

MERİSTEM KÜLTÜRÜ

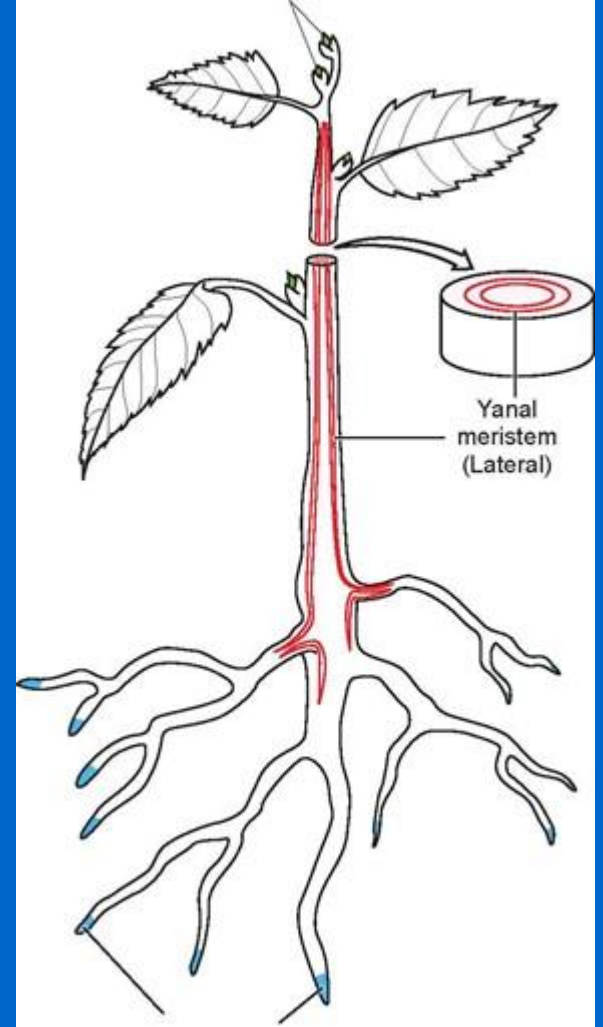
Bitkinin kök, gövde, yaprak gibi organlarında farklı dokular bulunur. Dokular aynı görevi yapmak üzere özelleşmiş hücre topluluklarıdır. Bitkilerde büyüme iki temel olayın sonucunda gerçekleşir. Bu temel olaylar, bölünür doku tarafından yeni hücrelerin oluşturulması, oluşan hücrelerin büyümesi ve gelişmesidir. Yüksek yapılu bitkilerde bulunan dokular üstlendikleri görevlere göre meristem, temel, iletim ve örtü doku olmak üzere dört gruba ayrılır:

