine yoğunlaşmıştır ve biryofitler deneysel modeller olarak tercih edilmemektedirler (Sabovljevic vd., 2005). Bu durumun olası nedeni türlerin biyolojisi hakkında az bilgiye sahip olma, materyallerin genetik çeşitliliği ve biryofitlerin üzerinde (ve/veya

endobiyont olarak) yaşayan organizmaların çokluğu ile aksenik kültür elde etmedeki sıkıntılardır. Oysaki Biryofitlerle deneysel çalışmalar oldukça ekonomiktir ve birçok temel ve uygulamalı fizyoloji, genetik, morfojenetik, ekolojik ve evrimsel sorunlar gibi konularda yüksek bitkilere göre oldukça kolay incelenebilir özelliklere sahiptirler (Sabovljević vd., 2003). Ayrıca biryofitler protoplast büyümesi ve füzyon, bitkilerde strese-bağlı hücre cevabı, apospori, apogami gibi kompleks biyolojik süreçlerin açıklanması için de yararlı materyallerdir (Lal, 1984; Cove vd., 1997; Oliver ve Wood, 1997; Schumaker ve Dietrich, 1998; Reski, 1998; Wood vd., 2000; Bogdanović vd., 2009; Cvetić vd., 2005, 2009; Sabovljević vd., 2010; Vujičić vd., 2010).

Biryofitlerde, yeni bitki oluşturmak için genellikle üç yol vardır. Bunlar: 1. spor çimlenmesi 2. gemma çimlenmesi 3. ana bitki kısımlarının rejenerasyonu'dur (Nehira, 1983). Bu gelişim süreçlerini araştırmak için karşılaştırmalı pek çok araştırma yapılmıştır (Leitgeb, 1874,1875,1877,1881; Correns, 1899; Goebel, 1930; Chalaud, 1932; Fulford, 1956,1975; Nehira, 1976; Renzaglia, 1978).

Yukarıdaki belirtilen üç gelişim süreci arasında, sporeling (sporum ilk bölünmesinden yapraksı sürgün oluşumuna dek geçen süreç) biyolojik olarak çok daha önemlidir. Çünkü spor ve sporeling gametofitin temel karakteristiğini oluşturur ve sporeling modeli diğer gelişim süreçlerine göre daha spesifiktir (Nehira, 1983). Genel olarak, spor çimlenmesi ve sporeling gelişimi çevre koşullarının neden olduğu modifikasyona duyarlıdır (Leitgeb, 1876; Schostakowisch, 1894; Buch, 1920; Chalaud, 1932,1937; Müler, 1958; Fulford, 1956,1975; Inoue, 1960; Doyle, 1962,1963; Schuster, 1966). Ancak bazı özellikler çevresel değişikliklerle modifiye olmaz. Bunlar, spor kabuğundaki yarıma tipi, protonema gelişiminin ekzosporun içine veya dışına doğru olması (ekzosporik veya endosporik çimlenme) ve uygun koşullarda gelişen protonema yapısıdır. Bunlar sporeling tiplerini sınıflandırmak için kullanılacak temel karakterler olarak kabul edilmelidir, çünkü muhtemelen cins veya türlerin bireyleri için eşsiz ve ayırt edici özelliktedir (Nehira, 1983).

Karayosunlarının çoğunda çimlenme **ekzosporiktir**, yani sporların bırakılmasından sonra sporda bulunan tek hücrenin protoplastının genişlemesi sonucu spor çatlar. *Andraea* (Hedw.), *Drummondia* Hook., ve *Leucodon* Schwägr. gibi bazı karayosunun cinslerinde germinasyon daha erken dönemde, sporların dağılması ve açılmasından önce yani **endosporik** olarak gerçekleşir.

Spor açıldığında içerisinde birden çok hücre bulunur, bu nedenle böyle taksonlar multisellüler sporlara sahiptir.

Çok farklılaşma gösterse de karayosunlarında genellikle görülen yapı yüksek derecede dallanmış filamentöz ve uniseriate protonemadır. Hücre özelleşmesi protonemada iki tip filamentle görülür: Kırmızı kahverengimsi yatay bağlayıcı filamentler (kaulonema) ve yukarıya doğru gelişen yeşil filamentler (kloronema). Her iki protonema birkaç santimetreye kadar uzayıp substratı üzerinde açık yeşil bir film halinde görünüm kazanabilir. Protonema fazı genellikle kısa sürelidir, fakat *Buxbaumia* gibi taksonlarda bitkinin vejetatif neslini ifade eder. Protonema geliştikçe çoğu zaman kaulonema üzerindeki hücreler sürgün uçları geliştirirler ve bu düzenli oblik sıralar halindeki yapıları sürgün apikal hücrelerini oluşturur. Bu olay karayosununun yapraklı gametofor yada sürgün safhasını başlatır. Her protonemadan sayısız sürgün çıkarak örtü halindeki karayosunu gibi yapıların tek bir spordan gelişebilmesini sağlar (Crandall-Stotler ve Bartholomew-Began, 2007).

Spor çimlenmesi ve protonema gelişimini sahada çalışmak oldukça zordur (Wiklund ve Rydın, 2004). Bu durumda *in vitro* kültür koşulları pratik bir alternatif sağlamaktadır. *In vitro* kültür, biryofit gelişimi ve çimlenme çalışmalarını kolaylaştıran önemli bir tekniktir (Duckett vd., 2004; Hohne ve Reski, 2005; Nehira, 1983; Goode vd., 1992; Duckett vd., 1998). Bu yöntem vejetatif üreyen türler hakkında yeni bilgilere katkıda bulunabilir (Duckett ve Ligrone, 1992; Duckett vd., 2001). Ayrıca besin gereksinimleri (Sabovljevic vd., 2003), kurumaya tepkiler (Mishler ve Newton, 1988; Rowntree vd., 2007) ve diğer biyolojik olayları yorumlamada yararlı olabilir. Bunun yanı sıra biryofitler hasar görmüş ekosistemlerin yeniden güçlendirilmesi ve *ex-situ* koruma çalışmalarında önemli bir araç olarak kabul edilmektedirler (Pence, 2004; Rowntree ve Ramsay, 2005; Rowntree, 2006; Sarasan vd., 2006). Ayrıca son yıllarda, fitokimya ve farmakolojinin ilerlemesi ile biryofitlerde yeni yapılara sahip biyolojik aktif bileşikler tespit edilmiş ve dikkatler tıbbi olarak biryofitlerin kullanımına daha fazla yönelmiştir (Xia vd., 2001; Zhu vd., 2002; Wang ve Lou 2003; Stephen vd., 2004).

Farklı karayosunu türlerine ait kontrollü koşullarda gerçekleştirilen aksenik kültür çalışmaları pek çok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Basile ve Basile, 1988; Kowalczyk vd., 1997; Sabovljević vd., 2003; Duckett vd., 2004; Rowntree, 2006;

Sabovljević vd., 2009). Ancak aksenik koşullarda gelişim yüksek bitkilerdeki gibi türe özgüdür ve *in vitro* koşullarda aynı uygulamada farklı türlerin cevabında pek çok farklılıklar vardır (Bijelović vd., 2004; Sabovljević vd., 2005).

Biryofitlerde aksenik kültür çalışmaları çok karmaşık gözüktüğü için bu tip araştırmalar birçok araştırmacı tarafından denenmekten vazgeçilmiştir. Ancak, aksenik olmayan koşullarda diğer organizmalarla olası etkileşim nedeniyle bazı deneysel işlemler için steril kültürler gereklidir. Ayrıca *in vitro* oluşturulmuş aksenik kültürler ile farklı türlere ait erken gelişim evreleri ve dolayısı ile tür biyolojisine ilişkin temel bilgilere ulaşmak mümkündür.

Planladığımız bu çalışmada *Grimmia dissimulata* E. Maier, *Dicranella varia* (Hedw.) Schimp., *Syntrichia ruralis* (Hedw.) F. Weber & D. Mohr, *Syntrichia laevipila* Brid., *Syntrichia princeps* (De Not.) Mitt.'e türlerine ait aksenik kültürlerin oluşturulması ile *in vitro* koşullarda spor çimlenme özellikleri, protonema ve gametofit gelişimi aşamaları ilk kez belirlenmiş ayrıca gametofit farklılaşması üzerine farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisi araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

De Luna (1990), *Braunia secunda* (Hook.) Bruch & Schimp., *Hedwigia ciliata* (Hedw.) P. Beauv., *Hedwigidium integrifolium* (P. Beauv.) Dixon, *Pseudobraunia californica* (Lesq.) Broth. ve *Rhacocarpus purpurascens* (Brid.) Par. türlerinde çimlenme ve protonemal gelişimi gözlemek için sporları katı ortama kültüre etmiştir. Beş türde de çimlenmenin ekzosporik olduğunu belirtmiş ve denenen türlerde iki protonemal gelişim tipi gözlemiştir. *Rhacocarpus purpurascens* ‘ da protonemanın *Macromitrium* tipte olduğu gibi rektangular veya kısa oblong hücrelerden oluşan dallanmış filamentlerden meydana geldiğini belirtmiştir. *Braunia secunda*, *Hedwigia ciliata*, *Hedwigidium integrifolium*, ve *Pseudobraunia californica*’ nın protonemasının globular hücrelerden ibaret olduğunu ve bu durumun karayosunlarında bilinmeyen bir tip olduğunu rapor etmiştir.

Sabovljević vd. (2003), farklı konsantrasyonda oksin ve sitokinin içeren ve herhangi bir bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS ortamlarında beş karayosunu türü için *in vitro* kültürleri oluşturmuşlardır. *Eurhynchium praelongum* (Hedw.) B.S. & G. türünün *in vitro* kültürüne gametofitlerin uç sürgünlerinden, *Aloina aloides* (K.F.Schultz) Kindb., *Brachythecium velutinum* (Hedw.) B.S. & G., *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. ve *Grimmia pulvinata* (Hedw.) Sm. türlerinin *in vitro* kültürlerine ise olgunlaşmamış sporofitlerin sporlarından başlamışlardır. *Eurhynchium praelongum* türünde sekonder protonemayı başarılı bir şekilde elde eden araştırmacılar; *Aloina aloides*, *Brachythecium velutinum*, *Ceratodon purpureus* türlerinde protonema kültürlerinin tomurcuk formasyonunu gerçekleştirdiğini ve daha sonra kaulonema kültürüne dönüştüğünü, *Grimmia pulvinata* türünün ise protonema evresinde kaldığını rapor etmişlerdir.

Bijelović vd. (2004), *Bryum argenteum* (Hedw.) ve *Atrichum undulatum* (Hedw.) P. Beauv. karayosunu türlerini, morfolojilerini araştırmak amacıyla *in vitro* koşullarda farklı fitohormonlar ile muamele etmişlerdir. Kültürleri steril sporelerden kurmuşlar, *in vitro* yetiştirilen steril gametofitlerin apikal sürgünlerini, gametofit çoğalması, büyümesi ve sekonder protonema üzerine farklı bitki büyüme maddelerinin etkisini araştırmak için kullanmışlardır. İki karayosunu türünün de uygulanan büyüme düzenleyicilerine farklı tepki gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Zhao vd. (2004), bir karayosunu türü olan *Lindbergia brachyptera* (Mitt.) Kindb. 'da spor çimlenmesi, protonemal gelişim ve gametofit farklılaşmasının gözlenmesi için *in vitro* kültürler oluşturmuşlardır. Denemelerin sonunda spor çimlenmesinin yaklaşık 3 gün sonra gerçekleştiğini ve çimlenme tipinin ekzosporik olduğunu belirtmişlerdir. Kültüre alındıktan 8 gün sonra, sporlarda çimlenme oranı %95'tir. *Lindbergia brachyptera* protonemasının, ipliksi kloronema ve rizoid içerdiğini ve gametofit başlangıcının, kloronemadan farklılaşma ile oluştuğunu rapor etmişlerdir.

Sabovljević vd. (2005), *Bryum argenteum* ve *Atrichum undulatum* türlerinde *in vitro* kültürleri Murashige & Skoog (MS) (1962) ortamı üzerine steril edilmiş spordan başlatmışlardır. İyi gelişmiş gametofitlerin apikal sürgünlerini, gametofit büyümesi, çoğalması ve sekonder protonema üzerine şekerlerin (sukroz, fruktoz ve glukoz) farklı konsantrasyonlarının (0.01M, 0.03M, 0.05M, 0.1M, 0.2M, 0.3M) etkisini araştırmak için kullanmışlardır. *Bryum argenteum*' un *in vitro* kültürlerinde test edilen şekerlerin, protonemal gelişim ve sürgün çoğalması üzerine pozitif, *Atrichum undulatum*' un *in vitro* kültürlerinde ise negatif etki gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Cvetić vd. (2005), bir karayosunu olan *Amblystegium serpens*' i (Hedw.) Schimp. *in vitro* koşullarda 7 g/L agar, 30 g/L sukroz, yarı makro ve mikro mineral tuzlar, vitaminleri içeren hormonsuz MS ortamında kültüre etmişlerdir. Sonuçta sporlar, 16/8 saat fotoperiyod koşullarında, 25 ± 2 °C, %60-70 nem ve $47 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ ışık şiddetinde çimlenmiş ve primer protonema gelişmiştir. Primer protonemanın gelişiminden üç hafta sonra, döl almaşı olmadan primer protonemadan doğrudan yeni sporofit meydana geldiğini gözlemişlerdir.

González vd. (2006), *Splachnum ampullaceum* (Hedw.) un protonema eksplantlarını, B5 (Gamborg vd., 1968) vitaminleri veya sukroz ilavesi olmayan, azot içeren, 10 farklı mineral ortam üzerinde büyütmüşlerdir. Kültürleri $24 \pm 4/20 \pm 2$ °C gündüz/gece sıcaklıkta ve 16-h fotoperiyotta ($25 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti) inkübe etmişlerdir. Sukrozun protonema çapına az etki ettiğini ya da hiç etki etmediğini ve yüksek-amonyumlu ortamın veya yalnız nitratlı ortamın tomurcuk sayısını azda olsa arttırdığını ya da hiç etkilemediğini, fakat düşük-amonyumlu ortamın tomurcuk sayısını önemli derecede azalttığını rapor etmişlerdir. B5 vitaminlerini içeren ortamda kültürlerin 1 yıl süreyle hayatta

kaldığını, uzun-dönem kültürler için en iyi ortamın düşük konsantrasyonlu amonyum fosfat veya sulfat içeren ortam olduğunu gözlemişlerdir.

Sabovljević vd. (2006), *in vitro* kültürde *Atrichum undulatum* türü karayosununun morfojenisi üzerine mineral tuzlar ve sukrozun etkisini test etmişlerdir. *In vitro* kültürleri MS ortamına aktarılan steril edilmiş sporelerden kurmuşlardır. Gametofit büyümesi, çoğalması ve protonemal büyüme üzerine mineral tuzların ve sukrozun etkisini araştırmak için, gametofitlerin apikal sürgünlerini kullanmışlardır. Sporofit yüzey sterilizasyonunu başarıyla sağlamışlar, en iyi spor çimleme yüzdesini 30 gr/L sukroz içeren MS ortamında elde etmişlerdir. Spor çimlenmesinden 15 gün sonra protonema gelişimi ve 2 ay sonrada tomurcuk oluşumunu rapor etmişlerdir. Denemeler sonucu gametofit gelişimi için en iyi ortamın 15 g/L sukroz içeren MS ortamı olduğunu, yüksek sukroz konsantrasyonunun (30 g/L) tam bir bitki oluşumunu engellediği fakat protonema gelişimini teşvik ettiğini gözlemişlerdir.

Cvetić vd. (2007), *Pogonatum urnigerum* (Hedw.) P. Beauv. türü karayosununda *in vitro* kültürleri oluşturmuşlardır. Gametofit gelişiminde protonema ve gametofor aşamalarının her ikisini de elde etmişlerdir. MS ve yarı-güçlü MS olmak üzere iki besin ortamı denemişlerdir. Ayrıca kallus kültüründe, hormonsuz MS besin ortamı kullanmışlardır. Gametofit gelişimi için en iyi besin ortamının 15 gr/L sukroz ilave edilmiş yarı-güçlü MS ortamı olduğunu tespit etmişlerdir. Denemelerde; tomurcuk gelişimini etkileyen faktörleri test etmek için 1µM indol-3-asetik asit (IAA) ve benziladenin (BA) içeren yarı-güçlü MS ortamını kullanmışlardır. IAA içeren ortamda kallus oluşumu olmadan protonemanın kloroplastlarını kaybettiğini, BA içeren ortamda yetişen dokularda ise hiçbirinde gametofit üremediğini ve uzun süreli uygulamalarda canlılıklarını yitirdiğini rapor etmişlerdir.

Silva vd. (2009), *Thamniopsis incurva* (Hornsch.) W.R. Buck' da spor çimlenmesi ve canlı kalma süresinin yanı sıra farklı ışık şiddetleri ve su potansiyelleri altında protonemal büyümeyi araştırmışlardır. Olgun spor kapsüllerini sterilize edip, sporları Knop (Nehira 1988) besin ortamına aktarmışlardır (sıvı ve %0.4 agar ile katılaştırılmış). Denemeler sırasında sporların üç ay içinde hızlıca canlılıklarını kaybettiğini, çimlenmenin, hem ışık (12h fotoperiyod) hem de sürekli karanlık koşullarında meydana geldiğini gözlemişlerdir. Çeşitli ışık denemelerinin (1.4-14.4 µmol/m²s⁻¹) tomurcuk oluşumu ve protonemal büyümeyi inhibe ettiğini, diğer yandan; spor çimlenmesi,

protonemal büyüme ve gametofit oluşumunda -0.06 MPa su potansiyeli ile sınırlı olduğunu rapor etmişlerdir.

