



Review Article

Journal of Agricultural Biotechnology (JOINABT) 4(1), 1-10, 2023

Received: 22-May-2023 Accepted: 13-Jun-2023

<https://doi.org/10.58728/joinabt.1300369>



SAKARYA UNIVERSITY
OF APPLIED SCIENCES

Bitki Doku Kültürünün Biyoteknolojik Olarak Kullanımı

Nilay KAYIN^{1*}, Ferzat TURAN²

¹ Rektörlük, Proje Geliştirme ve Koordinasyon Ofisi Koordinatörlüğü, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Bilecik, Türkiye.
nilay.kayin@bilecik.edu.tr

² Tarla Bitkileri, Ziraat Fakültesi, Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Arifiye, Sakarya, Türkiye.
ferzatturan@subu.edu.tr

ÖZ

Günümüzde ve gelecekte tarımsal üretimin sürdürülebilirliği oldukça önemlidir. Tarımda sürdürülebilirliği sağlamak için patojen olmayan veya virüssüz bitkiler yetiştirmek, var olan bitkilerin gen kaynaklarını korumak, yeni bitki çeşitleri geliştirmek, biyotik ve abiyotik stres koşullarına karşı dayanıklı bitkiler yetiştirmek önem arz etmektedir. Bu konulara bitki doku kültürü alanı hizmet etmektedir. Bitki doku kültürü, aseptik şartlarda yapay bir besin ortamında adına eksplant denilen hücre, doku veya organ gibi bitki kısımlarından kontrollü çevre koşullarında bitki üretim tekniğidir. Doku kültüründe geliştirilen bitkiler, çevre koşullardan etkilenmemektedir. Bunun yanında uygun kültür ortamında bu bitkilere çeşitli özellikler kazandırılmaktadır. Bu şekilde amaç, hastalıklar taşımayan bir bitki elde etmek, sekonder metabolitler üretmek, bitkilerin gen kaynaklarını korumak ve klasik tarım yöntemleriyle çözülemeyen sorunlara çözüm getirmek, kaliteli ekonomik bir bitkisel üretim gerçekleştirmektir. Bu derlemedeki amaç ise, doku kültürü ve doku kültür kullanım alanlarına bütüncül bir şekilde bakılmasını sağlamak ve önemini vurgulamaktır.

Anahtar Kelimeler: Doku kültürü, gen kaynakları, patojen

Biotechnological Use of Plant Tissue Culture

ABSTRACT

In the present day and the future, the sustainability of agricultural production is very important. It is important to grow non-pathogenic or virus-free plants to ensure sustainability in agriculture, protect the gene resources of existing plants, develop new plant varieties, and grow plants resistant to biotic and abiotic stress conditions. The field of Plant Tissue Culture serves these issues. Plant Tissue Culture is a plant production technique performed under controlled environmental conditions from plant parts such as cells, tissues or organs called explants in an artificial nutrient medium under aseptic conditions. The plants grown in tissue culture are not affected by environmental conditions. Also, these plants are given various characteristics in the appropriate culture environment. By doing so, the purpose is to obtain a disease-free plant, produce secondary metabolites, protect the gene resources of plants, solve the problems that cannot be resolved by classical farming methods, and realize high-quality economic plant production. The purpose of this paper is to provide a holistic view of tissue culture and tissue culture usage areas and to emphasize its importance.

Keywords: Tissue culture, gene sources, pathogen

* Sorumlu yazarın e-posta adresi: nilay.kayin@bilecik.edu.tr

1 Giriş

Bitki doku kültürü teknolojisi, büyük ölçekli bitki çoğaltma için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bitki doku kültürü teknikleri, bir araştırma aracı olarak kullanımlarının yanı sıra, son yıllarda bitki alanında bitki çoğaltma, hastalık eliminasyonu, bitki iyileştirme ve ikincil metabolitlerin üretimi alanlarında büyük endüstriyel öneme sahip olmuştur (Tefera, 2019; Singh ve Kumar, 2020). Bitki doku kültürü, eksplant adı verilen küçük bir doku parçasından yüzlerce ve binlerce bitki üretmek için kullanılabilir (Singh ve Kumar, 2020). Bu derlemede; birçok avantajı olan bitki doku kültüründe bahsedilecek ve biyoteknolojik kullanım alanları nelerdir gibi başlıklara değinilecektir. Bu sayede, bitki doku kültürü konusuna bütüncül olarak bakılması sağlanacaktır.

