



Mürüvvet ULUSOY DENİZ

X.. Hafta

Doku Kültürü ile çoğaltım

Tanımı ve Genel Özellikleri

Doku kültürü ile çoğaltma aşamaları

Doku Kültürü Yöntemleri

APOMİKTİK TOHUM KULLANARAK ÇOĞALTMA



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Tanımı ve Genel Özellikleri

Doku kültürü: Bitkilerin değişik organlarından çok küçük parçacıklar steril koşullarda alınarak yeni bitkiler elde etmek için yapılan çoğaltmadır.

Mikro çoğaltım, bitkilerin in vitro koşullarda çoğaltılmasıdır.

Doku kültürü ile çoğaltma, bahçe bitkileri yetiştiriciliğinde birçok yarar sağlar bu yararları şöyle sıralamak mümkündür.

- Zor köklenen bitkilerin çoğaltılması
- Çoğaltma katsayısının yüksekliği
- Bitki karantinasında kolaylık
- Virüssüz bitki eldesi



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Tanımı ve Genel Özellikleri

İn vitro'nun diğer vegetatif üretim yöntemlerinden avantajlarını şöyle sıralayabiliriz:

1. Hastalıktan arı bitki kazanma ve bunların varlığını sürdürme
2. Çok sayıda, homojen ve kısa sürede bitki üretimi
3. Diğer yöntemlerle üretimi zor olan bitkilerin üretimi
4. Az sayıda anaçla çok sayıda üretim
5. Yıl boyu üretim
6. Gen Kaynaklarının korunması



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Tanımı ve Genel Özellikleri

Doku kültürü dezavantajlarını şöyle sıralayabiliriz:

1. Laboratuvar kuruluşu ve laboratuvar malzemelerinin pahalılığı
2. Yüksek bilgi birikimine olan gereksinimi,
- 3- Yoğun emek gerektirmesi,
- 4- Özellikle besin ortamlarının büyümeyi düzenleyici madde bileşimi ve konsantrasyonuna bağlı olarak zaman içerisinde genetik yapıda ortaya çıkabilecek değişimler



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Tanımı ve Genel Özellikleri

Besin ortamı farklı araştırmacıların önerdikleri reçetelere ve daha önce yapılmış araştırmaların sonuçlarına göre makro ve mikro besin elementlerini, vitaminleri, amino asitleri, sitokinin, gibberellik asit, oksin gibi büyümeyi düzenleyici maddeleri, enerji kaynağı olarak şekeri içermelidir. Genellikle pH'sı 5.5-5.8'e ayarlanan besin ortamını yarı katı hale getirmek için agar gibi katılaştırıcı maddeler de ilave edilmelidir. Çünkü eksplantların oksijene ihtiyacı olduğu için bir kısmının besin ortamının üzerinde kalması, yani tamamen besin ortamına batmaması gerekmektedir. Bununla birlikte özel destek düzeneklerine sahip kaplar kullanıldığında ya da çalkalayıcılar üzerinde inkübasyon koşulları sağlandığında eksplantlar sıvı besin ortamlarında da kültüre alınabilmektedir.



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku (In vitro) Kültürü ile Çoğaltım

Tanımı ve Genel Özellikleri

Besin ortamı

Hazırlanan besin ortamı mikroorganizmalardan arındırılmak üzere otoklavda 1 atmosfer basınç altında 121°C sıcaklıkta örneğin 20 dakika süreyle sterilize edilmelidir.

Başarılı bir in vitro üretimi için **üç bölümden** oluşan bir **laboratuvar** zorunludur.

- 1.Ön Hazırlık Odası:
2. Yıkama Odası:.
3. Kültür Odası: Bu odada sıcaklık ve ışık kontrol edilebilir



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Tanımı ve Genel Özellikleri

Bölümleri .

Ön Hazırlık Odası: %100 steril çalışmayı sağlamak için gerekli olan steril dolap adı verilen çalışma masasının bulunduğu odadır.

Yıkama Odası: Burada besin ortamının hazırlanması, cam laboratuvar malzemelerinin ve besin ortamının sterilizasyonu ve cam eşya temizliği yapılır..



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Tanımı ve Genel Özellikleri Bölgümleri .

Kültür Odası: Bu odada sıcaklık ve ışık kontrol edilebilir durumdadır. Tüpler içindeki besin ortamına konulmuş örnekler gelişmelerini burada sürdürür. Tüm invitro tekniği steril koşullar altında yürütülmelidir. Bunun için de üretim amacıyla alınan örneğin alınmadan önce veya sonra sterilize edilme zorunluluğu vardır. Ancak sterilizasyon sırasında bitki hücrelerinin ölmemesine özen gösterilmelidir. Özellikle örneklerin kesim yerleri sterilizasyon maddesine çok hassas olduğundan sterilizasyondan sonra tekrar kesim yapılmalıdır.