1. Meristem Doku

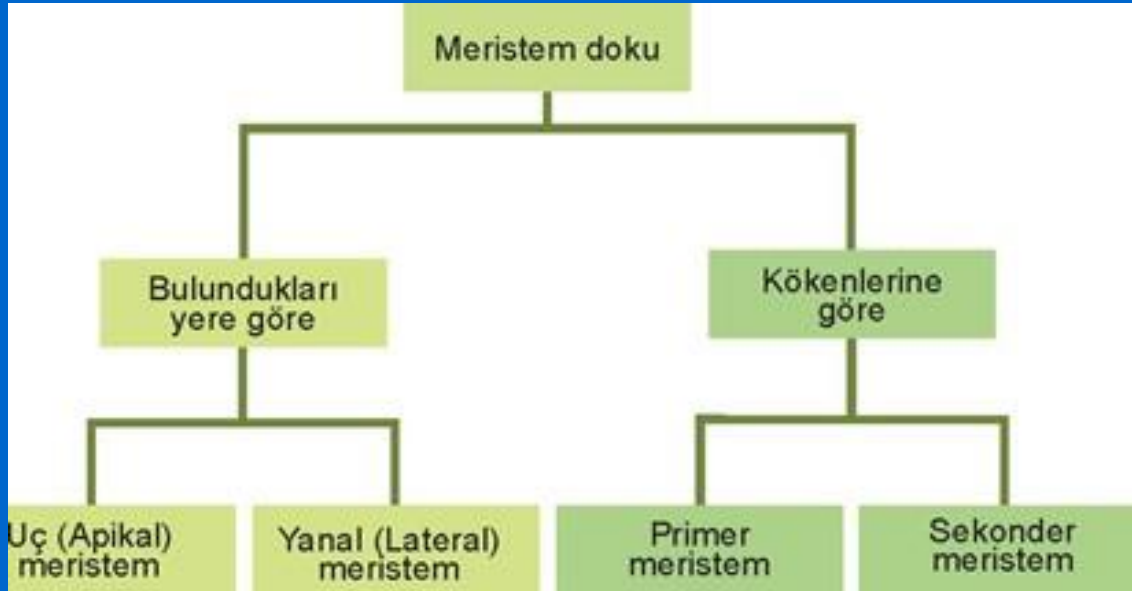
Meristem doku, bitkilerin büyüme bölgelerinde bulunur ve sürekli bölünebilme yeteneğine sahip hücrelerden oluşur. Meristem hücrelerinin bölünmesiyle meydana gelen yeni hücreler farklılaşarak çeşitli dokuları, dokular da organları meydana getirir. Böylece bitki büyür ve gelişir. Meristem hücreleri bol sitoplazmalı, büyük çekirdekli, ince çeperli, hücreler arası boşlukları olmayan kofulsuz ya da küçük kofullu hücrelerdir. Bu hücrelerin en önemli özellikleri canlı oldukları sürece mitozla yeni hücreler meydana getirebilmeleridir. Meristem doku bulunduğu yere ve kökenine göre sınıflandırılır.

Meristemler buldukları yere göre **uç (apikal)** ve **yanal (lateral)** **meristem** olmak üzere iki grupta incelenir . Kök ve gövdenin büyüme noktalarında bulunan uç meristem, bitkinin boyuna büyümesini; kök ve gövdenin yapısında bulunan yanall meristem ise bitkinin enine büyümesi ve kalınlaşmasını sağlar. Bitkilerde meristem dokunun sürekli bölünebilme özelliğine sahip olması, büyümenin sınırsız olmasını sağlar. Meristemler kökenlerine göre **primer (birincil)** ve **sekonder(ikincil) meristem** olmak üzere ikiye ayrılır. Primer meristem embriyonik dönemden beri bölünme yeteneklerini kaybetmemiş olan hücrelerden oluşmuştur. **Primer meristem kök ve gövdenin uç kısımlarında bulunur.** Sekonder meristem, **bölünme yeteneğini kaybetmiş parankima hücrelerinin sonradan bölünme yeteneği kazanması ile meydana gelir.** Kambiyum ve mantar kambiyumu sekonder meristeme örnektir. Kambiyum, odunsu ve bazı otsu bitkilerin kök ve gövdelerinde iletim demetlerinin oluşmasını böylece enine büyümeyi sağlayan dokudur. Mantar kambiyumu odunsu bitkilerde mantar tabaka içinde yer alır. Elverişsiz çevre koşullarına ve iç değişmelere karşı kök ve gövdeyi örterek koruyan mantar doku, sonradan bölünme özelliği kazanan hücrelerden oluşur. Bitki kalınlaştıkça mantar tabakanın en dışındaki hücre sıraları gerilime dayanamaz ve parçalanır. Mantar kambiyumu aktif bir şekilde bölünerek bu tabakayı devamlı yeniler.

Sürgün uç meristem



Kök Uç meristemi



Meristem kültürü

Meristem kültürü tekniği, bitkilerin primer meristematik dokularının izole edilerek steril koşullarda ve yapay besin ortamları üzerinde yetiştirme ve bu yolla yeni bitkiler elde etme esasına esasına dayanan dayanan bir vejetatif mikroçoğaltım yöntemidir

Meristem ve sürgün ucu kültürlerinin uygulama alanları

- ❖ Virssz materyal elde etmek
- ❖ Mikroçođaltım
- ❖ Germplazm muhafazası
- ❖ Genetik transformasyonlar
- ❖ Bitki materyallerinin uluslar arası deđiřimi
- ❖ Bakteri ve mantarlardan ari bitkilerin retilmesi

Meristem ucu kültüründe başarıyı etkileyen faktörler

a) Bitki materyali

Eksplantın büyüklüğü

Donör bitkinin fizyolojik durumu

Eksplantın alındığı mevsim

eřit

b) Kültür ortamı

Mineral tuzlar

şekerler

Agar

Büyüme düzenleyiciler

c) Kültür şartları

Eksplantın büyüklüğü

Büyük eksplantlar daha yüksek canlılık ve rejenerasyon kapasitesine sahip olmasına karşın, küçük eksplantlar virüs eliminasyonunda daha avantajlıdır.