2 Doku kültürü

Bitkilerde doku kültürü yöntemi, bir üretim şeklidir. Bitki doku kültürü, bitkinin kök, gövde, yaprak gibi organlarından ya da apikal ve meristem dokularından alınan adına eksplant denilen bir doku parçasının sterilize edildikten sonra, çeşitli besin maddelerini içeren kültür ortamlarında *in vitro* şekilde kültüre alınması işlemidir (Topcu ve Çölgeçen, 2015; Dinçer ve ark., 2016; Aktaş ve Çölgeçen, 2017; İçigen, 2019). Bu şekilde amaç mikrobiyolojik hastalıklar taşımayan bir bitki elde etmek, biyokimyasal maddeler üretmek, bitkilerin gen kaynaklarını korumak ve klasik tarım yöntemleriyle çözülemeyen sorunlara çözüm getirmek, kaliteli ekonomik bir bitkisel üretim gerçekleştirmektir (Dilmen ve Göktürk Baydar, 2016; Balı ve ark., 2020). Bunun yanında genetik mühendisliğinde de doku kültürü yöntemleri; seçilmiş genotiplerin oluşturulmasında, hızlı gelişen fertlerin ortaya çıkarılmasında, bitkiler için abiyotik ve biyotik stres faktörlerine dayanıklı bireylerin seçilmesinde kullanılmaktadır (Dinçer ve ark., 2016).

Bitkilerde *in vitro* kültür ortamındaki ilk çalışma, Haberlandt tarafından 1902 yılında gerçekleştirilmiştir (Topcu ve Çölgeçen, 2015). Sonrasında ise doku kültürü çalışmaları, 1975 yılına kadar kallus kültürü ve bitki rejenerasyon esasına dayalı olarak devam etmiştir (Dinçer ve ark., 2016).

Bitki doku kültürü ile çevre koşullarından bağımsız bitki yetiştirme, bitkideki fitokimyasal miktarını artırma, bitki gen transferi için ortam oluşturma ve nesli tükenme tehlikesi altında olan türlerin korunması sağlanmaktadır (Dinçer ve ark., 2016).

Bitki doku kültürü uygulama alanı olarak genetik mühendisliği, sentetik tohum üretimi, klonal çoğaltma, sınırsız klon üretimi, ilaç ve besin sanayisi için ham madde sağlanması ve biyokimyasal ürünlerin eldesi sayılabilmektedir (Dinçer ve ark., 2016).

3 Mikroçoğaltım

In vitro teknik olarak da bilinen mikroçoğaltım, kısa sürede, sınırlı alanda, daha az anaç bitki kullanılarak çok sayıda bitki elde etme olanağı sağlayan, kontrollü koşullar altında yapılması nedeniyle çevre koşullarından ve mevsimden bağımsız, yılın her zamanında üretiminin mümkün olduğu bir tekniktir (Dilmen ve Göktürk Baydar, 2016; Bürün, 2021). Bu teknik özellikle klasik yöntemlerle çoğaltılması zor olan rekalsitrant (inatçı) tohumlu bitkilerin, vejetatif çoğaltılan türlerin ve tehlike altındaki bir türün korunması açısından çok önemlidir. Bunun yanında, seçkin genotiplerin ve genetik materyalin çoğaltılması, gen kaynaklarının ve bitki çeşitliliğinin *ex situ* korunması için de önemli olmaktadır (Bürün, 2021).

Mikroçoğaltım ile bitki üretiminin aşamaları bulunmaktadır. Bu aşamalar; kültürlerin kurulumu, sürgünlerin çoğaltılması, köklendirme ve alıştırma aşamaları olarak sınıflandırılabilir (Singh ve Kumar, 2020).

Kültürlerin başlatılması: Yüze sterilizasyonu sağlanan eksplantların kültüre alınması, sonrasında sürgün gelişiminin başlatılmasıdır. Eksplanta bağlı olarak, yeni sürgünler; bitki meristemlerinden, bitkiden elde edilen sürgünlerden, yapraklardan, kotiledonlardan veya eksplantlardan oluşan kallustan oluşan dolaylı organogenez ile başlatılabilir. Bu aşama için 4-6 hafta gerekir (Singh ve Kumar, 2020).

Sürgünlerin Çoğaltılması: Sürgünlerin ortama yerleştirilmesi ve sürekli çoğaltılmasıdır. Çoğalan sürgünler ayrılır ve farklı bir kültür ortamına transfer edilmektedir (Singh ve Kumar, 2020).

Köklendirme: Bu aşamada, sadece sürgünleri köklendirmek değil, bunun yanında bitkilerin, taşınma aşamasında iklime alıştırma ve hayatta kalmalarını sağlamak için iklimlendirilmesini de içermektedir (Singh ve Kumar, 2020).