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Doku kültürü ile çoğaltma aşamaları

1. Başlangıç (İlk kültür) Aşaması
2. Sürgün Çoğaltma Aşaması
3. Köklendirme aşaması
4. Dış koşullara alıştırma



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Doku kültürü ile çoğaltma aşamaları

1. Başlangıç (İlk kültür) Aşaması

Bu aşamanın amacı eksplantları kontaminasyon olmadan aseptik kültür koşullarına başarıyla almak ve in vitro koşullarda eksplantlardan ilk sürgün oluşumunu sağlamaktır. Mikro çoğaltımda eksplant kaynağı olarak en fazla kullanılan bitki kısımları sürgün ucu, tomurcuk, yan tomurcuk ile birlikte boğumlar, soğan, yumru gibi organ parçaları, köklerdir. Buna göre kültürün adı sürgün ucu kültürü, tomurcuk kültürü, boğum kültürü, kök kültürü gibi isimler almaktadır.

Bu aşamada eksplantlar adına doğru, hastalık ve zararlılar ile bulaşık olmayan, yapacağımız kültüre göre uygun gelişme aşamasındaki bitkilerden (ana kaynak) alınmalıdır.



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Doku kültürü ile çoğaltma aşamaları

1. Başlangıç (İlk kültür) Aşaması

Kültüre alınmadan önce dışsal enfeksiyon kaynaklarının (mikroorganizmalar) eksplantlardan uzaklaştırılması için dezenfeksiyon işlemi yapılmaktadır. Dezenfeksiyon önce suda yıkama ve daha sonra alkol, bakır sülfat, sodyum hipoklorit gibi kimyasal maddeler kullanılarak yapılabilmektedir. Mikroorganizmalar soğan, yumru gibi dayanıklı organların alevden geçirilmesi ile de uzaklaştırılabilmektedir.

Her zaman karşılaşılmamakla birlikte eksplantta içsel enfeksiyon sorunu ile karşılaşırsa uygun sistemik fungusitler, antibiyotikler, PPM (Plant Preservative Mixture) gibi maddeler de besin ortamına katılarak kullanılabilir.

Eksplantlar yapay besin ortamı üzerinde kültüre alınmaktadır.



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Doku kültürü ile çoğaltma aşamaları

2.Sürgün Çoğaltma Aşaması

Bu aşamanın amacı 3-4 hafta arayla mikro sürgünlerin alt kültüre alınması yoluyla köklendirme için gerekli olan sayıda sürgün çoğaltımını sağlamaktır.

Bu aşamada da genellikle başlangıç aşamasındaki besin ortamına benzer bileşimde bir ortam hazırlanmaktadır. Hem başlangıç ve hem de çoğaltma aşamalarında büyümeyi düzenleyici maddelerden **sitokininin oranı oksin oranından daha yüksektir**. Bazen oksin hiç kullanılmamaktadır. Böylece kök gelişimi yavaşlatılır. Bu amaçla benzil adenin (0.5-1 mg/l) en fazla kullanılan sitokinidir.



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Doku kültürü ile çoğaltma aşamaları

3. Köklendirme aşaması

Bu aşamada mikro sürgünlerde (mikro çelik) kök oluşumu sağlanmaktadır.

-Köklenme in vitro koşullarda ya da ex vitro (serada mist, fog ya da nemlendirilmiş kapalı sistemler) koşullarda sağlanabilmektedir.

İn vitro köklenme için besin ortamına oksin ilave edilmektedir. Ayrıca besin ortamının makro elementlerinin konsantrasyonu $\frac{1}{2}$ oranında azaltılmaktadır. Ex vitro köklenme için mikro sürgünlerin dip kısmına oksin uygulaması yapılmaktadır.

Mikro sürgünlerin köklendirilmesi için indol bütirik asit (IBA), naftalenasetik asit (NAA), indolasetik asit (IAA) en fazla kullanılan oksinlerdir.



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Doku kültürü ile çoğaltma aşamaları

4. Dış koşullara alıştırma

Bu aşama bitkiciklerin in vitro koşullardan alınarak dış (ex vitro) koşullara taşındığı ve böylece besinin hazır verildiği ortam (heterotrofik) koşullardan kendi tarafından besin sentezlendiği (ototrofik) ortama alındığı aşamadır.

Bu aşamada bitkiler aktif gelişme durumunda olmalıdır. Eğer aktif gelişim başlamazsa dış koşullara uyum sağlayamazlar.

Bitkicikler in vitro koşullarda kapalı kaplar içerisinde yaklaşık %100 nemli bir ortamda geliştikleri için dış koşullara çıkarıldığında birdenbire düşük neme maruz bırakılmamalıdır. Bitkicikler önce seralarda yüksek nem altında tutulmalı ve hava nemine yavaş yavaş alıştırılmalıdır.