Donör bitkinin fizyolojik durumu

Meristem ucu eksplantları bitkide vegetatif büyümenin aktif olduğu bir dönemde alınırda kültürde başarı oranı artmaktadır.

Eksplantın alındığı mevsim

Kullanılan bitki türüne göre, eksplantın alındığı mevsim başarıyı etkilemektedir.

Çeşit

Bitki doku kültürlerinde, iki genotip aynı kültür koşulları altında her zaman benzer şekilde cevap vermemektedir. In vitro kültürde, farklı genotipler arasındaki bu önemli farklılığı fizyolojik ve epigenetik faktörler de etkilemektedir

Mineral tuzlar

Eksplantlar genç fidanlardan alındığı zaman MS ortamı uygundur, ancak olgun ağaçlardan alınan eksplantlar için bu ortam toksiktir ve bu eksplantlar için düşük tuz oranına sahip ortamlar daha elverişlidir.

Şekerler

Karbon kaynağı, meristem ucu kültürü için kullanılan kültür ortamının önemli bir unsurudur. Genel olarak tüm besin ortamları karbon kaynağı olarak %1-3 oranında sakkaroz içerir.

Agar

Çoğunlukla eksplantlar yarı-katı ortamda kültüre alınmakta ve kültür ortamını katılaştırmak için agar kullanılmaktadır.

Büyüme düzenleyicileri

Çoğu bitki türlerinde büyümeyi ve meristemin gelişimini destekleyen düşük bir sitokinin düzeyi genellikle uygun olmaktadır. Oksinler kültürü başlatmak için mutlaka gerekli olmamasına karşın, düşük konsantrasyonlarda ilave edilmesi faydalı bulunmuştur. Giberellinler, sürgün gelişimini ve çoklu sürgün oluşumunu teşvik etmesi nedeniyle kültür ortamına ilave edilebilir.

Kültür şartları

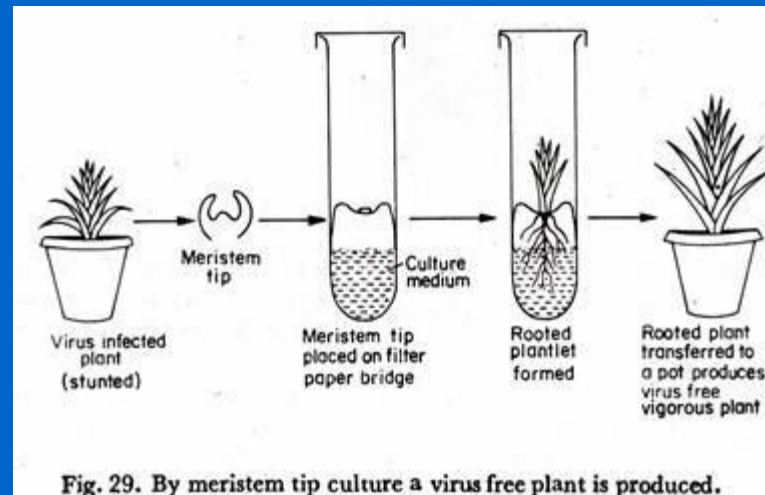
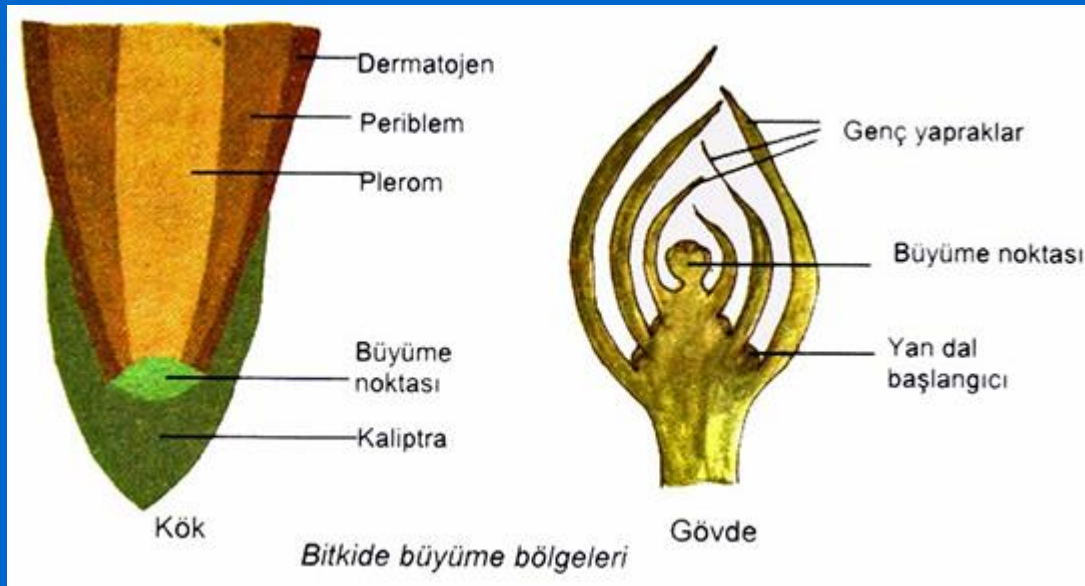
Işık, sıcaklık, fotoperiyot gibi çevre şartları in vitro' da farklılaşmayı etkilemektedir. Optimal koşullar her genotip için ayrı ayrı belirlenmelidir.