Adaptasyon (Alıştırma): İklimlendirme aşaması olarak da bilinmektedir. Doğal koşullarda rejenere bitkilerin toprağa transferi aşamasıdır. Doğal koşullara transfer edilen bitkiler, yaprak yapısı ve morfolojisinde değişiklikler meydana getirmektedir. Böylece bitkiler doğal çevre koşullarında hayatta kalmaya uyum sağlamaktadırlar (Onay ve ark., 2012; Singh ve Kumar, 2020; Bejaoui, 2022).

Mikroçoğaltım ile üretimin faydaları; esas bitki ile birebir aynı ya da bu bitkiye benzer bitkiler elde etmek, elde edilen bitkilerle az sürede, yüksek miktarda ve sağlıklı bitkiler elde edilmek, eşeyli üremeyen bitkiler ve tek eşeyli bitkileri çoğaltma imkânı sağlamak şeklinde sayılabilmektedir (Aydın, 2019; Balı ve ark., 2020; Bürün, 2021).

3.1 Mikroçoğaltım Yönteminin Potansiyel Kullanım Alanları

- Seleksiyonla belirlenmiş bitkilerin enfeksiyonlu bitkilerin virüslerden arındırılması,
- Moleküler markörlerin bitki ıslahında geliştirilmesi ve heterozigot bitki popülasyonunun devam ettirilmesi,
- Islah edilmiş hibritlerin tohum üretiminin zor veya sınırlı olduğu durumlarda bitki çoğaltılması (Embriyo kurtarma teknikleri)
- Gen kaynaklarının muhafazası, mikroçoğaltım tekniklerinin kullanım alanlarından (Balı ve ark., 2020; Singh ve Kumar, 2020; Bürün, 2021).

Gen kaynaklarının muhafazasındaki temel prensipler; depolama süresinin uzamasını, gen kayıplarının azaltılmasını, fazla sayıda örneğin saklanabilmesini, bakım çalışmaları ve maliyetin azaltılmasını amaçlamaktadır. Buna yönelik uygulama alanı *ex-situ* koruma sınırlarında olan *in vitro* DNA, tohum muhafazası, gen bankası ve botanik bahçelerinin oluşturulması bulunmaktadır (Bilir, 2016).

3.2 Embriyo Kültürünün Kullanımı

Embriyo kültürü; olgun veya olgunlaşmamış embriyoların izole edilmesi *in vitro* koşullarda geliştirilmesi ya da muhafazası olarak tanımlanabilmektedir. Embriyo kültürü ortamındaki sakkaroz gibi karbonhidratlar, embriyonun gelişmesine katkıda bulunmakta ve ortamın ozmotik basıncını düzenlemektedir (Uysal ve ark., 2006; Dinçer ve ark., 2016). Şekil 1'de biber örneğinde görüldüğü

gibi embriyo kültür aşamaları; tohumdan embriyo izole edilmesi, sonrasında kültürden embriyoların alınması, embriyoların çimlendirilmesi, *in vitro* ortamda bitkiciklerin elde edilmesi, dış ortama elde edilen bitkiciklerin alıştırılması ve fide eldesidir (Ellialtıoğlu ve Taşkın, 2021). Embriyo kültürün tercih edilme amaçları ise aşağıda sıralanmıştır:

- a. Çimlenmeyen tohumları çimlendirmek: Bazı bitkilerin tohumları, embriyoyu kaplayan yapılardan dolayı doğal koşullarda çimlenememektedirler. Çimlenemeyen tohumlardan, olgunlaşmamış tohumların embriyoları izole edilmekte ve kültür ortamına alınmaktadır (Uysal ve ark., 2006).
- b. Mutlak parazit bitki tohumlarını çimlendirmek: Mutlak parazit olarak yaşayan bitki tohumları, konukçu bitki olmadan çimlenememektedir. Böyle sorunların yaşandığı bitkilerde embriyo kültürü kullanılarak olgun bitkiler geliştirilebilmektedir (Uysal ve ark., 2006).
- c. Yaşam döngüsünü kısaltmak: Bazı bitkilerin morfolojik ve fizyolojik nedenlerden dolayı tohumları çimlenmeyebilmektedir. Bu gibi durumlarda da embriyo kültürü kullanılmaktadır (Uysal ve ark., 2006).
- d. Uyuşmazlıktan dolayı gelişemeyen embriyoların geliştirmek: Bitki melezlemelerinde uyumsuzluk sorunları ortaya çıkmaktadır. Bu sorunlar embriyo oluşum ve gelişimini engellemektedir. Böyle durumlarda embriyo gelişmediği için verimli tohum eldesi mümkün olmamaktadır. Bu sorunların giderilmesinde de embriyo kültür yöntemleri kullanılmaktadır (Uysal ve ark., 2006; Akpınar, 2006; Ellialtıoğlu ve Taşkın, 2021).
- e. Sert çekirdekli meyvelerde sağlıklı embriyo gelişimini sağlamak: Sert çekirdekli şeftali, kiraz, erik gibi meyvelerde erken olgunlaşanların embriyoları besin maddelerinin taşınmasında kesintiye uğramaktadır. Bu durumda embriyo olgunlaşmadığı için melez bitki oluşmamaktadır. Bu sorun embriyo kültür ile giderilerek melez bitki elde edilebilmektedir (Uysal ve ark., 2006; Akpınar, 2006; Ellialtıoğlu ve Taşkın, 2021).
- f. Haploid bitkilerin oluşturulması: Melezlemelerde sonra oluşan tohumlarda, ebeveynlerden birinin kromozomunun yok olması sonucu haploid bitki meydana gelmektedir (Uysal ve ark., 2006; Akpınar, 2006; Ellialtıoğlu ve Taşkın, 2021).
- g. Embriyo gelişiminin incelemesi: Embriyo gelişimi için gerekli olan fitohormonlar, besin maddeleri ve çevre koşullarının incelenmesi için de kullanılmaktadır (Uysal ve ark., 2006; Akpınar, 2006; Ellialtıoğlu ve Taşkın, 2021). Embriyo kültüründe embriyoda üretilen bir metabolit de kullanılabilmektedir (Eray Vuran ve Türker, 2021).



Şekil 1: Biberde Embriyo Kültürü. a) Tohumdan izole edilen embriyo, b) Kültüre alınmış embriyolar, c) Çimlenmiş embriyo, d) *In vitro* bitkicikler, e) Dış koşullara aktarma, f) Fide (Ellialtıoğlu ve Taşkın, 2021)

3.3 Protoplast Füzyonunun Kullanımı

Bitki protoplastları, selülozik hücre çeperi enzimatik yolla çözdürülmüş hücrelerdir. İki ayrı bitkiden elde edilen bu hücreler birleştirilerek yeni bir bitki oluşturulmaktadır. Protoplast füzyonu tür içi, türler ve cinsler arasında yapılabilmektedir (Akgün ve ark., 1996).

Protoplast füzyonunun kullanım alanları, en küçük hücre birimine ulaşarak organellerin transferi sağlanmaktadır. Bunun yanında iki farklı tam hücre genomunu bir araya getirmektedir. Kısmi genom transferi sağlamakta ve genetik mühendisliği alanında katkı sağlamaktadır (Ekmekçi ve Sözen, 2005).

3.4 Kallus Kültürünün Kullanımı

Kallus kültürü, farklılaşmamış parankima yapılarının bölünerek oluşturduğu düzensiz hücre yığınları olarak ifade edilmektedir (Aktaş ve Çölgeçen, 2017; Erdemel ve Aygün, 2016; Dinçer ve ark., 2016). Kallus yapıları, bitkilerin yaralarının onarılmasında ve iki bitki parçasının aşılmasında kullanılmaktadır (Erdemel ve Aygün, 2016).

Kallus kültürünün kullanım alanları ise, bitki organları ve somatik embriyo eldesinde indirekt metot olarak kullanılmaktadır. Bunun yanında başlangıç materyali olarak hücre süspansiyonlarında, protoplast füzyonunda, bitki gen transferi çalışmalarında, abiyotik ve biyotik stres şartlarının analizinde kullanılmaktadır. Günümüzde oldukça önemli olan sekonder metabolit eldesi de yararlanılmaktadır (Erdemel ve Aygün, 2016). Yapılan çalışmalarda kallus kültürüyle daidzein, genistein, puerarin gibi birçok flavonoid üretildiğini ortaya koymuştur. Ayrıca pek çok çalışma da kallus kültürünün antimikrobiyal bileşiklerin üretiminde kullanıldığını belirtmektedir (Aktaş ve Çölgeçen, 2017; İçigen, 2019; Eray Vuran ve Türker, 2021).