Cvetić vd. (2009), aseptik kültürde büyüyen karayosunu türü *Atrichum undulatum* da gün uzunluğunun etkilerini araştırmışlardır. Fotosentetik pigmentlerin, farklı fotoperiyodlarda büyümenin sonucunda önemli farklılıklar göstermediğini tespit etmişlerdir. Protein içeriği ve malat dehidrogenaz aktivitesinin, kısa güne (8 ışık/16 karanlık) göre, uzun günde (16 ışık/ 8 karanlık) yetişen bitkilerde daha yüksek olduğunu, toplam fenolik bileşiklerin içeriğinin yanı sıra antioksidatif kapasitenin uzun-gün koşullarında yetiştirilen bitkilerde daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca peroksidaz aktivitesinin, uzun günde yetiştirilen bitkilerde daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Denemelerin sonunda farklı fotoperiyodlarda büyüyen karayosunu türlerinde antioksidan metabolizmada bileşiklerin düzenlenmesini, yüksek bitkilerdeki benzer parametrelerle ilişkilendirmişlerdir.

Silva vd. (2010), *Bryum argenteum* sporlarında farklı çimlenme fazlarında ışık ve besin maddelerinin etkisini araştırmışlardır. Denemelerde sürekli karanlık ve ışık (12 saat) koşulları uygulanmış ve sporlar distile su ve besin solüsyonu içeren ortamlara inkube edilmiştir. Kullanılan her iki ortam birbirinden bağımsız olarak denenmiştir. Sporların sadece ışığa maruz kaldığında çimlendiğini, karanlıkta ise çimlenmenin şişme aşamasında kaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca besin solüsyonu varlığında, distile suyla kıyaslandığında çimlenmenin daha erken gerçekleştiğini rapor etmişlerdir. Denemelerin sonunda *Bryum argenteum* sporlarının çoğunda besinlerin, son çimlenme fazını tamamlamak ve protonemal büyümeyi sağlamak için gerekli olduğu sonucuna varmışlardır.

Liang vd. (2010), zarar görmüş doğal ekosistemlerin iyileştirilmesi ve habitat yeşillendirmesi uygulamalarında kullanılmak üzere *Bryum argenteum* türü karayosununun mikroçoğaltım prosedürlerini araştırmışlardır. Başlangıç materyali olarak steril edilmiş sürgünlerin yaklaşık 5 mm'lik uç kısımları kullanılmıştır. Denemelerde kültürler 0.01, 0.1, 1 ve 10 μ M IAA, BA ve GA₃ ile desteklenmiş Knop (Reski ve Abel, 1985), BCD (Ashton ve Cove, 1977) ve Beneke (Basile, 1975) ortamları üzerine kurulmuştur. Denemelerin sonuçlarına göre, protonema Knop solüsyonunda (BCD ve Beneke ortamları ile kıyaslandığında) daha kolay çoğalmış ve Knop ortamı üzerinde gelişen protonema, diğer ortamlarda gelişen protonemalara göre daha fazla gametofor üretmiştir. Denemelerde kullanılan

fitohormonların hiç biri üretilen gametofor sayısını belirgin bir şekilde etkilememiştir. Ancak 0.1 μM GA₃ ilaveli Knop ortamında gametofor belirim süresi nispeten azalmıştır. *In vitro* elde edilmiş gametoforlar ve doğal ortamından toplanmış gametofitler fragmente edilmiş ve vermikulit ve turbadan oluşan karışım (6:1) üzerine aktarılmışlardır. Yaklaşık bir ay sonra karayosunu matı (hasır) oluştuğu gözlenmişlerdir. *In vivo* ve *in vitro* elde edilmiş materyallerin kolonizasyonu karşılaştırıldığında, *in vitro* elde edilmiş materyalin daha iyi kolonize olduğu rapor edilmiştir.

Vujičić vd. (2010a), tehdit altında olan *Herzogiella seligeri* (Brid.) Z. Iwats. karayosunu türünün korunması için uygun prosedürü oluşturmak ve aktif çoğaltım sağlamak amacı ile aksenik kültürler oluşturmuşlardır. Eksplant olarak sporofit ve gametofitleri kullanmışlardır. Sporofit yüzey sterilizasyonunda, %10 luk ticari sodyum hipoklorid (NaOCl) ile 5 dakika muamele etmeleri sonucunda %100 steril kültürler elde etmişlerdir. Farklı gün-uzunluğu ve sıcaklığın gelişimde etkili olmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca, sukrozun spor çimlenmesini teşvik ederken, gametofit gelişimini durdurduğunu rapor etmişlerdir.

Vujičić vd. (2010b), *Marchantia polymorpha* L. ssp. *ruderalis* Bischl. & Boisselier ile kurdukları *in vitro* kültürlerde, en uygun koşullar, mineral besinler, ışık ve sıcaklık ile diğer sabit koşulları araştırmışlardır. Aseptik *in vitro* kültürler için gemmaları başlangıç materyali olarak kullanmışlardır. Gemmaların yüzey sterilizasyonunu %7 lik ticari çamaşır suyu ile sağlamışlardır. Bitkilerin, 18-20 °C sıcaklık, yüksek nem ve uzun gün koşullarında tam gelişim gösterdiğini ve en iyi biokütle veriminin, 15 gr/L sukroz ilave edilmiş yarı-güçlü MS besin tuzları içeren ortamda oluştuğunu rapor etmişlerdir.

Vujičić vd. (2011), biryofitlerde aksenik kültür problemlerinin çözümü, kültürlerin oluşturulması için gerekli koşullar ve sürgün çoğaltımı çalışmalarını gerçekleştirmek için pleurokarp karayosunu *Hypnum cupressiforme* (Hedw.)' nin *in vitro* kültürünü oluşturmuşlardır. Sporofit ve gametofitlerin apikal sürgünlerinin sterilizasyonu için 5 dakika %3,5,7,10,13 ve 15'lik ticari sodyum hipoklorid (NaOCl) çözeltilerini uygulamışlardır. Sporofit sterilizasyonunda %10 ve %13'lük NaOCl de %100, gametofit sterilizasyonunda ise %3'lük NaOCl de %70 başarı sağlamışlardır. Ayrıca farklı gelişim aşamalarında sıcaklık, gün uzunluğu ve besinlerin etkisini tartışmışlardır. Denemelerin sonunda sürgünlerin mikroçoğaltımı için en iyi koşulların düşük sıcaklık (18-20 °C) olduğunu tespit

etmişler, sürgün gelişiminin şeker içermeyen MS ortamında ise gün uzunluğundan bağımsız olduğunu gözlemişlerdir. Ayrıca ortamda şeker varlığının spor çimlenmesini teşvik ettiğini ve gametofit oluşumunun yanı sıra kaulonemanın da meydana geldiğini rapor etmişlerdir.

Sabovljević vd. (2012), pleurokarp karayosunu *Thamnobryum alopecurum* (Hedw.) Nieuwl. ex Gangulee 'un *in vitro* kültürlerinin farklı gelişim aşamalarında sıcaklık, gün uzunluğu ve MS ve BCD ortamlarında besinlerin etkisini araştırmışlardır. Sürgünlerin mikroçoğaltımı için en iyi koşulların düşük sıcaklık (18-20 °C) olduğunu tespit etmişler, BCD ortamında ise gün uzunluğundan bağımsız olduğu gözlemişlerdir. Ortamda şeker varlığında spor çimlenmesinin teşvik edildiği fakat gametofit gelişimi ve kaulonema oluşumunun durduğunu gözlemişlerdir.

Sabovljević vd. (2012), *Entosthodon hungaricus* (Boros) Loeske karayosunu türünde optimum büyüme koşullarını tespit etmek ve gametofit gelişimini gerçekleştirmek için *in vitro* koşullarda aksenik kültürler oluşturmuşlardır. Başlangıç materyali olarak gametofit ve sporofitleri kullanmışlardır. Örneklerin sterilizasyonu için etanol, NaOCl, NaOCl ve etanol kombinasyonu, Sodyum dikloroizosiyanürat (NaDCC) sterilizant maddelerini kullanmışlardır. Gametofitlerin, etanol, NaOCl, NaOCl ve etanol kombinasyonlarının tüm konsantrasyonlarında öldüğünü, NaDCC konsantrasyonlarında %2 ile %60 arası hayatta kaldığını rapor etmişlerdir. Sporofitlerde ise NaOCl konsantrasyonlarında %33-90 arası ve NaDCC konsantrasyonlarında %45-80 arası başarı sağlamışlar, ancak etanol, NaOCl ve etanol kombinasyonlarının tüm konsantrasyonlarında canlılıklarını yitirdiklerini gözlemişlerdir. Sporofit sterilizasyonu için %3'lük NaOCl konsantrasyonunun, gametofit sterilizasyonu için ise %3'lük NaDCC konsantrasyonunun optimum konsantrasyon olduğunu belirtmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

Bu çalışmada Bryophyta divisio'su Bryopsida sınıfından; *Grimmia dissimulata* E. Maier, *Dicranella varia* (Hedw.) Schimp., *Syntrichia ruralis* (Hedw.) F. Weber & D. Mohr, *Syntrichia laevipila* Brid., *Syntrichia princeps* (De Not.) Mitt., türleri materyal olarak kullanılmıştır.

Türlerin sistematikteki yerleri ve özellikleri:

Subclass: Bryidae

Ordo: Grimmiales

Familia: Grimmiaceae

Genus: *Grimmia*

Species: *Grimmia dissimulata* E. Maier (Şekil 3.1)

Dioik, yeşilimsi halılar oluşturan, kuruyken tüylü görünümlü kısa bitkiler (2 cm), Yapraklar gevşekçe yapışıkta imbricata doğru, kuruyken dik ve yassı, ıslandığında yaygın, lanseolat, yapraksı uç akut, üst lamina kanalsı bir oluk oluşturur, Hiyalin tüy laminanın yarısı kadar hafifçe dişli, Kosta iç kısmında 4 hücre genişliğinde, en alt kısmında 4 hücrelik tek tabaka halinde, seta kıvrık, kapsül ovoid şeritli. Kalkerli kayalar üzerinde, Avrupa-Akdeniz' de bulunur (Smith, 2004).



Şekil 3.1. *Grimmia dissimulata*'nın doğal habitatında genel bir görüntüsü

Subclass: Dicranidae
 Ordo: Dicranales
 Familia: Dicranaceae
 Genus: Dicranella
 Species: *Dicranella varia* (Hedw.)

2-10 mm boyunda küçük bitkiler, yapraklar dik yada hançersî biçimde kıvrık, üst yapraksî linear lanseolat, apeks akuminat, yaprak kenarı geriye kıvrık, düz yada hafifçe dişli (uca doğru), üst laminal hücreler rektangular-linear, 4-9 µm genişliğinde, düzensiz, açık renkli rizoidal gemmalar mevcut, kapsül eğik, ovoid, gibboz, kuruyken düz yüzeyli, ekzotesiyal hücrelerin boyuna çeperleri daha fazla kalınlaşmış, kapak konik veya kısaca gagalı, sporlar 24-28 µm. Genellikle ıslak bazik topraklarda, yol kenarları, tarlalar ve ağır metalli maden atıkları üzerinde. Sirkumpolar Borea ılıman (Smith, 2004).

Subclass: Dicranidae
 Ordo: Pottiales
 Familia: Pottiaceae
 Genus: Syntrichia
 Species: *Syntrichia ruralis* (Hedw.) F. Weber & D. Mohr (Şekil 3.2)
Syntrichia laevipila Brid. (Şekil 3.3)
Syntrichia princeps (De Not.) Mitt. (Şekil 3.4)

Syntrichia ruralis

Üstü altınsî yeşil, alt kısım kırmızımsî, 1-8 cm boyunda, dioik bitkiler. Gövdeler merkezi öz taşımaz, yapraklar basık, lingulat, bazen orta kısmında kenarı iç çökük, ucu dairesel veya emarginat, optuz, tüy tabanda kırmızı uçta hiyalin, dişli, kosta kalın, hücreler orta laminada hegzagonal, yoğun dallanmış papillalı 12-16 µm, kapsül silindirik, hafifçe kıvrık, peristom tubular uçta spiral olarak kıvrık, spor 10-12 µm. Yaygın (Smith, 2004).



Şekil 3.2. *Syntrichia ruralis*' in doğal habitatında genel bir görüntüsü

Syntrichia laevipila

1.5-3 cm boyunda küçük karayosunları, kuruyken yapraklar kıvrık, ıslandığında yaygın duruşlu, genişçe spatulat, orta kısmında yaprak kenarı içe doğru girintili, kosta sağlam, küçük hiyalin bir çıkıntı oluşturur, orta ve üst lamina hücreleri hegzagonal 10-14 μm , bazal hücreler rektangular, gemmalar küçük yapraklar biçiminde, kapsül silindirik 2-3 mm, sporlar 14-20 μm , peristom alt kısımda tüpsü, epifitik bitkiler nadiren kaya veya duvarlar üzerinde. Submediterranean, Subatlantik (Smith, 2004).



Şekil 3.3. *Syntrichia laevipila*' nın doğal habitatında genel bir görüntüsü

Syntrichia princeps

1-4 cm uzunlukta sinoik bitkiler, gövdede merkezi öz bulunur. Yapraklar oblong-spatulat, kenarları orta kısma yakın bölgede içe çöküntü yapar, apeks dairesel, bazen emarginat, kosta kalın, hiyalin dişli ve tabanda kırmızı, orta lamina hücreleri hegzagonal 12-20 μm genişlikte, kapsül silindirik, hafifçe eğik, sporlar papilloz 12-14 μm . Yaygın (Smith, 2004).



Şekil 3.4. *Syntrichia princeps*' in doğal habitatında genel bir görüntüsü

3.2. YÖNTEM

Dicranella varia (AYDN 3404), *Grimmia dissimulata* (AYDN 3405), *Syntrichia princeps* (AYDN 3406) Aydın Balıkköy' den, *Syntrichia ruralis* (AYDN 3407), *Syntrichia laevipila* (AYDN 3408) Muğla, Ula Geyik Kanyonu, 2013-2014 yıllarının Mart-Nisan aylarında toplanmıştır. Toplanan örnekler laboratuvar koşullarında saklanmış ve her türe ait birer tüpe Adnan Menderes Üniversitesi Herbaryumunda (AYDN) saklanmıştır.

3.2.1. Spor Kapsüllerinin Sterilizasyonu ve Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması

Kültürler açılmamış spor kapsüllerindeki olgun spordan başlatılmıştır. Araziden toplanan sporofitli örnekler öncelikle stereo mikroskop altında karışmış olması muhtemel diğer türlerden ayrılmış ve kaba kirlerinden arındırılmıştır. Daha sonra taze, açılmamış spor kapsülleri steril kabin içerisine alınmış ve önceden hazırlanan eppendorf tüpleri içinde sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Spor kapsülleri % 1'lik ticari NaOCl'de 6 dakika tutulmak sureti ile sterilize edilmiş ve ardından steril distile su ile 3 kez durulanmıştır.

Spor süspansiyonlarını oluşturmak için, steril edilen kapsüller laminar akımlı çalışma kabini içinde steril pens ve disseksiyon iğnesi yardımı ile açılmış ve sporlar 1 ml distile su içeren eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Elde edilen spor süspansiyonlarından mikropipet ile yaklaşık 10 mikrolitre alınmış ve steril koşullarda 25 ml ortam içeren 90 mm çapındaki steril petrilere aktarılmıştır.

3.2.2. Denemelerde Kullanılan Besi Ortamlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu

In vitro çimlenme denemelerinde spor çimlenmesi üzerine ortam bileşenlerinin etkisini araştırmak için distile su (DS), Murashige ve Skoog (MS) (Murashige and Skoog, 1962) ve yarı-güçlü MS ortamları temel ortamlar olarak kullanılmıştır (Çizelge 1). Çimlenmeyi teşvik etmek amacı ile ortamlara 1, 3 ve 10 μ M gibberellik asit (GA_3) ilave edilmiştir. Ayrıca sukroz konsantrasyonunun çimlenme üzerine etkisini araştırmak için sukrozsuz ve % 1.5 (w/v) sukroz içeren ortamlar kullanılmıştır.

In vitro koşullarda gelişen protonemalar gametofit farklılaşması üzerine eksojen uygulanan bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisini araştırmak için, oksinler [Indol-3-asetik asit (IAA) ve Indol-3-bütirik asit (IBA): 0.1, 1 ve 2 mg/L] ve sitokininler [Benzil adenin (BA), Kinetin (KIN): 0.5, 1 ve 2 mg/L] ile desteklenmiş ortamlara aktarılmıştır. Bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen ortamlar kontrol olarak kullanılmıştır.

Denemelerde kullanılan Distile su ortamı, agar ve sukroz dışında hiçbir ilave bileşen içermemektedir. MS ve yarı-güçlü MS (1/2 MS) ortamları aşağıda belirtildiği şekilde hazırlanmıştır:

Besi ortamının içerdđi makro besin elementleri ayrı ayrı tartılarak, bir litrelik erlen içerisine konulmuş ve bir miktar distile su içerisinde çözüldürülmüşlerdir. Mikro besin elementleri ve vitaminler için ise stok çözeltiler hazırlanmıştır. Stok çözeltiler, 5 ml içerisinde kullanılması gereken miktar olacak şekilde, 100 ml lik stoklar halinde hazırlanmıştır. Stok çözeltiler daha sonra koyu renkli şişelere aktararak +4 °C'de karanlıkta muhafaza edilmiştir. Önceden hazırlanmış olan bu stoklardan 5 er ml lik pipetlerle çekilerek erlene ilave edilmiş ve istenilen sukroz miktarı eklenerek hepsi birlikte distile suda çözüldürülmüşlerdir.

