

ÖZET

Doktora Tezi

***Rhaponticoides mykalea* (Hub.-Mor.) M. V. Agab. & Greuter’NIN *IN VITRO* KOŞULLARDA ÇOĞALTILMASI VE BU SÜREÇLERE ETKİ EDEN FAKTÖRLERİN ARAŞTIRILMASI**

Yelda (ÇALMAZ) EMEK

Adnan Menderes Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Bengi ERDAĞ

Bu çalışmada, kritik tehlike altında (CR) katagorisindeki endemik bitki *Rhaponticoides mykalea* (Hub.-Mor.) türünü tehdit eden faktörler belirlenerek, *in vitro* doku kültürü teknikleri ile çoğaltımı sırasında aşılması gereken süreçler ve bu süreçleri etkileyen antioksidan enzimlerdeki değişimler araştırılmıştır.

Öncelikle bitki tohumlarının çimlenmesini etkileyen etmenler araştırılmıştır. Bu kapsamda, 8 ay bekletilen tohumların *in vitro* koşullarda, pH’ı 7.5’e ayarlanmış distile suda ve 18 °C’ta en yüksek çimlenme yüzdesine (% 30) ulaştığı saptanmıştır.

Olgun ve olgunlaşmamış zigotik embriyoların eksplant olarak kullanılmasıyla embriyo kültürü çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Olgun zigotik embriyolardan 0.01 mg/L Thidiazuron (TDZ) ilaveli Murashige ve Skoog (MS) ortamında fidecikler elde edilmiştir (% 63.33).

Olgunlaşmamış zigotik embriyoların eksplant olarak kullanılmasıyla somatik embriyogenez çalışmaları gerçekleştirilmiştir. En yüksek oranda kallus oluşumu 0.25 mg/L α -naftalen asetik asit (NAA) ve 1 mg/L ⁶N-Benzil adenin (BA) ilaveli MS ortamında elde edilmiştir (% 75). 0.1 mg/L BA ve % 6 sukroz ilaveli MS ortamında en yüksek oranda embriyo farklılaşması görülmüştür (19.25 somatik embriyo/kallus). Yüksek sukrozlu MS ortamında (% 12) farklılaşan ve gelişen embriyolar bitkiciğe dönüştürülmüşlerdir (% 15.75).

Embriyo kültürü çalışmalarından elde edilen bitkicikler aksiller sürgün çoğaltımı sağlamak için kullanılmıştır. En yüksek aksiller sürgün sayısı 0.5 mg/L BA ilaveli MS ortamında elde edilmiştir (5.8 sürgün/eksplant). 0.1 mg/L Kinetin (KIN) ilaveli MS ortamı maksimum sürgün uzunluğu için en uygun ortam olarak belirlenmiştir (7.35 cm).

Adventif sürgün çoğaltımı denemeleri için doğadan toplanan yapraklar eksplant olarak kullanılmıştır. 1.0 mg/L NAA ilaveli MS ortamında en yüksek kalluslaşma yüzdesi elde edilmiştir (%75). Kalluslardan en yüksek sürgün rejenerasyonu 0.5 mg/L NAA ve 2 mg/L BA ilaveli MS ortamında elde edilmiştir (4.2 sürgün/kallus). En uzun sürgünler 0.1 mg/L NAA ve 4 mg/L BA ilaveli MS ortamında oluşmuştur (6.3 cm).

Aksiller ve adventif sürgün çoğaltımı sonunda elde edilen sürgünler köklendirilerek kademeli bir şekilde dış ortama aktarılmıştır. Her iki denemede de optimum köklenme konsantrasyonu ½ MS+ 0.5 mg/L İndol-3-butirik asit (IBA) olarak belirlenmiştir.

Diğer yandan, organogenez ve somatik embriyogenez süreçleri boyunca süperoksitdismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve peroksidaz (PO) gibi antioksidan enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Organogenez sürecinde, yaprak eksplantlarından kallus oluşumu sırasında, SOD aktivitesi dereceli bir şekilde artmış ve kalluslardan sürgün rejenerasyonu sırasında ise bu enzim etkinliğinde kademeli bir azalma gözlenmiştir. Kültürün ilk haftasında PO aktivitesi, CAT aktivitesine göre daha yüksek bir değere sahiptir. Kallus oluşumu süreci boyunca her iki enzim aktivitesi de azalmıştır. Adventif sürgün oluşumuna bağlı olarak CAT ve PO aktiviteleri de artmıştır.

Somatik embriyogenezin erken safhası embriyogenik kallus oluşumu sırasında SOD aktivitesi dereceli bir şekilde artmıştır. Kalluslarda globular oluşumlar meydana gelince, SOD aktivitesi da dereceli bir şekilde azalmaya başlamıştır. Embriyo farklılaşma oranının artışıyla SOD aktivitesinde düşüş gözlenmiştir. Kültürün ilk haftasında CAT aktivitesi, PO aktivitesine göre daha yüksek bir değere sahiptir. Embriyogenik kallus oluşumu boyunca ise her iki enzim aktivitesinde de dereceli bir şekilde düşüş gözlenmiştir. Embriyogenez süreçlerinden olan globular yapıların oluşması ve somatik embriyo farklılaşması sırasında ise hem PO hemde CAT enzim aktivitelerinde artış gözlenmiştir.

2010, 140 sayfa

Anahtar Sözcükler

R. mykalea, CR endemik bitki, *in vitro*, aksiller sürgün, adventif sürgün, embriyo kültürü, somatik embriyogenez, antioksidan enzimler