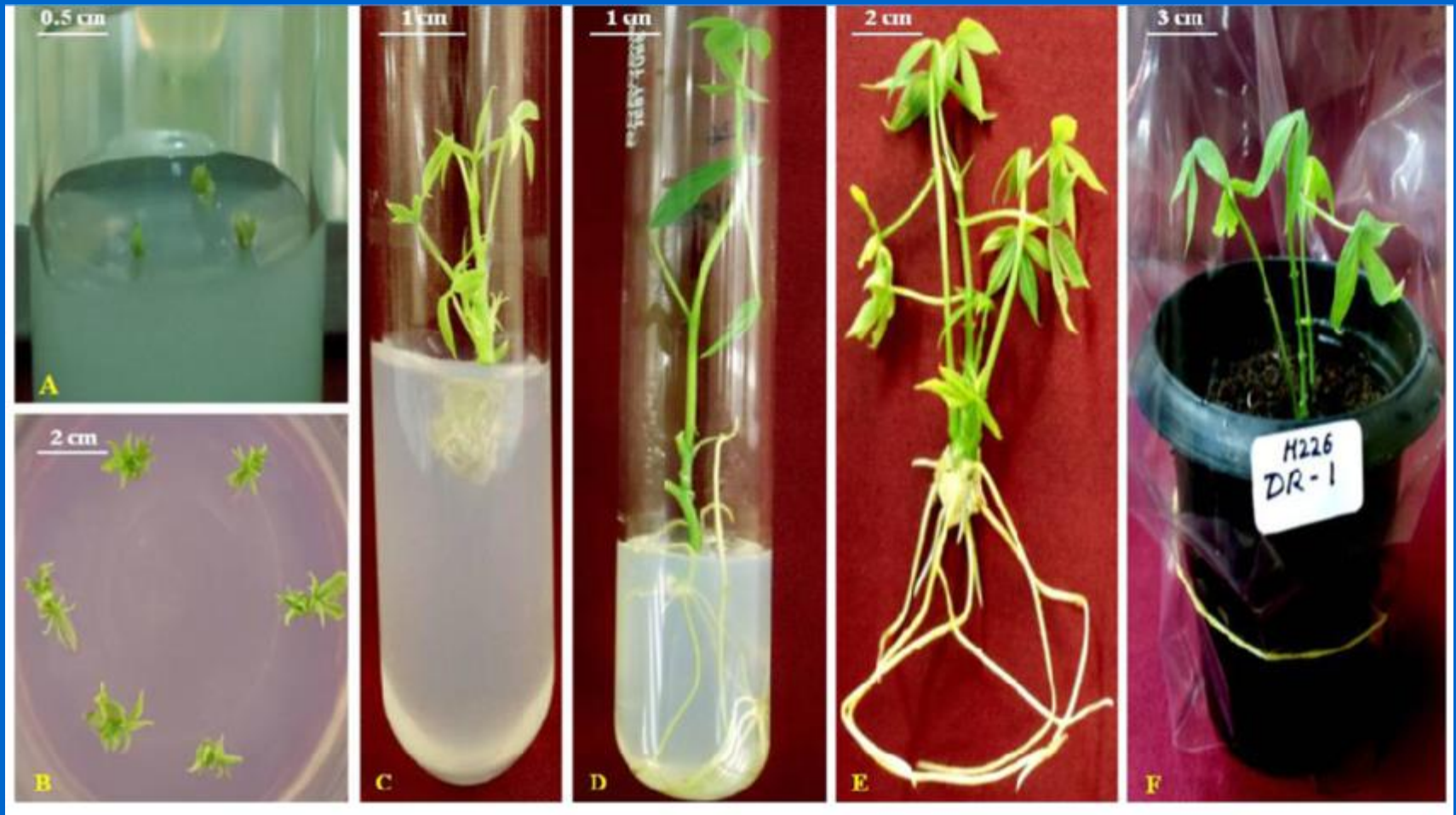
Meristem ucu kültürü uygulamalarında yüzey sterilizasyonu % 90'lık etil alkole(10-30sn) batırma,%0,5-10 sodyum hipoklorit solüsyonunda 15 dk bekletme ve steril distile su ile birkaç kez çalkalanır. Büyüme odasının sıcaklığı 24-26°C'ye, aydınlatma ise 4000 lüks'e ayarlanır.