Besi ortamlarının pH ayarı 0.1 N NaOH ve 0.1 N HCl çözeltileri ile (Barnes, 1979; Fonnesbech and Fonnesbech, 1980) 5.8' e ayarlanmıştır.

Hazırlanan besi ortamlarının katılaştırılması için 8 gr/L agar-agar (Sigma) kullanılmıştır. Toz halindeki 8 gr agar erlende bulunan besi ortamına ilave edilmiş ve final hacmine tamamlanmıştır. Hazırlanan besi ortamında agarın çözümlenmesi ve homojenize olması için ortam benmaride yüksek derecede çalkalanmıştır. Besi ortamı homojen hale geldiğinde ağızları kapatıldıktan sonra otoklavda 105 kPa basınç altında 121°C'de 15 dakika sterilize edilmişlerdir. Sterilize edilen besi ortamları, otoklavdan çıkarılıp soğumaya bırakılmış, soğuduktan sonra kullanılıncaya kadar karanlık koşullar altında +4 °C' de dolapta saklanmıştır.

Ortamlara ilave edilen gibberellik asit (GA₃) için de 10µM / 1ml madde olacak şekilde stok solüsyonlar hazırlanmıştır (Smith, 1992; Franklin and Dixon, 1994; Gamborg and Philips, 1995; George, 1993). Stok çözeltiler koyu renkli şişelere aktararak +4 °C'de karanlıkta muhafaza edilmiştir. Çalışmalar sırasında laminar hava akımlı steril kabin içerisine alınan GA₃ çözeltisi steril enjektör yardımıyla

çekildikten sonra, enjektörün ucuna 0.22 µm'lik filtre takılarak çözelti steril bir erlene süzölmüştür. Bu şekilde steril edilen stok GA3, daha önceden steril edilmiş ortamlara hesaplanan miktarlarda (1, 3 ve 10 µM) eklenmiştir.

Denemelerde kullanılmak üzere, bitki büyüme düzenleyicileri için de stok çözeltiler hazırlanmıştır. Kinetin (KIN), Benzil adenin (BA) NaOH'de, indol-3-asetik asit (IAA) ve indol-3-butirik asit (IBA) EtOH' da çözümlenmiştir. Bitki büyüme düzenleyicilerinin stok çözeltileri 5 mL'sinde 1 veya 0.1 mg/L madde olacak biçimde 20-30 mL'lik hacimde hazırlanmış ve çözeltilerin pH'sı 5.0'e ayarlanarak koyu renkli şişelerde +4 °C'ta buzdolabında karanlıkta muhafaza edilerek, amacına uygun kültür ortamlarında kullanılmıştır (Smith, 1992; Franklin ve Dixon, 1994; Gamborg ve Phillips, 1995; George, 1993). Kullanılacak bitki büyüme düzenleyicilerinden gereksinim duyulan miktar, pipet veya mikropipet kullanılarak ortamlara ilave edilmiştir.

Çizelge 3.1. Çimlenme denemelerinde kullanılan Murashige ve Skoog (1962) ortamının bileşenleri ve miktarları

Makro elementler	mg/L
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
CaCl ₂ .2H ₂ O	440
KH ₂ PO ₄	170
Mikro Elementler	mg/L
KI	0.83
H ₃ BO ₃	6.20
MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.60
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
Na ₂ .EDTA	37.30
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.80
Vitaminler ve Organikler	mg/L
Myo-inositol	100
Nicotinic acid	0.50
Pyridoxine-HCl	0.50
Thiamin-HCl	0.10
Glycine	2.00
Sukroz	15 g/L
Agar	8 g/L
pH	5.8

3.2.3. Alet ve Ekipmanların Sterilizasyonu

Bütün *in vitro* çalışmaların gerçekleştiği laminar hava akımlı steril çalışma kabinin içi ve dışı kontaminasyonu engellemek için çalışmaya başlamadan önce %70 lik etil alkolle silinmiş ve sonrasında kabin içerisinde 1 saat UV lamba çalıştırılmıştır.

Sterilizasyon ve ekim sırasında kullanılacak mikropipet uçları, erlen, pens ve ependorf tüpleri alüminyum folyo ile sarılarak ve ağızları kapatılarak 105 kPa basınç altında 121°C de 20 dakika boyunca otoklavda sterilize edilmişler ve otoklavlama sonrası hızlı bir şekilde kabin içerisine alınmışlardır. Steril plastik petri ve mikropipetler ise alkollenerek direk kabin içerisine aktarılmıştır.

3.2.4. Kültür Koşulları

Kültürler 24±2 °C’de daimi karanlıkta ve 16/8 fotoperiyoda sahip iklim odasında inkübe edilmiştir (ışık yoğunluğu yaklaşık 20 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Altkültürleme 4 haftalık aralıklarla yapılmıştır.

3.2.5. Veri Toplama ve Örneklerin Görüntülenmesi

Spor çimlenme denemeleri, denenen ortam başına 2 petri içerecek şekildedir ve 3 kez tekrar edilmiştir. Kültür başlangıcından sonraki 4-8 hafta içinde spor çimlenme özellikleri ve farklı ortamlardaki spor çimlenme yüzdeleri belirlenmiştir. Bunun için her petriden tesadüfi olarak 100 spor optik mikroskop altında gözlenmiş ve germ tübü tarafından spor çeperi yırtılmış ve/veya 1-2 hücreli protonemaya sahip bir spor “çimlenmiş” olarak kabul edilmiştir.

Çimlenme ve protonema morfolojisine ilişkin görüntüler Olympus CX 31 optik mikroskoba eklenmiş Olympus E 330 digital fotoğraf makinesi veya Leica S8APO stereomikroskoba eklenmiş Leica EC3 digital fotoğraf makinesi ile elde edilmiştir. Örnekler ya kültür ortamında ya da ortamdan ayrılarak lamel üzerinde fotoğflanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Spor kapsüllerine uygulanan sterilizasyon protokolü başarılı olmuş ve % 100 oranında steril kültürler elde edilmiştir. Optik mikroskop altında yapılan gözlemler, tüm türlere ait sporların düzgün küresel yapıda ve isosporik olduğunu göstermiştir.

Daimi karanlıkta bırakılan türlere ait sporlar denenen tüm ortamlarda herhangi bir gelişme göstermemiştir. Şişme ve ardışık olarak gerçekleşen çimlenme süreci farklı türler için farklı ortamlarda sadece 16/8 saat fotoperiyod koşullarında gözlenmiştir. Karayosunlarında spor çimlenmesi için ışık gereksinimi türe özgüdür (Meyer, 1948). Pek çok araştırmacı çimlenmenin ilk evresi olan şişme için ışığın gerekli olmadığını, ancak final evresinin (protonemanın hücresel bölünmesi) tamamlanması için ışığın önemli olabileceğini belirtmektedirler (Silva vd., 2010). Ayrıca Valanne (1966) *in vitro* ortamda karbon kaynağı (örneğin sukroz) bulunmasını karanlıkta çimlenmeyi teşvik edici bir unsur olarak değerlendirmektedir. Bizim denemelerimizde denenen bazı ortamlarda karbon kaynağı olarak sukroz bulunmasına rağmen, karanlıkta çimlenme sürecinin şişme aşaması dahi gerçekleşmemiştir. Denemelerimizin sonuçlarına göre *Grimmia dissimulata*, *Dicranella varia*, *Syntrichia ruralis*, *Syntrichia laevipila*, *Syntrichia princeps* sporlarının şişme ve çimlenmesi ışığa bağımlıdır. Çimlenme sürecinin ışık koşulları sağlanıncaya dek bloke edilmesi önemli bir yaşam stratejisi olarak değerlendirilmektedir (Silva vd., 2010). Bu durum sporların ışığı alamayacağı bir yerde veya toprak altında çimlenmesini engellemektedir (Glime, 2007).

Ortamlara ilave edilen farklı konsantrasyonlardaki GA₃ spor çimlenmesini teşvik edici bir etki göstermemiştir.

4.1. *Grimmia dissimulata* E. Maier 'nın *In Vitro* Spor Çimlenmesi ve Erken Gelişim Evreleri

Bu türe ait sporların normal boyutu 8-13 µm aralığındadır. Kültür başlangıcından 4 hafta sonra *in vitro* ortamlarda şişmiş spor boyutu yaklaşık 20 µm'dir (Şekil 4.1). Bu süreden 10 gün sonra şişen sporlarda spor çeperi yarılmış, germ tübü oluşmuş ve 1-2 hücreli protonema gelişmiştir. *Grimmia dissimulata* sporlarının

çimlenmesi **ekzosporik** tiptedir. Çimlenme polaritesi çoğunlukla monopolar, nadir olarak bipolar yapıdadır (Şekil 4.2).

Denemelerimizde sadece %1.5 (w/v) sukroz içeren distile su ve sukroz içermeyen ½ MS ortamında şişme ve ardışık olarak çimlenme görülmüştür (çimlenme yüzdesi sırası ile % 94 ve % 51'dir). Diğer ortamlarda çimlenmenin herhangi bir aşaması gerçekleşmemiştir. MS ortamı yüksek mineral içerikli bir ortamdır. Yüksek mineral içeriğine sahip ortamlarda çimlenmeye ket vurulması mineral besleyici oranındaki artışın daha negatif ozmotik potansiyele neden olmasındandır. Sukroz içermeyen DS ortamında şişme ve çimlenme gözlenmemesine rağmen, %1.5 (w/v) sukroz içeren DS ortamında yüksek çimlenme yüzdesi (%94) görülmesi bu türün herhangi bir mineral madde içermeyen ortamda sporlarının çimlenmesi için bir karbon kaynağına ihtiyaç duyduğunu göstermektedir. Ekzojen ilave edilmiş sukrozun çimlenmeyi teşvik ettiği Vujičić vd. (2010) tarafından da rapor edilmiştir. Ancak %1.5 (w/v) sukroz içeren ½ MS ortamında çimlenme gerçekleşmezken, sukroz içermeyen ½ MS ortamında çimlenme % 51 civarındadır. Biryofit spor çimlenmesinde mineral madde gereksinimi hakkında çok az bilgi vardır (Inoue, 1960; Voth, 1943; Voth ve Hamner, 1940). Mineral madde ve sukrozun her ikisini içeren ortamda çimlenmeye ket vurulmasının olasılıkla mineral maddeler ve sukrozun negatif interaksiyonu nedeni ile olabileceği düşünülmektedir.

Çimlenen sporda oluşan protonemal başlangıç hücresi bazı durumlarda kendisini oluşturan hücreye yapışık ikizi gibi görünebilir (Şekil 4.3). Bu hücrenin bir uç kısmı kolayca algılanabilir ki genellikle obtuz uçludur, nadiren akut görünümlü olanlara da rastlanabilir. Aslında yukarıda bahsedilen ikiz görünümün nedeni hücrelere arka cephelerinden bakıyor olmamızdır. Bu durumu takiben gerçekleşen ilk bölünme ile uzun silindirik kloronemal hücreler oluşurken söz konusu hücrede uzayıp incelmeye başlar (Şekil 4.3). Protonemal silindirik hücreler çoğunlukla 20 µm' den uzundur.

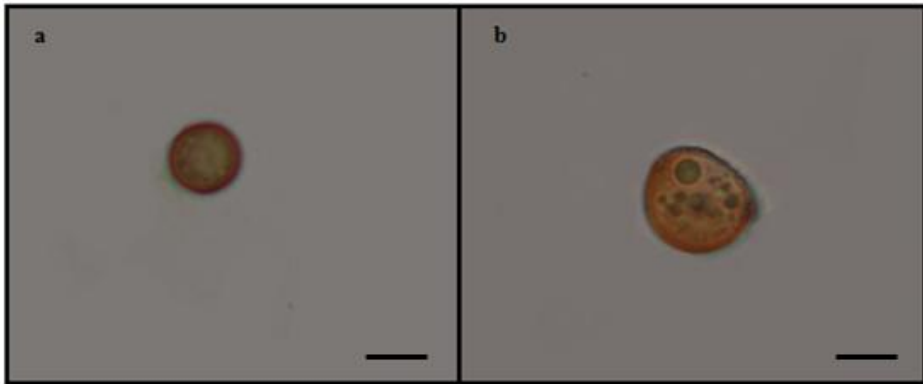
Spor çimlenmesi ve başlangıç protonemal gelişim açısından değerlendirildiğinde türe ilişkin sporeling tipi olasılıkla **Bryum** tiptir. Bu sporeling tipi uzun silindirik hücreler içeren ipliksi protonema formu ile karakterize edilmektedir ve sadece kloronema ve/veya kloronema ve kaulonema 'nın her ikisini de içermektedir

(Nehira, 1983). Bizim denemelerimizde kaulonemal filamentlerin varlığına rastlanmamıştır.

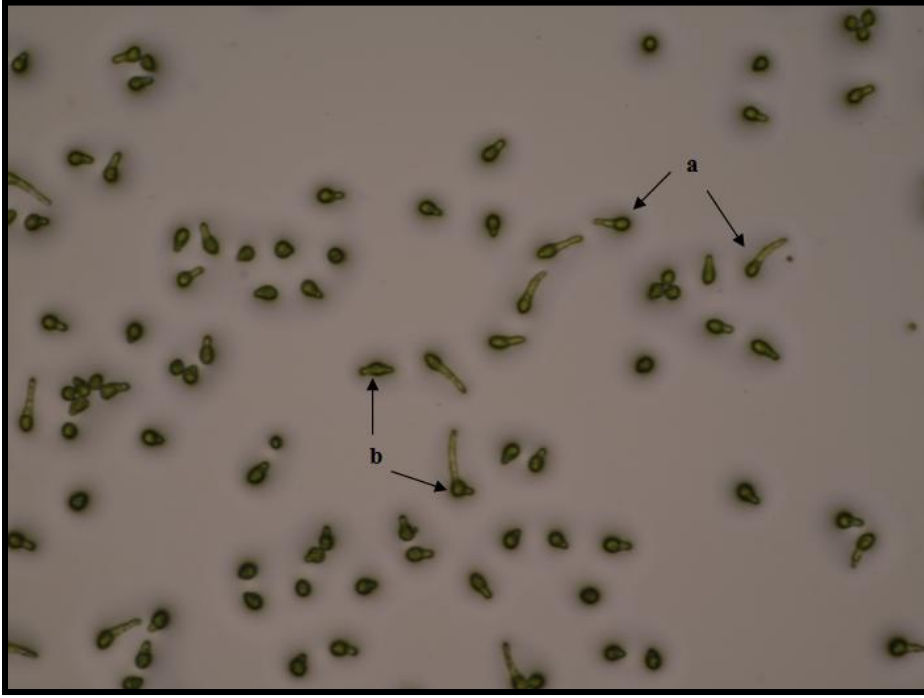
Her iki ortamda da başlangıç kloronemal dallanma ve gelişim açısından belirgin bir farklılık görülmemiştir. Bu ortamlarda çimlenmiş spordardan; bol yuvarlak kloroplastlı, uzun silindirik ve vertikal septalı hücreler içeren kloronemalar gelişmiştir. Gelişimin erken evrelerinde ana kloronema filamentinin üzerinde çok sayıda primer kloronemal dal oluşumu gerçekleşmiş, bunları sekonder dallar izlemiştir (Şekil 4.4).

Her iki ortamda gelişen protonemalar benzer morfolojiye sahiptir (Şekil 4.5 ve 4.6) ve protonemal gelişime rağmen, yaklaşık 3 ay sonra gametofor farklılaşması gerçekleşmemiştir.

Gametofor farklılaşması üzerine eksojen olarak ilave edilmiş bitki büyüme düzenleyicilerine herhangi bir cevap gelmemiş ve gametofor farklılaşması gerçekleşmemiştir. Kültür başlangıcından yaklaşık 3 ay sonra gelişim kloronemal evrede durmaktadır.



Şekil 4.1. *Grimmia dissimulata*' da a. normal spor b. şişmiş spor (Bar: 10 μ m)



Şekil 4.2. *Grimmia dissimulata*' da a. monopolar çimlenmiş sporlar b. bipolar çimlenmiş sporlar



Şekil 4.3. *Grimmia dissimulata*' da ikiz görümlü hücreler a. obtuz uç b. akut uç c.uzayan kloronemal iplik

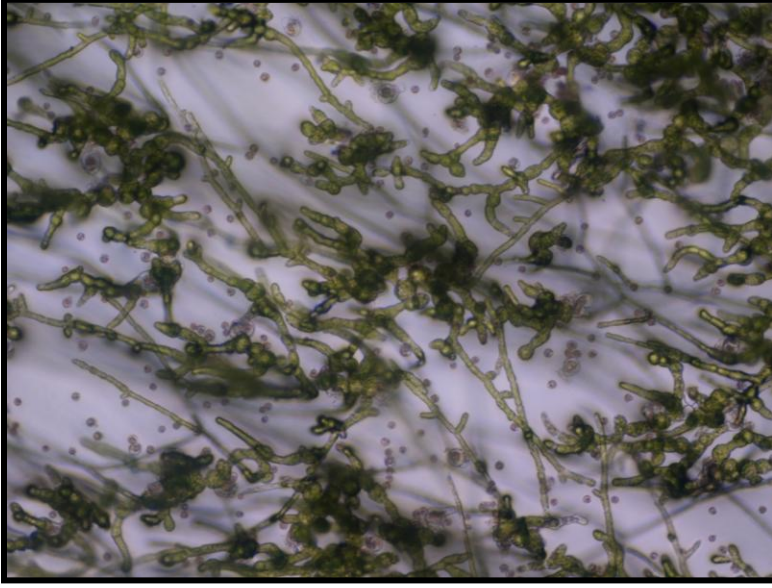


4.4. *Grimmia dissimulata*' da primer ve sekonder dallanmalar

Şekil



Şekil 4.5. *Grimmia dissimulata*'da %1.5 (w/v) sukroz içeren DS ortamında gelişmiş kloronemal iplikler



Şekil 4.6. *Grimmia dissimulata*'da sukroz içermeyen ½ MS ortamında gelişmiş kloronemal iplikler

4.2. *Dicranella varia* (Hedw.) 'nın *In Vitro* Spor Çimlenmesi ve Erken Gelişim Evreleri

Bu türe ait sporların normal boyutu 25-28 µm aralığındadır. Kültür başlangıcından yaklaşık 7 hafta sonra *in vitro* ortamlarda şişmiş spor boyutu 36-40 µm'ye ulaşmıştır (Şekil 4.7). Bu süreden yaklaşık 10 gün sonra şişen sporlarda spor çeperi yarılmış, germ tübü oluşmuş ve 1-2 hücreli protonema gelişmiştir. *Dicranella varia* sporlarının çimlenmesi **ekzosporik** tiptedir. Çimlenme polaritesi çoğunlukla monopolar, nadir olarak bipolar yapıdadır (Şekil 4.8).