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Doku kültürü Yöntemleri

Embriyo Kültürü

Meristem Kültürü

Anter Kültürü

Kallus Kültürü

Protoplast Kültürü

Mürüvvet ULUSOY DENİZ



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Doku kültürü Yöntemleri

Embriyo Kültürü

Embriyonun yumurtalık içindeki gelişmesinin belirli bir devresinde izole edilerek, özel bir gıda ortamında çimlendirip, geliştirilmesine embriyo kültürü denir. Embriyonun gereksinim duyduğu besin maddeleri, embriyonun olgunluk derecesine göre değişmektedir. Yapılan çalışmalarda çok küçük küresel embriyolar belirli oranlarda oksin, sitokin ve fazla miktarda şekere ihtiyaç duyar. Olgun embriyolar ise yalnızca mineral tuz içeren basit ortamlarda gelişebilir



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Doku kültürü Yöntemleri

Embriyo Kültürü

Kültüre alınacak embriyonun sterilizasyonu başlıca iki yolla gerçekleştirilir. Birinci yolda meyve uygun bir madde ile sterilize edildikten sonra kesilerek açılır ve tohum steril bir aletle çıkarılabilir. Bundan sonra embriyo izole edilerek kültür ortamına yerleştirilir. İkinci yolda ise meyveden çıkarılan tohum sterilize edildikten sonra embriyo izole edilip kültüre alınır.



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Doku kültürü Yöntemleri

Meristem Kültürü

Meristem sürekli olarak bölünebilme yeteneğine sahip hücrelerin oluşturduğu dokulardır. Bu dokular sayesinde, bitkiler yeni hücre ve organlar kazanarak büyür. Meristem kültürünün esası, meristemin birkaç yaprak taslağı ile beraber binoküler mikroskop altında izole edilerek, uygun bir gıda ortamına yerleştirilerek geliştirilmesidir.

Anter Kültürü Anter kültürü haploid bitki elde etmek amacıyla kullanılır. Bitki ıslahı yönünden önem taşıyan anter kültürü, bir bitkiden izole edilen anterlerin uygun bir gıda ortamına yerleştirilerek, olgun olmayan polen tanelerinden bitkilerin geliştirilmesi tekniğidir.



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Doku kültürü Yöntemleri

Kallus Kültürü

Kallus kültüründe ana bitkiden alınan parça, yapay besin ortamında kallus dokusu oluşturur. Bu kallus dokusu genel olarak parankima hücrelerinden meydana gelir. Bu yöntemde başarı, bitkinin meydana getirdiği kallus dokusunun kök veya sürgüne dönüşüm yeteneğine bağlıdır. Kallus kültürüne, bitkinin bölünebilme özelliğine sahip hücrelerin bulunduğu bitki kısımlarından başlanabilir.



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Doku kültürü Yöntemleri

Protoplast Kültürü

Bu kültürünün temelini, hücre zarının yırtılarak protoplastın izole edilmesi ve steril besin ortamında geliştirilmesi oluşturur. Protoplastların kültüre alınması sonucunda uygun şartlarda protoplaslardan meydana gelen kalluslar, farklılaşarak sürgün ve kök oluşturabilmektedir.



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



Doku Kültürü ile Çoğaltım

Doku kültürü Yöntemleri

Bahçe bitkileri yetiştiriciliğinde kullanılmaya yararlarını şöyle belirtebiliriz. Embriyo kültürü ile türler arası melezlemelerde başarı sağlayabilmekte, anter kültürleri ile haploid bitkiler elde edilebilmekte, kallus ve hücre kültürüyle mutasyon ıslahı çalışmaları kolaylaştırılmakta, protoplast kültürü ile cinsler arası melezlemeler, somatik melezlemeler gerçekleştirilmekte ve yeni türler geliştirilmekte, gen transferleri söz konusu olabilmektedir.



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA

Doku
Kültürü ile
Çoğaltım

İn vitro ile Üretimi Yapılan İç Mekan Süs Bitkileri Bitki Kısımları	İç Mekan Süs Bitkileri
Meristem, Sürgün ucu	Orkide, Açelya, Karanfil, Krizantem
Koltukalti tomurcuk	Bromeliadlar, Orkide, Dracena
Tohum, Embriyo	Atatürk Çiçeği, Orkide
Yaprak parçaları	Begonya, Crassulali
Yaprak sapı	Begonya, Afrika Menekşesi



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA

Doku
Kültürü ile
Çoğaltım

In vitro ile Üretimi Yapılan İç Mekan Süs Bitkileri Bitki Kısımları	İç Mekan Süs Bitkileri
Çiçek sapı	Çarkıfelek, Begonya, Orkide
Rizom parçaları	Eğretiler
Soğan pulları, Soğan tablası	Zambak, Lale
Yumru dokusu	Tavşan Kulağı



VEGETATİF (EŞEYSİZ) ÇOĞALTMA



APOMİKTİK TOHUM KULLANARAK ÇOĞALTMA

Apomiksis, döllenme olmadan diploid hücrelerden embriyo meydana gelmesidir.. Bu embriyoların kullanılarak bitki çoğaltılırsa bu çoğaltmaya **apomiksis çoğaltma** denir. Apomiktik tohumda denilebilmektedir.

Süs bitkileri çoğaltımında kullanılan bir yöntem değildir. Bu yöntem sınırlı sayıda bitkide kullanılır. Örneğin turunçgillerdeki nusellar embriyolar, apomiksis olarak meydana gelen dişlerle sarımsağın çoğaltılması.