Meristem ucu kültürü metodunun uygulanması

Eksplantın alınacağı uygun bir donör seçilir. Bitkiden en az bir boğum (nod) içeren sap parçaları kesilir. Donör bitkiye uygun sterilizasyon yöntemi belirlenir. Bitki materyali binoküler stereomikroskop tablasına yerleştirilir. Tomurcuğun apikal meristemini görmek için öncelikle yapraklar temizlenir sonra genç yaprak taslakları ile apikal kubbe kesilir. Ayrılan eksplant kültür ortamına yerleştirilir ve ortamın su kaybını önlemek için kültür kapları parafilm ile kaplanır.

Kaplar kültür odasına yerleştirilir ve genellikle 25°C'de 4000 lüks ışıktta 12-16 saat fotoperiyotta bırakılır. Eğer eksplant canlılığını devam ettirirse 7-14 gün içerisinde eksplantta bir uzama ve bitkicik gelişimi görülür. Gelişen bitkicikler çoğaltım için boğumlarının ayrılabilceği büyüklüğe ulaşıncaya kadar in vitro' da gelişmeye bırakılır. In vitro'da gelişen bitkicikler steril koşullar altında kültür kaplarından çıkarılır ve boğumlarına ayrılır. Her bir parça, aksiller tomurcuğun büyümesini sağlayacak taze ortama aktarılır. Böylece orijinal bitki virüsten ari olarak çoğaltılabilir





In vitro plant regeneration from apical meristem cultures of Cassava.
a One week old meristems on MCM;
b 21 days old established or elongated meristems;
c shoot induction from apical meristem;
d induction of





Meristem ucu kültürü çalışmalarında dikkat edilecek noktalar

Donör dokular genç kısımlardan ve bitkinin aktif olarak büyüyen bölgelerinden alınmalı.

Donör bitkilerin damlama sulama ile sulanması enfeksiyon problemlerini azaltmada yardımcı olur.

Meristem bölgesi etil alkol ile silinmiş binoküler stereomikroskopu altında yatay hava akışlı kabinde çalışarak meristem bölgesi izole edilmelidir.

Çok küçük eksplantın kültüre alınması halinde gelişme şansı düşüktür.

Bu nedenle meristemin yaprak taslakları ile birlikte kültüre alınması başarıyı arttırmaktadır.

Kesmenin bir sonucu olarak ortaya çıkan fenolik oksidasyon toksik etki yapabilir.

Kararma durumu halinde meristem derhal taze ortama aktarılması ile önlenebilir.