Denemelerimizde sukroz içermeyen ve % 1.5 (w/v) sukroz içeren Distile su ve sukroz içermeyen ½ MS ortamında şişme ve ardışık olarak çimlenme görülmüştür (çimlenme yüzdesi sırası ile % 48, % 50 ve % 56'dır). Diğer ortamlarda çimlenmenin herhangi bir aşaması gerçekleşmemiştir. Distile su ortamına ilave edilen sukroz çimlenme yüzdesini çok düşük oranda arttırmış ve çimlenme süresini az da olsa azaltmıştır. Sukroz ilaveli ortamlarda çimlenmenin teşvik edilebileceği Sabovljević vd. (2012) ve Vujičić vd. (2011) tarafından da rapor edilmiştir.

En yüksek çimlenme yüzdesi sukroz içermeyen ½ MS ortamında (%56) elde edilmesine rağmen, sukroz içeren ½ MS ortamında çimlenme engellenmiştir. Mineral madde ve sukrozun her ikisini içeren ortamda çimlenmeye ket vurulması olasılıkla mineral maddeler ve sukrozun negatif interaksyonu nedeniyledir.

Başlangıç protonemal gelişim her 3 ortam tipinde de benzerlik göstermektedir. İlk oluşan subgloboz-globoz hücreleri, uzamış silindirik hücreler izler. Dalın apikal hücresi aşağı-yukarı obtuz-dairesel sonlanır. Bazı dallarda ise yoğun ve hızlı bölünmeden dolayı hücreler oldukça sık yerleşimlidir. Bu durumdaki dallarda karemsi-kısa dikdörtgen hücrelerin arasına kama biçimli hücreler yerleşir. Protonemal dalların hücre tipi açısından sürekli aynılık göstereni bulunmamakla beraber sık hücre yerleşimli olanlar ve bunlar arasında veya uçlarında uzun silindirik hücrelerden oluşan kısımlar topluca bir bütünlük sergilerler ve kabul edilebilir bir morfolojik görünüm birliği sunarlar. Uzun silindirik hücrelerin farklı noktalarından globoz hücreler oluşur. Bu hücreler yandan bakıldıklarında ana dala bağlı yeni dalcık başlangıcı olduklarını düşündüren görünüme sahiptirler. Uzun silindirik hücre uzunlukları, 2-3 ile 10-15 kısa dikdörtgen-karemsi hücre uzunluğu/boyutu arasındadır. Uç kısımlarındaki hücreler çoğunlukla spatulat-obtuz biçimlidir (Şekil 4.9 ve 4.10). Bu hücrelerde kloroplastlar seyrek dağılımlı ve nispeten daha az kalabalıktır. Halbuki dalın sık hücreli kısımlarında hücre boyutlarının küçülmesi yoluyla kloroplastlar olduklarından daha kalabalık görünürler.

Sık yerleşimli hücrelerden oluşan dal/dalcıklar, bunları izleyen veya öncesinde gözlenen uzun silindirik hücreli kısımlar her üç tip ortamda da görülmektedir (şekil 4.11, 4.12 ve 4.13). Ancak %1.5 (w/v) sukroz içeren DS ortamında uzun silindirik hücrelerden oluşmuş dalların belirgin biçimde baskın olduğu gözlenmiştir. Bu durumun nedeni olarak şeker varlığının etkili olup olmadığı konusu açıklığa kavuşmamıştır. Nitekim daha ileri evrede sık yerleşimli hücrelerden oluşan görece sıkışık dal/dalcıkların sayısının belirgin biçimde artması bu görüşümüzü destekler niteliktedir. Bu ortamda gelişen protonemanın üzerinde yine dallanma noktalarında globoz-subgloboz hücreler oluşmaktadır.

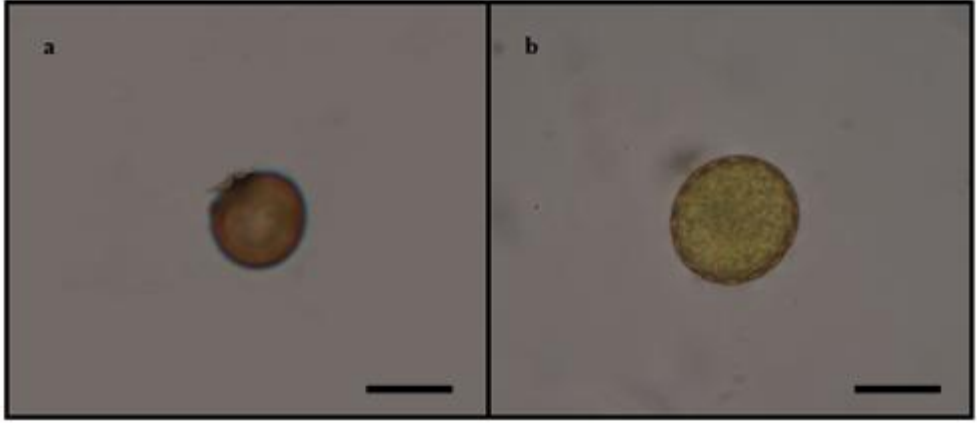
Fizyolojik bir süreç olan çimlenme, distile su gibi besin maddesi içermeyen ortamlarda gerçekleşebilir (Meyer, 1948; Mogensen, 1978; Olesen ve Mogensen, 1978). Ancak besleyiciler protonema gelişiminde önemlidir (Nishida, 1978; Nehira, 1983, 1988; Duckett vd., 2004). Bu gelişim sürecinde seyreltilmiş kültür

solüsyonları tercihi araştırcılar tarafından not edilmiştir (Voth, 1943; Awasthi vd., 2010a,b). Protonemal gelişim sürecinde uygun olmayan koşullar protonema morfolojisini etkileyebilmektedir. Ancak *Dicranella varia*' da ortam farkı protonema morfolojisini belirgin bir şekilde etkilememiştir. Sadece sukroz içeren ortamlarda gelişim biraz daha hızlıdır.

Spor çimlenmesi ve ilk oluşan subgloboz-globoz hücreleri, uzamış silindirik hücrelerin izlemesi bulguları dikkate alındığında *Dicranella varia*' nın sporeling tipi *Bryum* tiptir. Kùltürlerde klonemanın yanı sıra kaulonema da gözlenmiştir.

Sukroz içeren ve sukroz içermeyen DS ortamlarında yeni farklılaşmış kaulonema, klonemal geçişinden kalan bolca kloroplastı taşıyabilir. Bu genç kaulonema ipliği üzerinde gametofor başlangıçlarına rastlamak olasıdır (şekil 4.14). Sukroz içermeyen DS ortamında gametofor başlangıcı genç bir yapraklı tomurcuk görünümünden ziyade globoz hücre yığınlarından oluşmuş kallus benzeri bir biçime sahiptir (şekil 4.15). Sukroz içeren DS ortamında ise gametofor başlangıçları yine yoğun hücrelerden oluşmuş ancak kompakt kitleler formundadır (şekil 4.16). İlerleyen dönemlerde her iki form da hemen normalleşir ve gametofor alışıldık gametofit görünümüne kavuşur (şekil 4.17). Her iki ortamda da gametofit sayısı petri başına yaklaşık 90 gametofittir. İki ortamda elde edilen gametofit bireylerin gelişmişlik açısından farkları yalnızca gelişme sürelerinde görülür (şekil 4.18-4.19). Sukroz içeren ortamda gelişim daha hızlıdır.

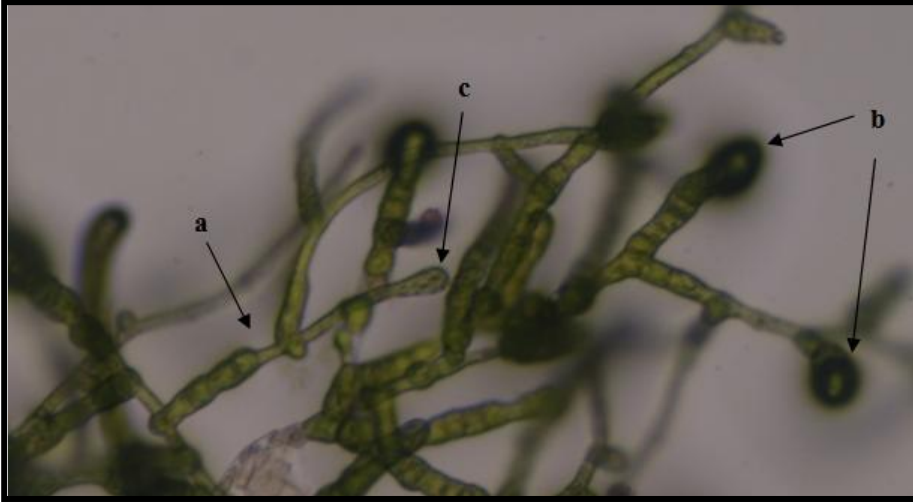
Her iki ortamda da kùltür başlangıcından yaklaşık 6 ay sonra gametofitler sağlıklı bir şekilde yaşamaya devam etmiştir. Son araştırmalar klorofilli eksplant ve/veya bitkilerin şeker içermeyen (fotoototrofik) *in vitro* kùltür koşullarında büyüyebilme yeteneğinde olduğunu göstermektedir (Xiao vd., 2010). Ancak, hiçbir mineral madde içermeyen agar ile katılaştırılmış DS ortamında çimlenme, protonemal gelişim ve sağlıklı gametofit yapısı görülmesi oldukęa ilginçtir. Bu durum türün hemen her türlü substratta geniş yayılışını bir ölçüde ağıklar niteliktedir.



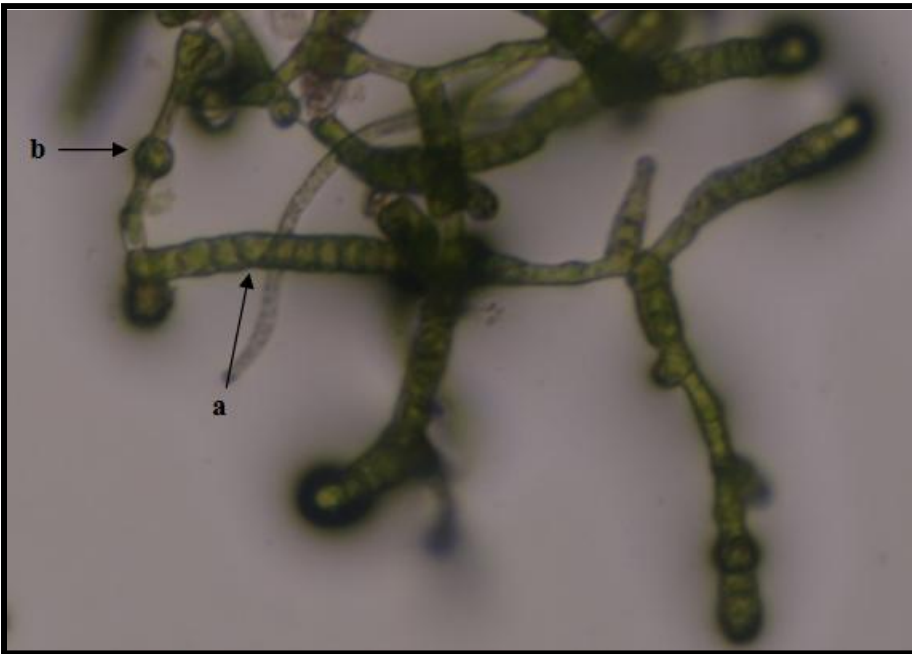
Şekil 4.7. *Dicranella varia*' da a. normal spor b. şişmiş spor (Bar: 30 µm)



Şekil 4.8. *Dicranella varia*'da a. monopolar çimlenmiş spor b. bipolar çimlenmiş spor



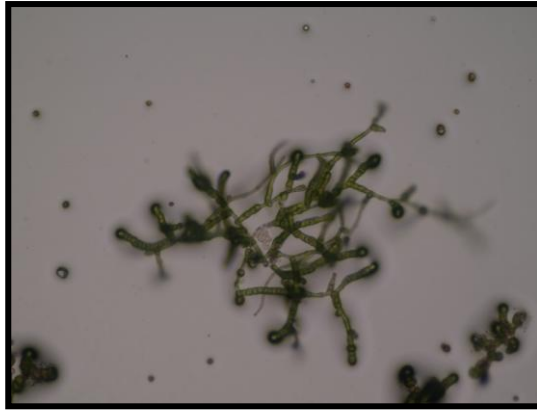
Şekil 4.9. *Dicranella varia*' da a. Subgloboz-globoz hücrelerin silindirik hücrelere dönüşümü b. obtuz-dairesel apikal uç c. spatulat-obtuz apikal uç



Şekil 4.10. *Dicranella varia* 'da a. kama biçimli hücre b. globoz dal başlangıç yeri



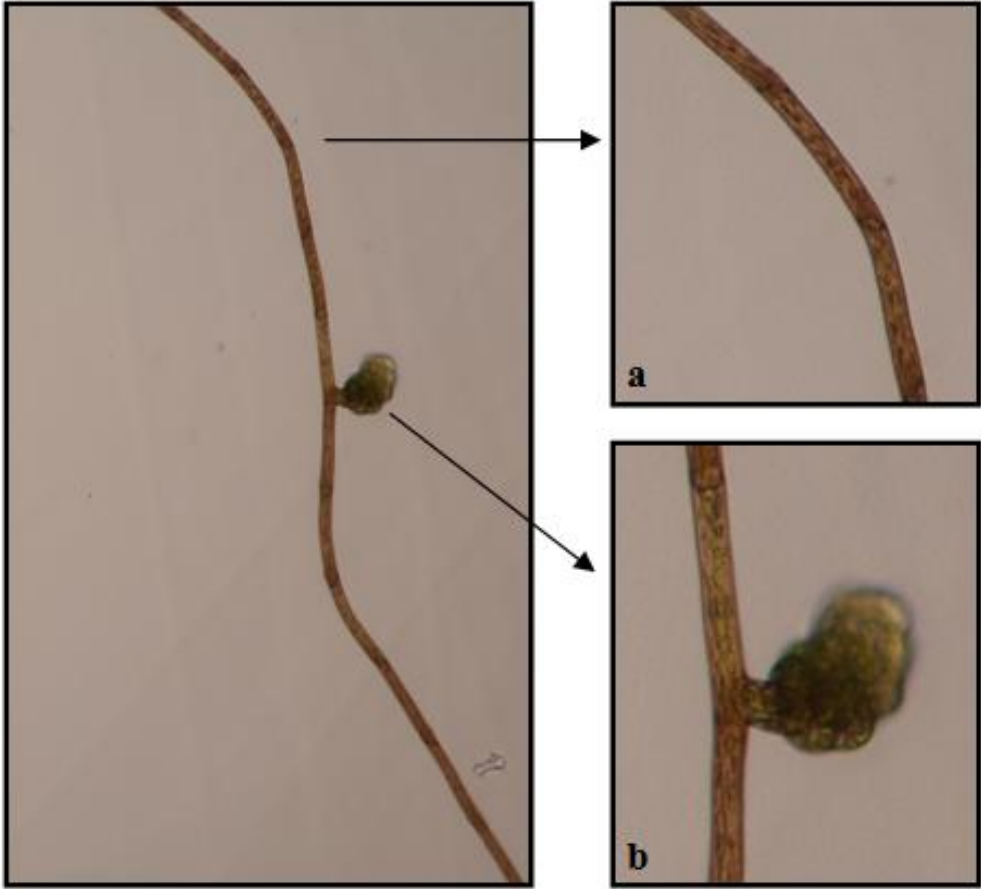
Şekil 4.11. *Dicranella varia*' da % 1.5 (w/v) sukroz içeren DS ortamında gelişen kloronemal iplikler



