

Doku Kùltürü Laboratuvarı

Laboratuvarın Yerleşimi

- Diğer laboratuvarlardan ayrı olmalıdır.
- Kuzeye bakmalıdır.
- Nemsiz ve serin olmalıdır.
- Yol kenarında olmamalıdır.
- Elektrik donanımı özel olmalıdır.
- Yangın söndürme sistemi bulunmalıdır.

Ekipman

- Safsu Cihazı
- Dijital Tartım Cihazları (2-10 mg hassaslıkta)
- pH metre
- Karıştırıcı (Isıtıcılı)
- Eksplant Temizleyiciler
- Pipetler
- Otoklav
- Buzdolabı
- Mikroskop
- Steril Kabin
- Kültür Büyütme Odası (Otomatik)
- İklim Odası (Otomatik)

MS Ortamının İÇeriği

MADDE	MİKTAR (mg/l)
MAKRO ELEMENTLER	
$(\text{NH}_4)\text{NO}_3$	1650
KNO_3	1900
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
KH_2PO_4	170
ORGANİK MADDELER	
Myoinositol	100
Clyscine	2.0
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.5

MADDE	MİKTAR (mg/l)
MİKRO ELEMENTLER	
$\text{FeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	27.8
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37.3
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6
H_3BO_3	6.2
KI	0.83
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
KARBON KAYNAĐI	
Sucrose	30000

- **Makro elementler**; azot, fosfor, sodyum, magnezyum, kükürt, kalsiyum
- **Mikro elementler**; demir, manganez, çinko, bor, bakır, molibden, kobalt, iyot
- **Vitaminler**; tiamin (B₁), nikotinik asit (B₃), pridoksin (B₆), Myo-inositol ve d-biotin (H)'dir. Diğer vitaminler arasında d-pantotenik asit (B₅), askorbik asit (C), α-tokoferol (E), folik asit (M), retinol (A), riboflavin (B₂) ve kolekalsiferol (D₃)
- **Şekerler**; sakkaroz, glikoz, maltoz, rafinoz, fruktoz
- **Jel yapıcı maddeler**; agar, agaroz, Sea-Kem agaroz, aljinat, Phytigel, silikajel, jelatin ve nişasta

- **Bitki büyüme düzenleyicileri**; bir dokuda üretilip, büyüme ve gelişmenin olacağı diğer dokulara taşınan ve çok düşük konsantrasyonlarda etkili olan endojen organik bileşiklerdir. En çok kullanılanlar; oksinler, sitokininler, gibberellinler, absisik asit ve etilendir.
- **Amino asitler**; glisin, arginin, glutamin, prolin, aspartik asit
- **Kimyasal olarak tanımlanamayanlar**; Hindistan cevizi sütü, kazamino asit, maya özü (yeast extract)
- **Organik asitler**; fumarik asit, malik asit, sitrik asit ve sodyum piruvat
- **Antibiyotikler**; Karbenisilin, sefotaksim, eritromisin, genetisin, higromisin, kanamisin, streptomisin ve gentamisin

Besin ortamları

Su

Makro elementler (azot, fosfor, sodyum, magnezyum, kükürt, vb.)

Mikro elementler (demir, manganez, çinko, bakır, vb.)

Vitaminler (thiamin, nikotinik asit, vb.)

Şekerler (sakkaroz, glikoz, vb.)

Jel yapıcı maddeler (agar, pytagel, jelatin, vb.)

Amino asitler (glisin, arginin, vb.)

Kimyasal olarak tanımlanamayanlar (hindistan cevizi sütü, vb.)

Bitki büyüme düzenleyicileri

Bitki doku kùltürü aşamaları

- Uygun bir laboratuvar düzeninin kurulması
- Kullanılacak bitki parçalarının ve besin ortamlarının seçimi, hazırlanması ve sterilizasyonu
- Kallus veya hücre süspansiyonlarının oluşturulması
- Kallus veya hücre süspansiyonlarından veya doğrudan somatik veya gametik hücrelerden bitki rejenerasyonunun uyarılması
- Oluşan sürgünlerin çoğaltılması ve boylarının uzatılması, somatik embriyoların oluşturulması
- Uzayan sürgünlerin köklendirilmesi
- Köklenen bitkilerin dış ortama alıştıırılması

Kültür Şartları

- **Sıcaklık** → Kültür odalarında kullanım amacına göre 22 ± 2 veya $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanır.
- **Işık** → Genellikle serin floresan lambalarıyla sağlanır. Aynı zamanda ışıklama süresi ve zamanlaması da önemlidir.
- **Nem** → % 50-70 arasında bir değere ayarlanır.