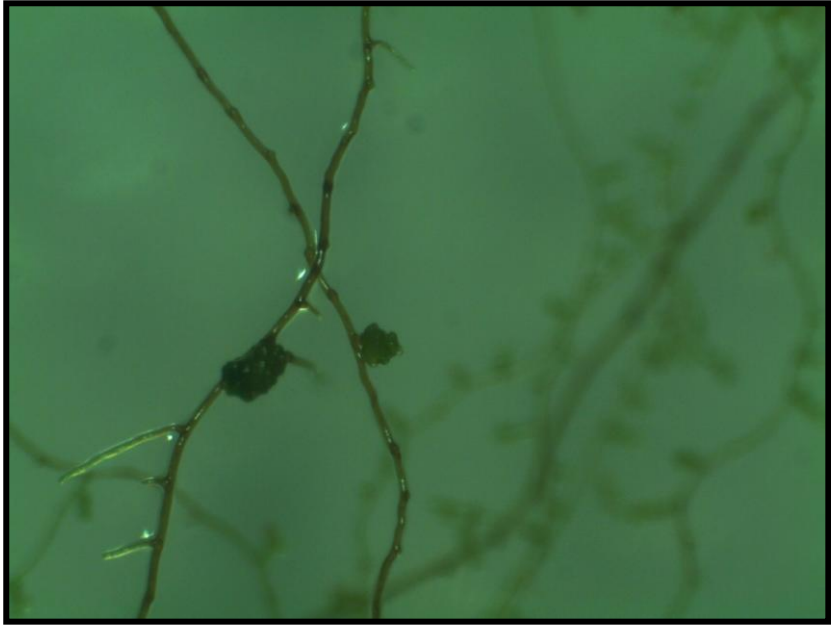
Şekil 4.12. *Dicranella varia*' da sukroz içermeyen DS ortamında gelişen kloronemal iplikler



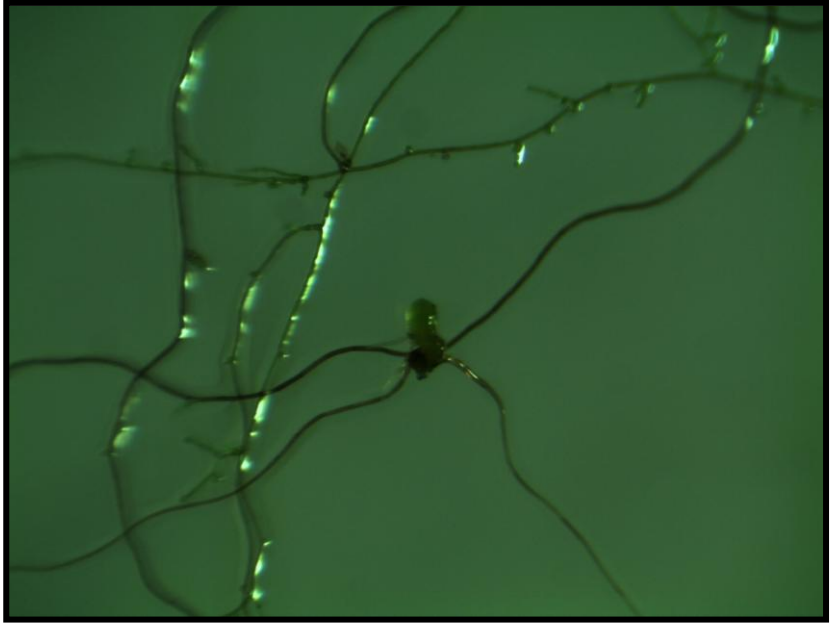
Şekil 4.13. *Dicranella varia*' da sukroz içermeyen 1/2 MS ortamında gelişen kloronemal iplikler



Şekil 4.14. *Dicranella varia*' da a. kaulonema b. kallus benzeri yapıda gametofor tomurcuğu



Şekil 4.15. *Dicranella varia* 'da sukroz içermeyen DS ortamında oluşmuş kallus benzeri gametofor tomurcuğu



Şekil 4.16. *Dicranella varia* 'da % 1.5 (w/v) sukroz içeren DS ortamında oluşmuş gametofor tomurcuğu



Şekil 4.17. *Dicranella varia*'da yapraksı gametofit oluşumu



Şekil 4.18. *Dicranella varia*'da sukroz içermeyen DS ortamında gelişmiş yapraksı gametofit



Şekil 4.19. *Dicranella varia*' da % 1.5(w/v) sukroz içeren DS ortamında gelişmiş yapraksı gametofit

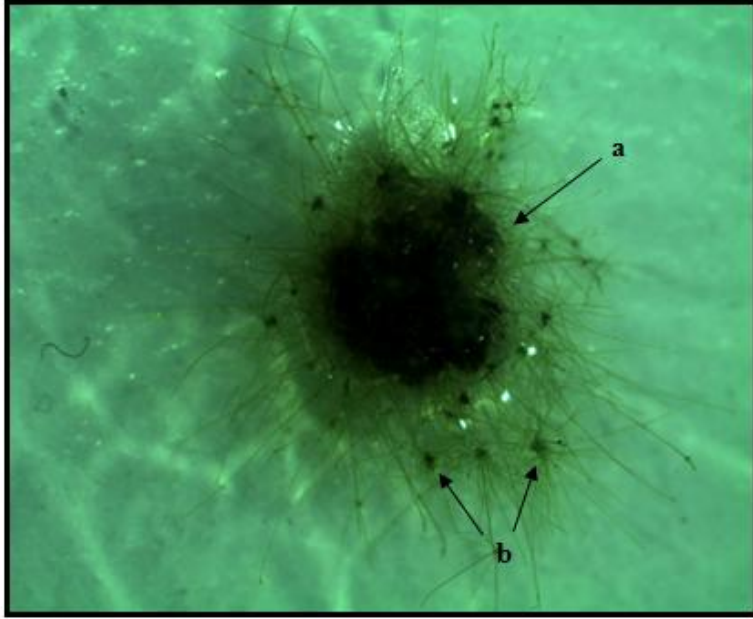
$\frac{1}{2}$ MS ortamında kaulonemal gelişim ve gametofit farklılaşması gözlenmemiştir. Gametofit farklılaşması üzerine bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisinin araştırıldığı denemelerde yaklaşık 2 mm çapındaki protonemal parçalar sitokinin ve oksinlerin farklı konsantrasyonlarını içeren $\frac{1}{2}$ MS ortamlarına inkübe edilmiştir. Sitokininlerin bazı karayosunu türlerinde tomurcuk oluşumunu teşvik ettiği araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Bopp, 1968; Valadon ve Mummery, 1971). Ancak bizim denemelerimizde sitokininlere cevap, 2 mg/L KIN içeren ortamda canlılığın devamı ve 1mg/L KIN içeren ortamda ise canlılık ve kalluslaşma şeklindedir (Şekil 4.20) . 1mg/L KIN içeren ortamda oluşan kalluslar yaklaşık 1 ay sonra belirli bir kitleye ulaşmış ve bu kalluslardan sekonder kloronemal dallar oluşmuştur. Bu dallardaki hücrelerden bir müddet sonra minik kalluslar gelişmeye başlamıştır. BA'nın hiçbir konsantrasyonunda gametofit farklılaşması meydana gelmediği gibi, protonemalar canlılıklarını yitirmişlerdir (Tablo 4.1).

Sitokinin içeren ortamlarda gametofit farklılaşmasının sağlanamaması, olasılıkla hücrelerde spontan oluşan endojen sitokinin sentezi ile ilişkilidir. Endojen ve

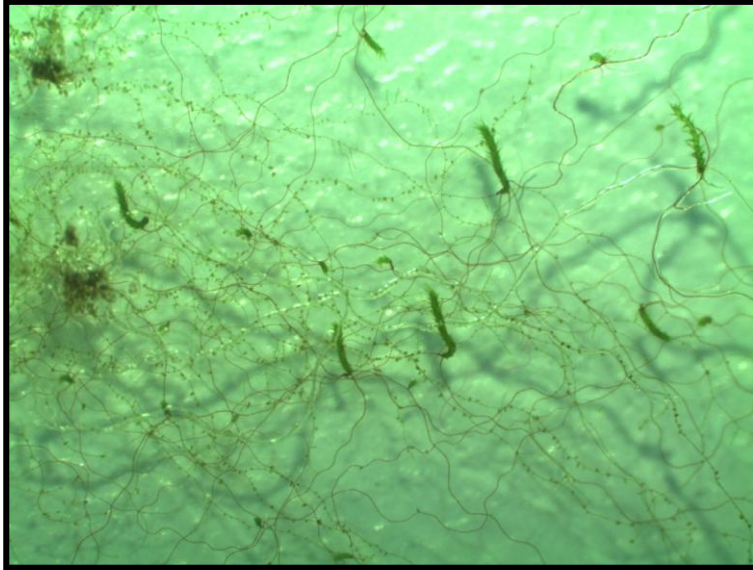
ekzojen sitokinin dengesi farklılaşmayı hatta protonemal gelişimi inhibe etmiştir. Denemelerimizin sonuçları gametofit farklılaşmasının ekzojen uygulanan oksin tipi ve konsantrasyonuna bağlı olduğunu göstermektedir. 1 ve 2 mg/L IAA ve 2 mg/L IBA içeren ortamlarda protonemal canlılık devam etmektedir. Sadece 1 mg/L IAA içeren ortamda gametofit farklılaşması gerçekleşmiştir (yaklaşık 130 gametofit/petri) (Şekil 4.21). Diğer hiçbir konsantrasyonda gametofit farklılaşması görülmemiştir. Gametofit farklılaşması üzerine oksin etkisinin konsantrasyona bağlı olduğu Bijelović vd. (2004) tarafından da rapor edilmiştir.

Çizelge 4.1. *Dicranella varia*'da canlılık ve gametofit farklılaşması üzerine ekzojen olarak uygulanan fitohormonların etkisi

	Protonemal canlılık	Gametofit farklılaşması	Kalluslaşma
0.1 mg/L IAA	-	-	-
1 mg/L IAA	+	+	-
2 mg/L IAA	+	-	-
0.1 mg/L IBA	-	-	-
1 mg/L IBA	-	-	-
2 mg/L IBA	+	-	-
0.5 mg/L KIN	-	-	-
1 mg/L KIN	+	-	+
2 mg/L KIN	+	-	-
0.5 mg/L BA	-	-	-
1 mg/L BA	-	-	-
2 mg/L BA	-	-	-



Şekil 4.20. *Dicranella varia*' da 1mg/L KIN içeren ortamda a. ana kallus b. sekonder kloronemal dallar üzerinde yeni oluşan kalluslar



Şekil 4.21. *Dicranella varia*' da 1 mg/L IAA içeren ortamda gametofit farklılaşması

4.3. *Syntrichia ruralis* (Hedw.) F. Weber & D. Mohr 'in *In Vitro* Spor Çimlenmesi ve Erken Gelişim Evreleri

Bu türe ait sporların normal boyutu 10-12 µm aralığındadır. Kültür başlangıcından yaklaşık 6 hafta sonra *in vitro* ortamlarda şişmiş spor boyutu 40-50 µm'ye ulaşmıştır. *Syntrichia ruralis* sporlarının çimlenmesi **ekzosporik** tiptedir. Şişen sporlarda spor çeperi yarılmış ve iki hücre oluşturan çeper oluşumu gerçekleşmiştir. Daha sonraki bölünmelerle 1-2 globoz hücreli masif protonema gelişmiştir. Primer protonemada masif globoz hücre yumakları daha sonra klononema ve kaulonema formundaki filamentli protonemayı oluşturmuştur. Bu özellikler *Syntrichia ruralis*' in sporeling tipinin *Encalypta* tip (Nehira, 1983) olduğunu düşündürmektedir. Çimlenme polaritesi çoğunlukla monopolar, nadir olarak bipolar yapıdadır (Şekil 4.22).

Denemelerimizde sadece % 1.5 (w/v) sukroz içeren Distile su ortamında şişme ve ardışık olarak çimlenme görülmüştür (çimlenme yüzdesi % 34). Diğer ortamlarda çimlenmenin herhangi bir aşaması gerçekleşmemiştir. Sukroz içermeyen DS ortamında çimlenme gerçekleşmemesine rağmen sukroz ilaveli ortamda çimlenme görülmesi çimlenme için sukrozun etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Sukroz ilaveli ortamlarda çimlenmenin teşvik edilebileceği Sabovljević vd. (2012) ve Vujičić vd. (2011) tarafından da rapor edilmiştir.

Denemelerimizde sporlar çok yoğun olarak kültüre alındığında, spor yığınının kallusvari bir görünüm aldığı ve kararmaya uğradığı gözlenmiştir. Spor yoğunluğunun gelişimde self-inhibisyona neden olduğu düşünülmektedir. Ancak bir müddet sonra bu kararın yığın üzerinde yeniden klononemal iplikler görülmüştür (Şekil 4.23). İlerleyen sürelerde kaulonemaya dönüşüm gerçekleşmemiştir.

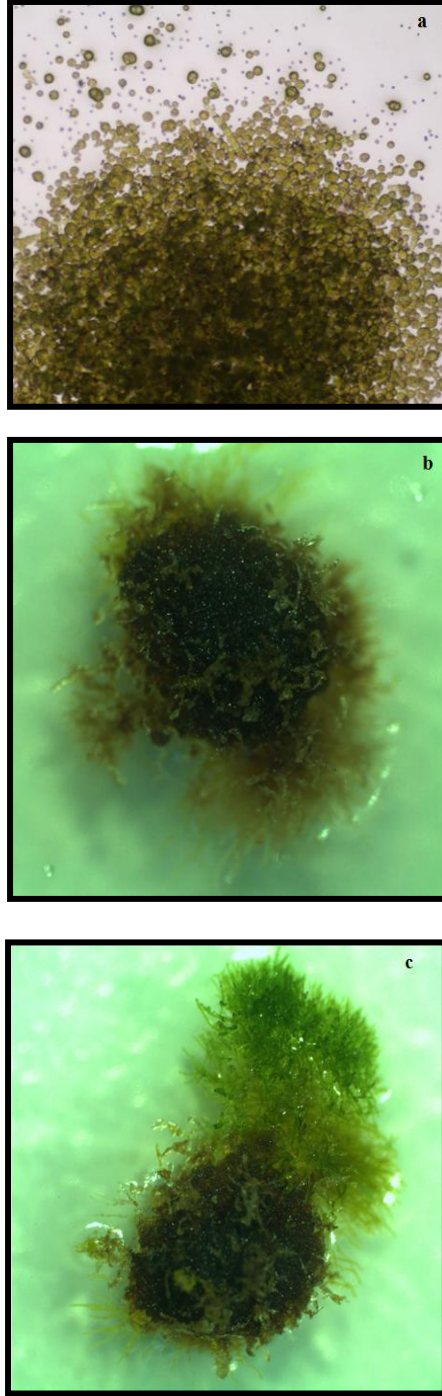
Seyrek olarak kültüre alınmış sporlardan gelişen uzun silindirik hücrelerden oluşan klononemal iplikler hafifçe boğumlu görünüme kavuşmakta ve bu boğumlar giderek globoz hücrelerden oluşan tesbihsi bir görünüm almaktadır. Bu tesbihlerin uç kısımları uzun silindirik hücrelerden oluşur ve dallanmaların artışıyla klononemal yayılım devam eder. (Şekil 4.24). Kaulonemaya dönüşüm hızlıdır ve ortam yeşilden ziyade kahverengi görünüm alır (Şekil 4.25). Ortamda şeker varlığının kaulonema farklılaşmasını teşvik ettiği Vujičić vd. (2011) tarafından da rapor edilmiştir. Ancak denemelerimizde kaulonemal hücrelerden gametofor

farklılaşması gerçekleşmemiştir. Sabovljević vd. (2012)' de şeker varlığında spor çimlenmesinin teşvik edildiğini ancak Vujičić vd. (2011)' nin gözlemlerinin tersine gametofit gelişimi ve kaulonema oluşumunun durduğu rapor etmişlerdir.

Gametofor farklılaşması üzerine eksojen olarak ilave edilmiş bitki büyüme düzenleyicilerine herhangi bir cevap gelmemiş ve gametofor farklılaşması gerçekleşmemiştir. Kültür başlangıcından yaklaşık 6 ay sonra gelişim kaulonemal evrede durmaktadır.



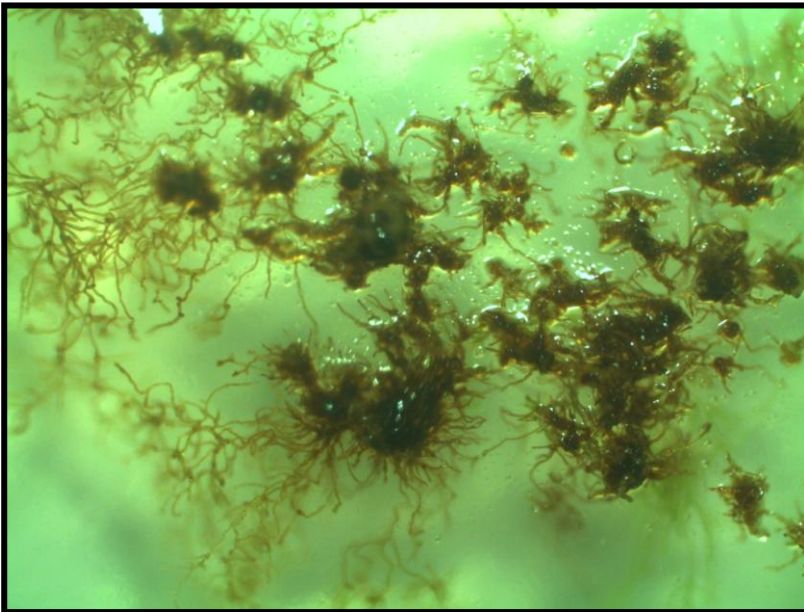
Şekil 4.22. *Syntrichia ruralis*' de a. globoz hücreli masif protonema oluşumu b. monopolar çimlenmiş sporlar c. bipolar çimlenmiş spor



Şekil 4.23. *Syntrichia ruralis*' de a. yoğun spor yığıını b. spor yığınının kalluslaşıp kararması c. yeni gelişen kloronemal iplikler



Şekil 4.24. *Syntrichia ruralis*' de %1.5 (w/v) sukroz içeren DS ortamında gelişmiş protonemalar



Şekil 4.25. *Syntrichia ruralis*' de %1.5 (w/v) sukroz içeren DS ortamında kaulonemal görünüm

4.4. *Syntrichia laevipila* Brid.'nın *In Vitro* Spor Çimlenmesi ve Erken Gelişim Evreleri

Bu türe ait sporların normal boyutu 16-20 μm 'dir. Kültür başlangıcından yaklaşık 4 hafta sonra *in vitro* ortamlarda şişmiş spor boyutu 35-40 μm aralığındadır (Şekil 4.26). Bu süreden yaklaşık 10 gün sonra şişen sporlarda spor çeperi yarılmış, germ tübü oluşmuş ve 1-2 hücreli protonema gelişmiştir. *Syntrichia laevipila* sporlarının çimlenmesi **ekzosporik** tiptedir. Çimlenme polaritesi çoğunlukla monopolar, nadir olarak bipolar yapıdadır (Şekil 4.27). Başlangıç protonema uzun, silindirik hücreleri içermektedir. Spor çimlenmesi ve başlangıç protonemal gelişim açısından değerlendirildiğinde türe ilişkin sporeling tipi olasılıkla *Bryum* tiptir.

Denemelerimizde sadece % 1.5 (w/v) sukroz içeren distile su ortamında şişme ve ardışık olarak çimlenme görülmüştür (çimlenme yüzdesi % 54). Diğer ortamlarda çimlenmenin herhangi bir aşaması gerçekleşmemiştir. Sukroz içermeyen distile su ortamında çimlenmenin gerçekleşmemesine rağmen, sukroz ilaveli ortamda çimlenme görülmesi çimlenme için sukrozun etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Sukroz ilaveli ortamlarda çimlenmenin teşvik edilebileceği Sabovljević vd. (2012) ve Vujičić vd. (2011) tarafından da rapor edilmiştir.

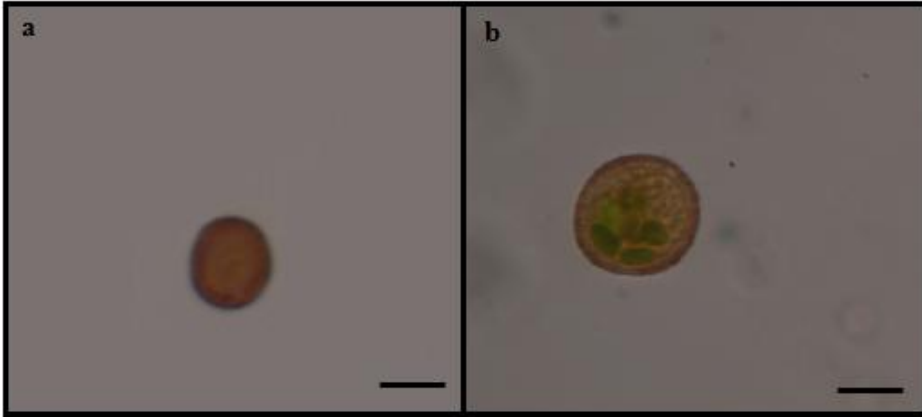
Protonemanın ilk dallanma noktası spor hücresine yakın gerçekleşmektedir. Bu bazen 3. hücreden dallanma başlangıcı olarak gözlenebilir. Fakat aynı zamanda 300 μm den uzun hiç dallanmamış uzun silindirik hücrelerden oluşan protonemal iplikler görülür (Şekil 4.28). Oluşan ikincil ve üçüncül dallarda silindirik hücrelerin hafifçe şişkinleşme yaptıkları da gözlenmiştir. Bu şişkinleşmiş hücreler yeni dal başlangıçlarının doğum noktalarıdır. *S.laevipila* türünün kloronemal iplikleri çok zaman geçirmeden ve daha fazla dallanmadan kaulonemaya dönüşme eğilimindedir (Şekil 4.29).

Kaulonemaya dönüşüm sırasında bazı ipliklerde, şişkin globoz hücrelerden oluşmuş toplulukların parçalanarak, birkaç hücreli ya da tekil isodiametrik iri hücrelere ayrıldığı ve canlılıklarını korudukları gözlenmiş olup, söz konusu hücrelerin iplik oluşturmaya devam edeceği izlenimi edinilmiştir. Çimlenmenin devamında ortamın kalabalıklaşması nedeniyle bu görüşe net kanıtlar gözlenememiş olmasına rağmen, bu hücrelerin tmema hücresi (absisyon hücreleri) olarak yorumlanması tercih edilmiştir (Şekil 4.30). Tmema hücreleri, vejetatif üreme için protonemal filamentlerden ayrılan işlevsel hücrelerdir. Bu hücreler

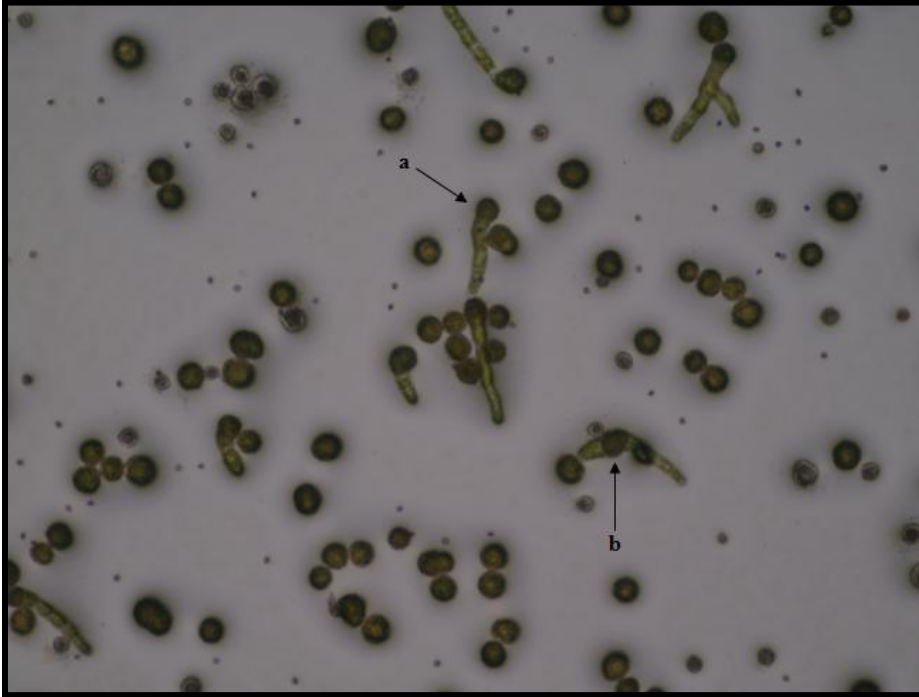
gemma gibi davranır. Bu durum bazı türlerde kısa ömürlü protonemalarda gözlenir (Sabovljević vd., 2014).

Kültürün ilerleyen sürelerinde kaulonemal filamentlerden gametofor farklılaşması gerçekleşmemiştir.

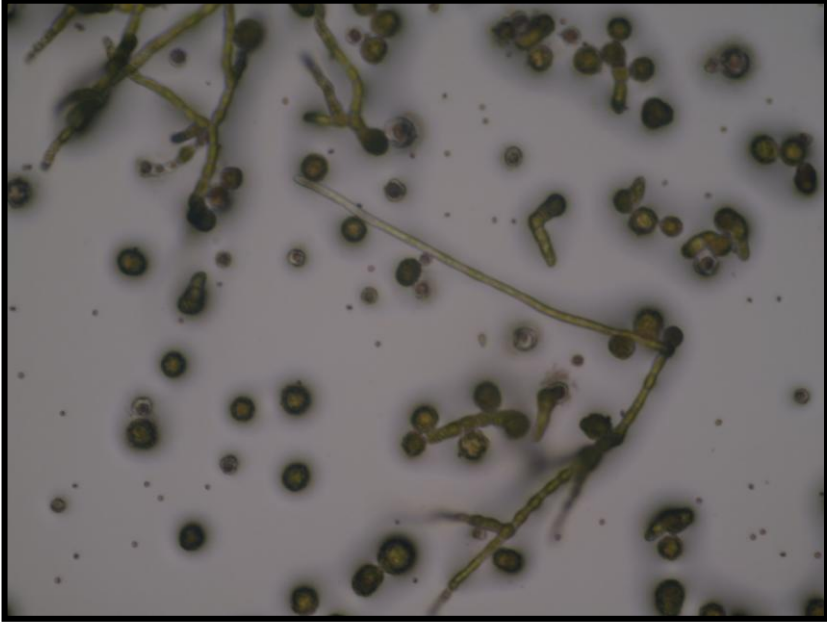
Gametofor farklılaşması üzerine eksojen olarak ilave edilmiş bitki büyüme düzenleyicilerine herhangi bir cevap gelmemiş ve gametofor farklılaşması gerçekleşmemiştir. Kültür başlangıcından yaklaşık 6 ay sonra gelişim kaulonemal evrede durmaktadır.



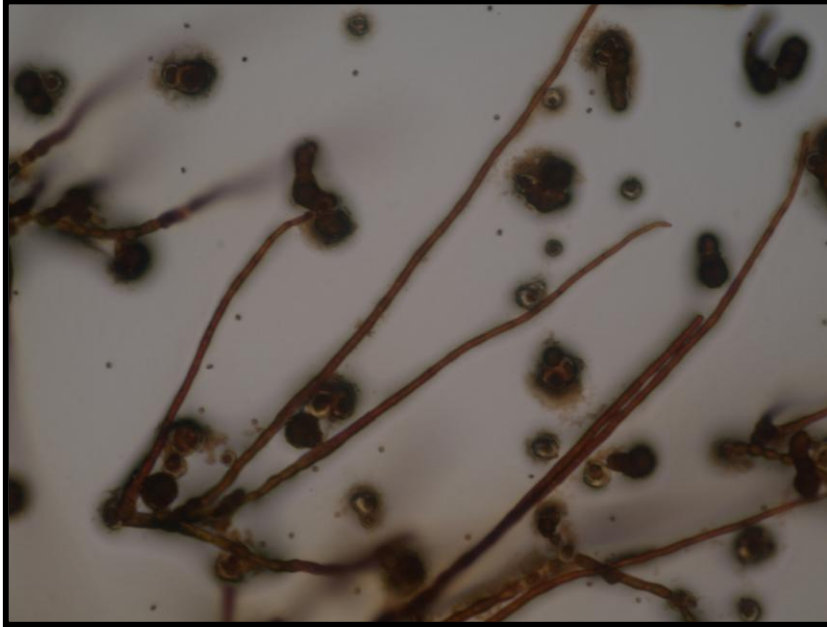
Şekil 4.26. *Syntrichia laevipila*' da a. normal spor b. şişmiş spor (Bar: 20 µm)



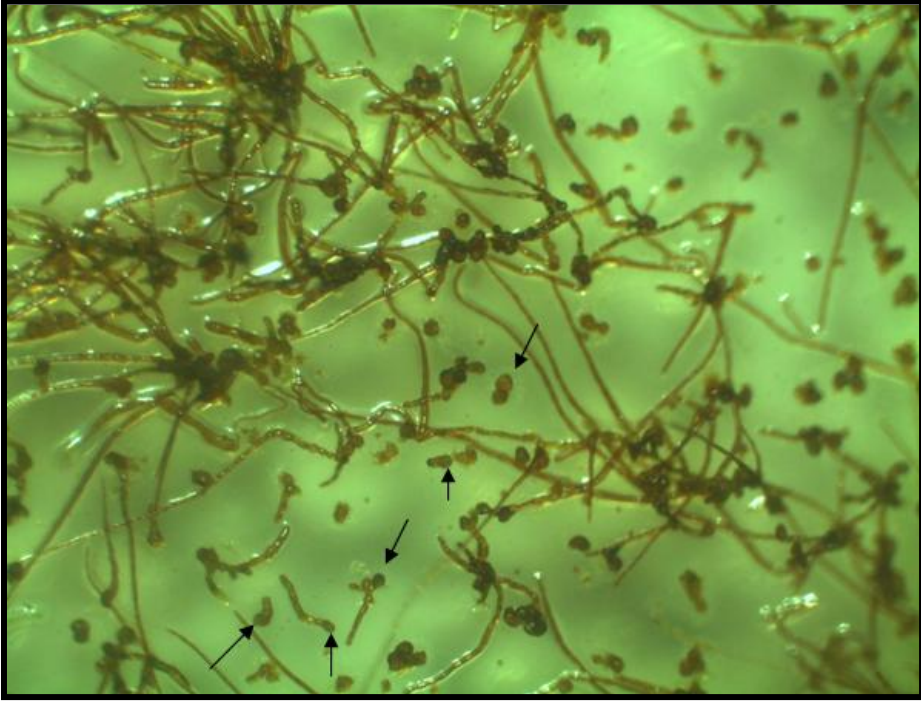
Şekil 4.27. *Syntrichia laevipila*' da a. monopolar çimlenmiş spor b. bipolar çimlenmiş spor



Şekil 4.28. *Syntrichia laevipila*' da %1.5 sukroz içeren DS ortamında klonemal dallanma



Şekil 4.29. *Syntrichia laevipila*' da sukroz içeren DS ortamında kaulonemal iplikler



Şekil 4.30. *Syntrichia laevipila*' da oklar tmema hücrelerini göstermektedir

4.5. *Syntrichia princeps* (De Not.) Mitt.' in *In Vitro* Spor Çimlenmesi ve Erken Gelişim Evreleri

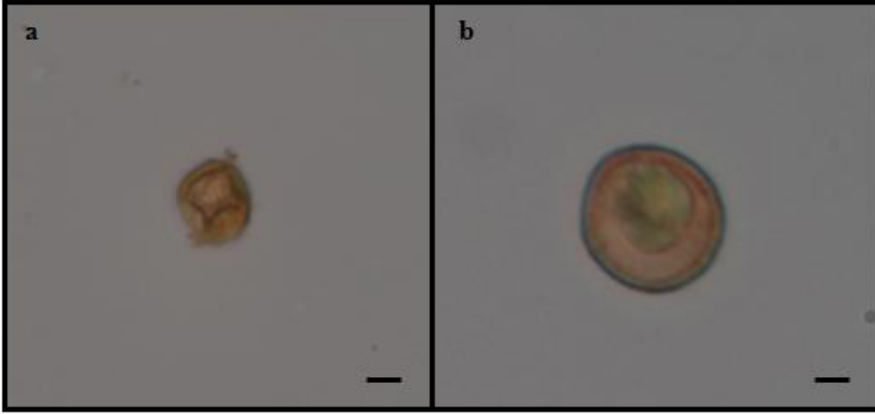
Bu türe ait sporların normal boyutu 10-12 μm 'dir. Kültür başlangıcından yaklaşık 5 hafta sonra *in vitro* ortamlarda şişmiş spor boyutu 45-55 μm aralığındadır (Şekil 4.31). *Syntrichia princeps* sporlarının çimlenmesi **ekzosporik** tiptedir. Şişme sonrası sporlar önce 1-3 ardışık mitozla Nehira (1983) tarafından masif protonema olarak tanımlanan formu oluşturmak üzere eş görünümlü hücreler üretirler. Bu hücreler ilk spor hücresinin germ tübü oluşturmasından sonra germ tübü oluştururlar. Çimlenme polaritesi çoğunlukla monopolar, nadir olarak bipolar yapıdadır (Şekil 4.32). Denemelerimizde sadece % 1.5 (w/v) sukroz içeren Distile su ortamında şişme ve ardışık olarak çimlenme görülmüştür (çimlenme yüzdesi % 43). Diğer ortamlarda çimlenmenin herhangi bir aşaması gerçekleşmemiştir. Sukroz içermeyen distile su ortamında çimlenmenin gerçekleşmemesi çimlenme için sukrozun etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Sukroz içermeyen distile su ortamında çimlenmenin gerçekleşmemesine rağmen, sukroz ilaveli ortamda çimlenme görülmesi çimlenme için sukrozun etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Sukroz ilaveli ortamlarda çimlenmenin teşvik edilebileceği Sabovljević vd. (2012) ve Vujičić vd. (2011) tarafından da rapor edilmiştir.

Çimlenmenin ilk evresinde, görünüm çoklu hücre gruplarından türemiş bir veya iki protonemal iplik geliştirmiş hücreler yumağı şeklindedir. Bu topluluklar 2-4-8 hücrelidir (Şekil 4.33). Daha ileri evrelerde hücrelerin sayılması ortamın yoğunluğu nedeniyle olası değildir. Gelişen klonema ipliğini oluşturan silindirik hücreler orta kısımlarından bir şişkinleşme kazanarak ipliği seyrek boğumlu bir zincir haline getirirler (Şekil.4.34). Bu esnada, uzun silindirik hücrelerin birbirlerine bakan çeperleri kahverengileşmeye ve giderek yatık olmaya başlar ki bu durum kaulonema dönüşümüdür. Kaulonemal iplikler havai olarak da gelişir ve kıvrımlı yapıda olduğundan kıvrıkcık bir görünüm alır. (Şekil 4.35).

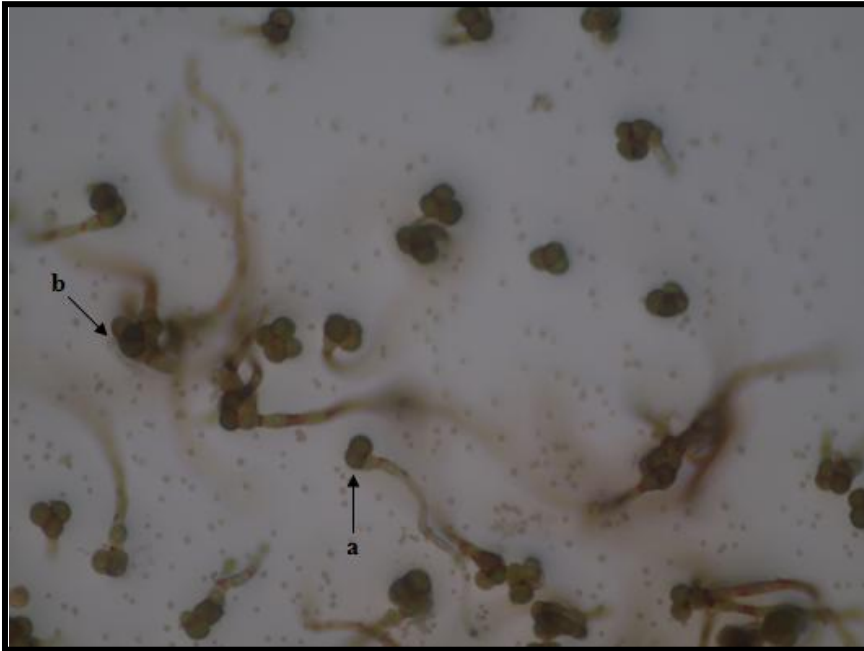
Ekzosporik çimlenme, primer protonemada masif globoz hücre yumaklarının daha sonra klonema ve kaulonema formundaki filamentli protonemayı oluşturması gibi özellikler *Syntrichia princeps*' in sporeling tipinin *Encalypta* tip olduğunu düşündürmektedir.

Başlangıç ortamında kaulonema üzerinde gametofor farklılaşması gerçekleşmemiştir.

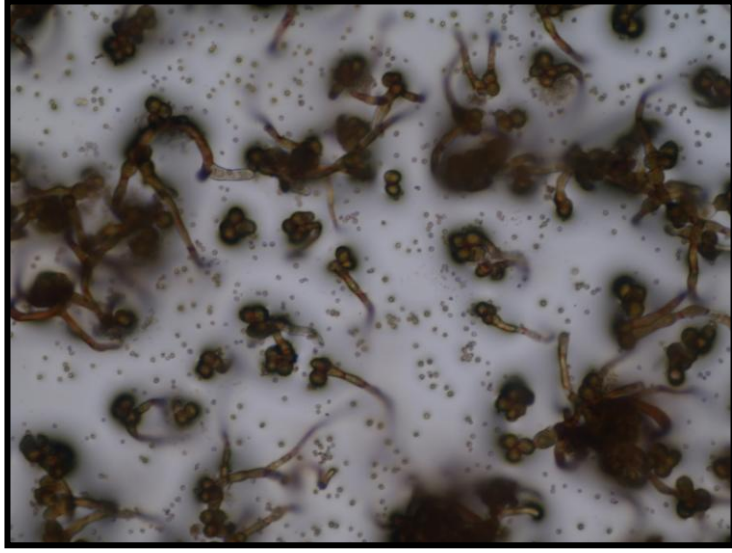
Gametofor farklılaşması üzerine eksojen olarak ilave edilmiş bitki büyüme düzenleyicilerine herhangi bir cevap gelmemiş ve gametofor farklılaşması gerçekleşmemiştir. Kültür başlangıcından yaklaşık 6 ay sonra gelişim kaulonemal evrede durmaktadır.



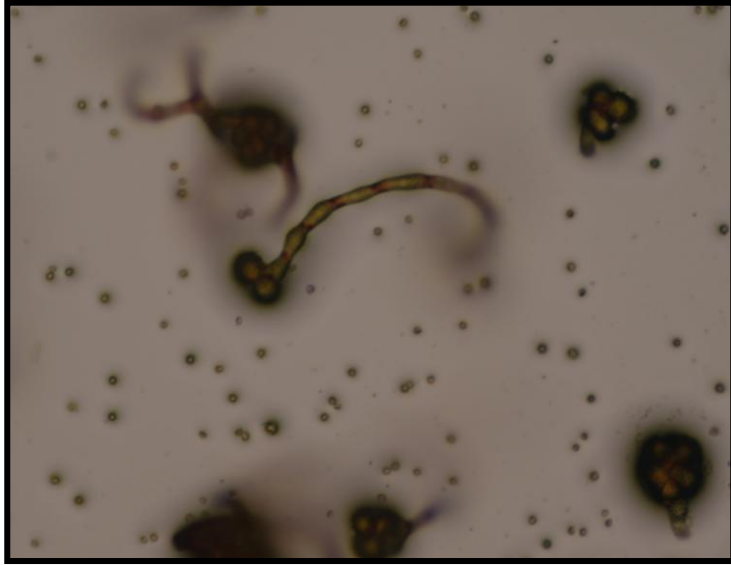
Şekil 4.31. *Syntrichia princeps*' te a. normal spor b. şişmiş spor Bar: 5µm)



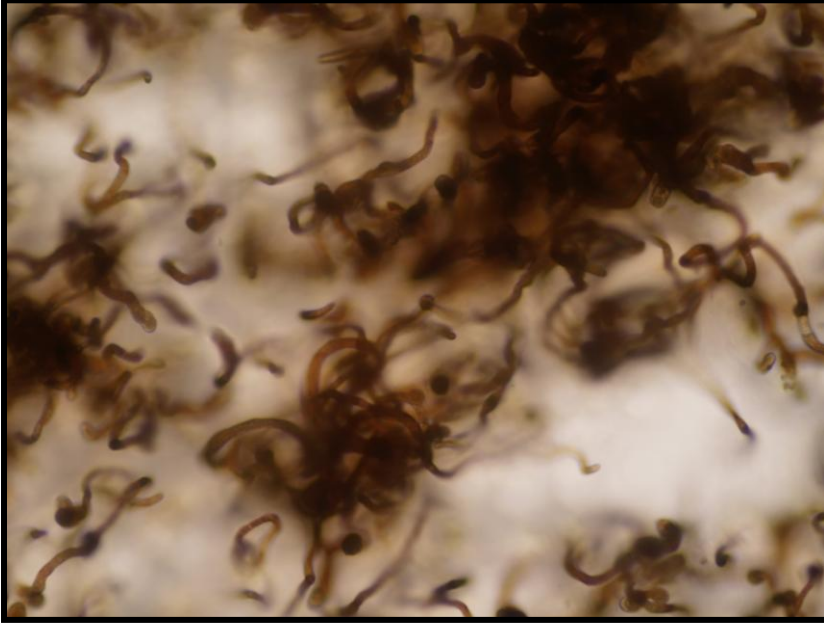
Şekil4.32. *Syntrichia princeps*' te a. monopolar çimlenmiş spor b. bipolar çimlenmiş spor



Şekil 4.33. *Syntrichia princeps*' te %1.5 sukroz içeren DS ortamında çoklu hücre gruplarından türemiş bir veya iki protonemal iplik geliştirmiş hücreler



Şekil 4.34. *Syntrichia princeps*' te %1.5 sukroz içeren DS ortamında kloronemal iplik



Şekil 4.35. *Syntrichia princeps*' te %1.5 sukroz içeren DS ortamında havai gelişen protonemalar

5. SONUÇ

Denemelerimizde materyal olarak kullandığımız türlerin erken gelişim evrelerine ilişkin özellikler Çizelge 5.1’ de verilmiştir. *In vitro* koşullarda oluşturulmuş aksenik kültürler ile türlere ait spor çimlenme özellikleri ve protonema gelişimi gibi erken gelişim evrelerine ait bu bilgiler tür biyolojisine ışık tutacak niteliktedir. Ayrıca bu türlere ilişkin olarak gerçekleştirilecek morfolojik, fizyolojik, genetik ve biyokimyasal çalışmalara temel oluşturması açısından da önem arz etmektedir.

Çizelge 5. 1. Türlerin spor çimlenmesi ve erken gelişim evrelerine ilişkin sonuçlar

	<i>G.dissimulata</i>	<i>D.varia</i>	<i>S.ruralis</i>	<i>S.laevipila</i>	<i>S. princeps</i>
Normal spor büyüklüğü	8-13 μ	25-28 μ	10-12 μ	16-20 μ	10-12 μ
Şişmiş spor büyüklüğü	20 μ	36-40 μ	40-50 μ	35-40 μ	45-55 μ
Germ tübü çıkış süresi	5 hafta	8 hafta	6 hafta	5 hafta	6 hafta
Çimlenme	Ekzosporik	Ekzosporik	Ekzosporik	Ekzosporik	Ekzosporik
Sporeling tipi	Bryum	Bryum	Encalypta	Bryum tip	Encalypta
Çimlenme Polaritesi	Monopolar bipolar	Monopolar bipolar	Monopolar bipolar	Monopolar bipolar	Monopolar bipolar
Masif protonema	-	-	+	-	+
Kloronema	+	+	+	+	+
Kaulonema	-	+	+	+	+
Protonema apikal hücresi	Obtuz- nadiren akut	Spatulat-obtuz	Uzun-silindirik	Uzun-silindirik	Uzun-silindirik
Protonemal iplikte şişkinlik	-	+	Tesbih görünümü	+	+
Havai protonemal gelişim	-	-	-	-	+
Tnema	-	-	-	+	-
Gametofor başlangıcı	-	Kalloz yapıda	-	-	-
Gametofit oluşumu	-	+	-	-	-

KAYNAKLAR

- Altuner, Z. 1997. Tohumsuz Bitkiler Sistematığı II. Cilt. Özyurt Matbaacılık, Ankara.
- Anonim, (24.4.2013). Karayosunu Yaşam Döngüsü. [http://www.esu.edu/~milewski/intro_biol_two/lab_2_moss_ferns/MossandFern_Diversity.html], Erişim Tarihi: 9.6.2014.
- Ashton, N.W., Cove, D.J. 1977. The isolation and preliminary characterisation of auxotrophic and anolonue resistant mutants in the moss *Phvscomitrella patens*. **Molecular and General Genetics**, 1 (4) : 87-95.
- Awasthi, V., Nath, V., Asthana, A.K. 2010a. On the culture of a pleurocarpous moss *Entodon laetus* (Griff.). **Jaeg. Natl. Acad. Sci. Lett.**, 33: 145-148.
- Awasthi, V., Nath, V., Asthana, A.K. 2010b. *In vitro* propagation of the endemic and threatened Indian liverwort: *Cryptomitrium himalayense*. **Kash. Curr. Sci.**, 98:1440-1441.
- Barnes, L.R. 1979. *In vitro* propagation of watermelon. **Scientia Hort.**, 11: 223-227.
- Basile, V.D. 1975. A comparison of some macronutrient media used to culture bryophytes. **The Bryologist**, 78: 403-413.
- Basile, D.V., Basile, M.R. 1988. Procedures used for the axenic culture and experimental treatment of bryophytes. In: Methods in Bryology. Proceedings of the Bryological Methods Workshop Mainz (Glime, J.M., Eds.), Nichinan Japan: The Hattori Botanical Laboratory, pp. 1-16, Japan.
- Bijelović, A., Sabovljević, M., Grubišić, D., Konjević, R. 2004. Phytohormone influence on the morphogenesis of two mosses [*Bryum argenteum* Hedw. and *Atrichum undulatum* (Hedw.) P. Beauv.]. **Israel J. Plant Sci.**, 52: 31-36.
- Bogdanović, M., Sabovljević, M., Sabovljević A., Grubišić D. 2009. The influence of gypsiferous substrata on bryophyte growth: are there obligatory gypsophilous bryophytes. **Botanica Serbica**, 33 (1): 75-82.
- Bopp, M. 1968. Control of differentiation in fern-allies and bryophytes. **Ann. Rev. Plant Physio.**, 19: 361- 380.
- Buch, H. 1920. Physiologische und experimentell-morphologische studien an beblätterten Lebermoosen I-II. Öfersigt Finsk. **Vetensk. Soc. Forhandl.**, 62: 1-46.

- Chalaud, G. 1932. Germination des spores et phase protonemique. In Manuel of Bryology Chapt. IV (Vendoorn, F., Eds.), pp. 89-108, France.
- Chalaud, G. 1937. Germination des spores de *Scapania subalpina* (Ness) Dum. Dans leur station naturelle. **Rev.Gen. Bot.**, 49: 11-23.
- Chien, G., Crosby, R. 1999. Moss Flora of China. Science and Missouri Botanical Garden, New York.
- Correns, C. 1899. Untersuchungen über die Vermehrung der Laubmoose Durch Brutorgane und Stecklinge. Jena.
- Cove, D.J., Knight, C.D., Lamparter, T. 1997. Mosses as model systems. **Trends Plant Sci.**, 2: 99–105.
- Crandall-Stotler, B. J., Bartholomew-Began, S.E. 2007. Morphology of mosses (Phylum Bryophyta). In: Flora of North America North of Mexico (Flora of North America Editorial Committee Eds.), pp. 3–13, New York and Oxford.
- Crum, H. 2001. Structural Diversity of Bryophytes. University of Michigan Herbarium, Ann Arbor, America.
- Cvetić, T., Sabovljević, M., Sabovljević, A., Grubišić, D. 2005. *In vitro* culture and apogamy – alternative pathway in life cycle of the moss *Amblystegium serpens* (Amblystegiaceae). **Arch. Biol. Sci.**, 57(3): 267-272.
- Cvetić, T., Sabovljević, A., Sabovljević, M., Grubišić, D. 2007. Development of the moss *Pogonatum urnigerum* under *in vitro* culture conditions. **Arch. Biol. Sci., Belgrade**, 59 (1): 57-61.
- Cvetić, T., Sabovljević, A., Bogdanović, J., Sabovljević, M. 2009. Effects of day length on photosynthetic pigments and antioxydative metabolism of *in vitro* cultured moss *Atrichum undulatum* (Hedw.) P. Beauv. (Bryophyta). **Botanica Serbica**, 33(1): 83-88.
- De Luna, E. 1990. Protonemal development in the *Hedwigiaceae* (Musci), and its systematic significance. **Systematic Botany**, 15(2): 192-204.
- Doyle, W.T. 1962. The morphology and affinities of the liverwort *Geothallus*. **University of Calif. Publ. Bot.**, 33: 185-268.
- Doyle, W.T. 1963. The control of spore germination in *Sphaerocarpos cristatus*. **Bryologist**, 66: 238-39.
- Duckett, J.G., Ligrone, R. 1992. A survey of diaspore liberation mechanisms and germination patterns in mosses. **Journal of Bryology**, 17: 335–354.

- Duckett, J.G., Schmid, A.M., Ligrone, R. 1998. Protonemal morphogenesis. In: Bryology for the Twenty-First Century (Bates, J.W., Ashton, N.W., Duckett, J.G. Eds.), British Bryological Society, pp. 223-245, London.
- Duckett, J.G., Goode, J.A., Matcham, H.W. 2001. Studies of protonemal morphogenesis in mosses. The gemmiferous protonemata of *Dicranoweisia* and *Orthodontium*. **Journal of Bryology**, 23: 181-194.
- Duckett, J.G., Burch, J., Fletcher, P.W., Matcham, H.W., Read, D.J., Russell, A.J., Pressel, S. 2004. *In vitro* cultivation of bryophytes: a review of practicalities, problems, progress and promise. **J. Bryol.**, 26: 3-20.
- Fonnesbach, A., Fonnesbach, M. 1980. *In vitro* propagation of *Monstreladeciosa*. **Hort. Sci.**, 15(6): 740-741.
- Franklin, C.I., Dixon, R.A. 1994. Initiation and Maintenance of Callus and Cell Suspension Cultures. Oxford University Press. Oxford. UK.
- Fulford, M. 1956. The young stages of the leafy *Hepaticae*. **Phytomorphology**, 6: 199-235.
- Fulford, M. 1975. Young stages of some talloid *Hepaticae*: A resume of the anacrogynae. **Phytomorphology**, 25: 176-93.
- Gamborg, O.L., Miller, R.A., Ojima, K. 1968. Nutrition requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Exp. Cell Res.**, 50: 151-159.
- Gamborg, O.L., Phillips, G.C. 1995. Laboratory facilities, operation, and management. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Fundamental, America.
- George, E.F. 1993. Plant Propagation by Tissue Culture. Part I. The Technology, Second Edition, Exegetics Ltd., England.
- Glime, J. 2007. Bryophyte Ecology, Michigan Technological University (MTU), Botanical Society of America (BSA), International Association of Bryologists (IAB), [<http://www.bryoecol.mtu.edu/>], Erişim Tarihi: 9.6.2014.
- Goebel, K.V. 1930. Organographie der Pflanzen II, 3 Aufl., Jena.
- Goffinet, B., Shaw, A.J. 2009. Bryophyte Biology. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 565, UK.
- Gonzalez, M.L., Mallon, R., Reinoso, J., Rodriguez-Oubina, J. 2006. *In vitro* micropropagation and long-term conservation of the endangered moss *Splachnum ampullaceum*. **Biologia Plantarum**, 50 (3): 339-345.

- Goode, J. A., Duckett, J. G., Stead, A. D. 1992. Protonemal morphogenesis of the moss *Tetraphis pellucida* Hedw. in culture and in the wild. **Ann. Bot.**, 70: 519-530.
- Gradstein, S.R., Churchill, S.P., Salazar Allen, N. 2001. Guide to the bryophytes of tropical america. **Mem. N. Y. Bot. Gard.**, 86: 1-577.
- Hallingbäck, T., Hodgetts, N. 2000. Mosses, Liverworts and Hornworts; Status Survey and Conservation Action Plan for Bryophytes. Switzerland and Cambridge, UK.
- Hohne, A., Reski, R. 2005. From axenic spore germination to molecular farming. One century of bryophyte *in vitro* culture. **Plant Cell Rep.**, 23: 513-521.
- Inoue, H. 1960. Studies in spore germination and the earlier stages of gametophyte development in the *Marchantiales*. **J. Hattori Bot. Lab.**, 23(1): 48-91.
- Kowalczyk, A., Przywara, L., Kuta, E. 1997. *In vitro* culture of liverworts. **Acta Biol. Cracov. Bot.**, 39: 27-33.
- Lal, M. 1984. The culture of bryophytes including apogamy, apospory, parthenogenesis and protoplasts. In: The Experimental Biology of Bryophytes (Dyer, A.F. and Duckett, J.G., Eds.), Academic Press, pp. 97-115, London.
- Leitgeb, H. 1874. Untersuchungen über die Lebermoose. I. *Blasia Pusilla*. Jena.
- Leitgeb, H. 1875. Ibid. II. Die Foliosen Jungermannieen. Jena.
- Leitgeb, H. 1876. Die Keimung der Lebermoossporen in ihrer Beziehung zum Lichte. **Sitzb. Akad. Wiss. Wien.**, 74: 425-36.
- Leitgeb, H. 1877 Untersuchungen über die Lebermoose. III. Die Frondosen Jungermannieen. Jena.
- Leitgeb, H. 1881. Ibid. VI Die *Marchantieen* und allgemeine Bemerkungen über die Lebermoose. Jena.
- Liang, S.F., Sun, Y., Zhu, R.L. 2010. *In vitro* micropropagation of *Bryum argenteum*. **Cryptogamie Bryologie**, 31 (3): 233-239.
- Meyer, S.L. 1948. Physiological studies on mosses. Observations on the influence of light on spore germination and protonema development in *Physcomitrella turbinatum* and *Funaria hygrometrica*. **The Bryologist**, 51: 213-217.

- Mishler, B., Newton, A.E. 1988. Influence of mature plants and desiccation on germination of spores and gametophytic fragments of *Tortula*. **Journal of Bryology**, 15: 327-342.
- Mogensen, G.S. 1978. Spore development and germination in *Cinlidium* (*Mniaceae*, *Bryophyta*) with special reference to spore mortality and false anisospory. **Can. J. Bot.**, 56: 1032-1060.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plantarum**, 15: 473-497.
- Müller, K. 1958. Die Lebermoose Europas. Rabenhorst's Kryptogamen-Flora, Aufl. 3, 6: 1-160. Leipzig.
- Nehira, K. 1976. Protonema development in mosses. **Ibid.**, 41: 157-65.
- Nehira, K. 1983. Spor germination, protonema development and sporeling development. In: New Manual of Bryology I (Schuster, R.M., Eds.), The Hattori Botanical Laboratory, pp. 343-385, Nichinan.
- Nehira, K. 1988. Germination and protonema. In: Methods in Bryology (Glime, J.M., Eds.), Hattori Botanical Laboratory, pp. 113-117, Nichinan.
- Nishida, Y. 1978. Studies on the sporeling types in mosses. **Journal of Hattori Botanical Laboratory**, 44: 371-454.
- Nyholm, E. 1981. Illustrated moss flora of *Fennoscandia*, Fasc. 1-6, Swedish Natural Science Research Council.
- Olesen, P., Mogensen, G.S. 1978. Ultrastructure, histochemistry and notes on germination stages of spores in selected mosses. **The Bryologist**, 81: 493-516.
- Oliver, M.J., Wood, A.J. 1997. Desiccation tolerance in mosses. In: Stress-Inducible Processes in Higher Eucariotic Cells (Koval, T., Eds.), Plenum Publishing Corporation, pp. 1-26, New York.
- Ören, M. 2004. Manyas Kuş Gölü Çevresi ve Erdek Kapıdağ Yarımadası Karayosunlar (=Musci) Florası. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak.
- Özdemir, T. 2000. Checklist of the Mosses of A4 Square of Turkey. **Energy Educ. Sci. Tech.**, 4 (2): 60-69.

- Pence, V.C. 2004. *Ex situ* conservation methods for bryophytes and pteridophytes. In: *Ex situ* Plant Conservation Supporting Species Survival in the Wild (Guerrant, E.O., Havens, K., Maunder, M., Eds.), Island Pres, pp. 206-227, Washington.
- Porley, R.D., Hodgetts, N. 2005. Mosses and liverworts. HarperCollins, London, UK.
- Renzaglia, K.S. 1978. A comparative morphology and developmental anatomy of the *Anthocerotophyta*. **J.Hattori Bot. Lab.**, 44: 31-90.
- Reski, R., Abel, W.O. 1985. Induction of budding on chloronemata and caulonemata of the moss, *Physcomitrella patens*, using isopentenyladenine. **Planta**, 165: 354-358.
- Reski, R. 1998. *Physcomitrella* and *Arabidopsis* the David and Goliath of reverse genetics. **Trends in Plant Science**, 3: 209–210.
- Rowntree, J.K., Ramsay, M.M. 2005. *Ex situ* conservation of bryophytes: progress and potential of a pilot project. **Bol. Soc. Esp. Briol.**, 26: 17-22.
- Rowntree, J.K. 2006. Development of novel methods for the initiation of *in vitro* bryophyte cultures for conservation. **Plant Cell Tiss Org.**, 87: 191-201.
- Rowntree, J.K., Duckett, J.G., Mortimer, C.L., Ramsay, M.M., Pressel, S. 2007. Formation of specialized propagules resistant to desiccation and cryopreservation in the threatened moss *Ditrichum plumbicola* (Ditrichales, Bryopsida). **Ann. J. Bot.**, 100: 483-496.
- Sabovljević, M., Bijelović, A., Dragičević, I. 2003. *In vitro* culture of mosses: *Aloina aloides* (K.F. Schultz) Kindb., *Brachythecium velutinum* (Hedw.) B.S.&G., *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., *Eurhynchium praelongum* (Hedw.) B.S.&G. and *Grimmia pulvinata* (Hedw.) **Sm. Turk. J. Bot.**, 27: 441- 446.
- Sabovljević, A., Sabovljević, M., Grubišić, D., Konjević, R. 2005. The effect of sugars on development of two moss species (*Bryum argenteum* and *Atrichum undulatum*) during *in vitro* culture. **Belg. Journ. Bot.**, 138: 79-84.
- Sabovljević, A., Cvetić, T., Sabovljević, M. 2006. Establishment and development of the Catherine's moss *Atrichum undulatum* (Hedw.) P. Beauv. (*Polytrichaceae*) *in vitro* conditions. **Arch. Biol. Sci., Belgrade**, 58 (2): 87-93.
- Sabovljević, A., Sabovljević, M., Jockovic, N. 2009. *In vitro* culture and secondary metabolite isolation in bryophytes. In: *Methods in Molecular*

Biology, Protocols for *In vitro* Cultures and Secondary Metabolite Analysis of Aromatic and Medicinal Plants (Mohan, J. S. and Saxena, P.K., Eds.), Humana Press, pp. 117-128, Springer Science.

- Sabovljević, A., Sabovljević, M., Grubisic, D. 2010. Giberellin influence on the morphogenesis of the moss *Bryum argenteum* Hedw. *in vitro* conditions. **Arch. Biol. Sci.**, 62(2): 373-380.
- Sabovljević, A., Vujičić, M., Skorić, M., Bajić-Ljubičić, J., Sabovljević, M. 2012. Axenically culturing the bryophytes: Establishment and propagation of the pleurocarpous moss *Thamnobryum alopecurum* newland ex gangulee (*Bryophyta*, *Neckeraceae*) *in vitro* conditions. **Pak. J. Bot.**, 44(1): 339-344.
- Sabovljević, M., Papp, B., Sabovljević, A., Vujičić, M., Szurdoki, E., Segarra-Moragues, J.G. 2012. *In vitro* micropropagation of rare and endangered moss *Entosthodon hungaricus* (*Funariaceae*). **Biosci. J., Uberlândia**, 28(4): 632-640.
- Sabovljević, M., Vujičić, M., Sabovljević, A. 2014. Plant growth regulators in bryophytes. **Botanica Serbica**, 38 (1): 99-107.
- Sarasan, V., Cripps, R., Ramsay, M.M., Atherton, C., McMichen, M., Prendergast, G., Rowntree, J.K. 2006. Conservation *in vitro* of threatened plants progress in the last decade. **In Vitro Cell Dev. Biol. Plant**, 42(3): 206–214.
- Schofield, B.W. 1985. Introduction to Bryology. Blackburn, Caldwell, New Jersey.
- Schostakowitsch, W. 1894. Über die reproductions und regenerationserscheinungen bei den lebermoosen. **Ibid.**, 79: 350-84.
- Schumaker, K.S., Dietrich, M.A. 1998. Hormone-induced signaling during moss development. **Annu. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.**, 49: 501–523.
- Schuster, R.M. 1966. The *Hepaticae* and *Anthocerotae* of North America. Vol. I. Columbia Univ. Press, New York and London.
- Silva, A.S.M., Pôrto, K.C., Simabukuro, E.A. 2009. Effect of light and water availability on spore germination and protonemal growth of the Neotropical moss *Thamniopsis incurva* (*Pilotrichaceae*). **Cryptogamie, Algol.**, 30(2): 1.
- Silva, A.S.M., Pôrto, K.C., Simabukuro, E.A. 2010. Effect of light and nutrients on different germination phases of the cosmopolitan moss *Bryum argenteum* Hedw. (*Bryaceae*). **Braz. Arch. Biol. Technol.**, 53 (4) : 763-769.

- Simpson, M.G. 2012. Bitkilerin Çeşitliliği ve Evrimi. In: Bitki Sistematigi (Aytaç, Z. ve İğci Kaptaner, B., Eds.), Nobel Yayın, pp. 55-72, Ankara.
- Smith, R. 1992. Plant Tissue Culture Techniques and Experiments. Academic Pres. Inc., pp. 1-27, UK.
- Smith, A.J.E. 2004. The Moss Flora of Britain and Ireland. Cambridge Univ., New York.
- Station, D. 2012. Book review. **Austral Ecology**, 37: 28–29.
- Stephen, H., Reuss, V., Wu, C.L., Muhle, H., Wilfried, A.K. 2004. Sesquiterpene constituents from the essential oils of the liverworts *Mylia taylorii* and *Mylia nuda*. **Phytochemistry**, 65: 2277-2291.
- Valadon, L.G.R., Mummery, R.S. 1971. Quantitative relationship between various growth substances and bud production in *Funaria hygrometrica*. A bioassay for abscisic acid. **Physiol. Plantarum**, 24: 232-234.
- Valanne, N. 1966. The germination phases of moss and their control by light. **Ann. Bot. Fenn.**, 3: 1-60.
- Vanderpoorten, A. ve Goffinet, B. 2009. Introduction to Bryophytes. Cambridge Univ., New York.
- Vitt, D.H. 2000. Peatlands: ecosystems dominated by bryophytes. In: Bryophyte Biology (Shaw, A.J. and Goffinet, B., Eds.), Cambridge Univ., pp. 17–24, New York.
- Voth, P.D., Hammer, K.C. 1940. Responses of *Marchantia polymorpha* to nutrient supply and photoperiod. **Botanical Gazette**, 102 (1): 169-205.
- Voth, P.D. 1943. Effect of nutrient solution concentration on the growth of *Marchantia polymorpha*. **Botanical Gazette**, 104: 591-601.
- Vujičić, M., Sabovljević, A., Sabovljević, M. 2010a. Axenically culturing the bryophytes: a case study of the moss *Herzogiella seligeri* (Brid.) Z. Iwats. (*Plagiotheciaceae*). **Biologica Nyssana**, 1(1-2): 77-82.
- Vujičić, M., Cvetić, T., Sabovljević, A., Sabovljević, M. 2010b. Axenically culturing the bryophytes: a case study of the liverwort *Marchantia polymorpha* L. ssp. *ruderalis* Bischl. & Boisselier (*Marchantiophyta*, *Marchantiaceae*). **Kragujevac J. Sci.**, 32: 73-81.
- Vujičić, M., Sabovljević, A., Sabovljević, M. 2011. Axenically culturing the bryophytes: establishment and propagation of the moss *Hypnum*

- cupressiforme* Hedw. (*Bryophyta*, *Hypnaceae*) in *in vitro* conditions. **Botanica Serbica**, 35 (1): 71-77.
- Wang, X.N., Lou, H.X. 2003. Chemical composition and medical application of bryophytes. **Shangdong Sanitation**, 11: 54-55.
- Wiklund, K., Rydin, H. 2004. Ecophysiological constraints on spore establishment in bryophytes. **Functional Ecology**, 18: 907-913.
- Wood, A.J., Oliver, M.J., Cove, D.J. 2000. New frontiers in bryology and lichenology. Bryophytes as model systems. **Bryologist**, 103: 128-133.
- Xia, P.F., Li, Z.H., So, M.L., Chan, W.H., Wong, W.Y. 2001. Studies on the antimicrobial chemical composition of Hong Kong liverwort *Marchantia paleacea* Bertol. **Natural Product Research and Development**, 13: 15-17.
- Xiao, Y., Niu, G., Kozai, T. 2010. Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system. **Plant Cell Tiss Organ Cult.**, 150: 149-158.
- Zhao, J.C., Huang, S.L., Li, M., Mamtimin, S., He, J., Zhang, Y.M., Li, X. 2004. A study on the characteristics of spore germination and protonemal development in *Lindbergia brachyptera*. **Arctoa**, 13: 223-228.
- Zhu, R.L., Wang, Y.F., Xiong, L.H. 2002. Progress in bryological research (part I): Status and prospects of bryological research in China. **Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica**, 22: 444-451.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Münire Nihan BAĞDATLI

Doğum Yeri ve Tarihi : İZMİR, 27.05.1988

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 2006-2010.

Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 2011-2014.

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

Bildiriler

1. Erdağ B, Emek Y. Bağdatlı M.N ve Kuzu İ. *Nepeta nuda subsp. nuda*'nın (Lamiaceae) *In vitro* Tohum Çimlenmesi ve Fide Gelişimi (Poster Bildiri). 21. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı) (Poster Bildiri). 3-7 Eylül 2012, İzmir, Türkiye.
2. Emek Y., Kuzu I, Bağdatlı M.N, Erdağ, B. *Nepeta cadmea* Boiss.'nin *in vitro* tohum çimlenmesi üzerine ışığın etkisi ve *in vitro* fide gelişimi (Poster Bildiri). Ekoloji 2013 Sempozyumu Bildiri Kitabı s.147, 2-4 Mayıs 2013, Tekirdağ, Türkiye.
3. Erdağ B., Emek Y., Kuzu I., Bağdatlı M.N. *Nepeta nuda ssp. albiflora*'nın *in vitro* tohum çimlenmesi ve aksiller sürgün çoğaltımı. Ekoloji 2013 Sempozyumu Bildiri Kitabı (Poster Bildiri). s.135, 2-4 Mayıs 2013, Tekirdağ, Türkiye.
4. Erdağ B., Bağdatlı M.N., Kuzu I, Emek Y. *Bryum capillare* Hedw. (Bryaceae) 'nin *in vitro* spor çimlenmesi ve protonema morfolojisi üzerine kurşunun etkisi (Poster Bildiri). Ekoloji 2013 Sempozyumu Bildiri Kitabı s.133, 2-4 Mayıs 2013, Tekirdağ, Türkiye.
5. Emek Y., Kuzu I, Bağdatlı M.N. Endemik *Nepeta cadmea* 'nın *in vitro* tohum çimlenmesi üzerine araştırmalar (Poster Bildiri).. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, Türkiye.

6. Emek Y., Kuzu I, Bağdatlı M.N. Endemik *Nepeta viscida* fidelerinin gelişimi üzerine farklı *in vitro* besin ortamlarının etkisi (Poster Bildiri). 22. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, Türkiye.
7. Emek Y., Bağdatlı M.N., Kuzu I. *Nepeta viscida*'nın *in vitro* tohum çimlenmesi üzerine farklı *in vitro* besin ortamlarının, ışığın ve giberellik asitin etkisi (Poster Bildiri). 22. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, Türkiye.
8. Emek Y., Bağdatlı M.N., Kuzu I. Endemik *Nepeta cadmea*'nın (Lamiaceae) *in vitro* aksiller sürgün yoluyla çoğaltımı (Sözlü Bildiri). 22. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, Türkiye.
9. Kuzu I., Emek Y., Bağdatlı M.N., Demir E. Farklı *In vitro* Besin Ortamlarında Yetiştirilen Endemik *Nepeta viscida* Fidelerinin Fotosentetik Pigment İçeriklerinin Belirlenmesi (Poster Bildiri). 22. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, Türkiye.
10. Erdağ B., Bağdatlı M.N., Kuzu I., Erdağ A. *Homalothecium sericeum* (Bryophyta)'un *In vitro* Spor Çimlenmesi ve Protonema Gelişimi Üzerine Farklı Ağır Metallerin Etkisi (Poster Bildiri). 22. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, Türkiye.
11. Bağdatlı M.N., Erdağ B. *Dicranella varia* (Bryophyta)'nın *In vitro* Spor Çimlenmesi ve Protonema Morfolojisi. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, Türkiye.

Katıldığı Projeler

1. Bazı Biryofit türlerinde spor çimlenmesi ve erken gelişim evrelerinin *in vitro* koşullarda araştırılması (BAP, FEF 13024, araştırmacı).
2. *Homalothecium sericeum* (Bryophyta) türünde *in vitro* koşullarda erken gelişim evrelerinin izlenmesi (BAP, FEF13003, araştırmacı).
3. *Lamiaceae* familyasına ait *Nepeta* L. cinsinin bazı endemik türlerinin *in vitro* çimlenmesi ve fide gelişimi üzerine araştırmalar (BAP, FEF 12011, araştırmacı).

İLETİŞİM

E-posta Adresi : nihanbagdatli@hotmail.com
Tarih :