3.5 Hücre Süspansiyon Kültürü Kullanımı

Tek veya küçük bir hücrenin çalkalanmakta olan sıvı kültür ortamında oluşturdukları hücre ya da hücre kümelerine hücre süspansiyon kültürü denilmektedir (Eray Vural ve Türker, 2021; Aktaş ve Çölgeçen, 2017). Hücre kültürleri, özellikle bazı sekonder metabolitleri üretim noktasında büyük öneme sahiptirler (Topcu ve Çölgeçen, 2015). Bunun yanında homojen yapıda olmaları, hızlı çoğalmaları, biyoreaktör kullanımı açısından uygun olmaları, alt kültürde değişimin az olması gibi nedenlerden dolayı tercih edilmektedirler (Eray Vuran ve Türker, 2021). *Rosa damascena* bitkisiyle yapılan hücre süspansiyon kültürü çalışmasında bazı uçucu ve polar maddeler sentezlendiğini ortaya koymuşlardır (Dilmen ve Göktürk Baydar, 2016).

3.6 Kök Kültürü Kullanımı

Kök kültürü üretiminde *Rhizobium rhizogenes* türü bakterilerin inokülasyonu sonucu kök fenotipi ortaya çıkmaktadır. Bu şekilde üretilen kök fenotipleri kararlıdır, hızlı gelişme gösterir ve hormon ilave edilmeden de kültür devamlılığı sağlanabilmektedir. Bunun yanında inkübasyon ortamında gelişim için ışığa ihtiyaç duymamaktadır. Bu özellikleri sayesinde sekonder metabolit eldesinde tercih edilmektedir. Yapılan çalışmalar; piridin, tropan, antrakinin ve alkaloidler gibi sekonder metabolitlerin yüksek oranda kök kültürü ile üretildiğini ortaya koymuştur (Eray Vuran ve Türker, 2021).

Li ve ark., 2000 yaptıkları çalışmada, *Glycyrrhiza glabra* bitkisinin saçak kök kültüründe önemli flavonoidleri *Agrobacterium rhizogenes* aracılığıyla üretmişlerdir (Aktaş ve Çölgeçen, 2017). Çizelge 1'de de bazı bitkilerde kök kültüründe sekonder metabolit üretimi üzerine yapılan bazı çalışmalar gösterilmektedir. Özellikle *Glycyrrhiza uralensis* kök kültüründe flavonoid miktarı 28.38 mg/g DW gibi oldukça yüksek miktarda bulunmuştur.

Tablo 1: Kök kültürlerinden sekonder metabolit üretimi üzerine yapılmış bazı çalışmalar

Bitki türü	Sekonder metabolit	Hacim	İçerik	Referans
<i>Arachis hypogaea</i>	Resveratrol	250 ml F	4.3 nmol/g DW (kök)	Condori et al. (2010)
<i>Brassica rapa</i>	Glucosinolates	250 ml F	80 mol/g DW	Kastell (2009)
<i>Beta vulgaris</i>	Betalains	500 ml F	47.1 mg/g DW	Georgiev et al. (2010)
<i>Brugmansia candida</i>	Anisodamine	1.5 l B	10.1 mg/g DW	Cardillo et al. (2010)
<i>Centella asiatica</i>	Triterpenoids	100 ml F	0.55% DW	Kim et al. (2010)
<i>Chinese cabbage</i>	Indole glucosinolates	100 ml F	1.6 μmol/g FW	Zang et al. (2009)
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Flavonoid	100 ml F	28.38 mg/g DW	Zhang et al. (2009)
<i>Salvia sclarea</i>	Diterpenoid	10 l B	67.5 mg/g DW	Kuzma et al. (2009)
<i>Taxus media var. Hicksii</i>	Paklitaksel	250 ml F	568.2 μg/l	Syklowska-Baranek et al. (2009)
<i>Gossypium hirsutum L.</i>	Gossypol	250 ml F	2.43 mg/g DW	Verma et al. (2009)
<i>Panax quinquefolium L.</i>	Ginsenoside	250 ml F	200 mg/g DW	Mathur et al. (2010)

<i>Psoralea corylifolia</i>	Daidzein	250 ml F	2. 06% DW	Shinde et al. (2010)
-----------------------------	----------	----------	-----------	----------------------

Kaynak: (Topcu ve Çölgeçen, 2015).

4 Bitki Doku Kültürü Uygulamaları

4.1 Sağlıklı Bitki Üretimi

Meristem doku kültürü, enfekte olmuş tek bir bitkiden kısa sürede çok sayıda hastaliksız çoğaltım elde edilebilme en yaygın yöntemlerinden biridir (Lakhera ve ark., 2018; Tefera, 2019). 1952 yılından beri çok sayıda araştırma, meristem doku kültürü yöntemiyle farklı türlerde virüssüz bitkiler üretilebildiğini ortaya koymuştur. 1965 yılında da meristem kültür yoluyla virüssüz frezya bitkilerinin elde edildiği çalışmalar yapılmıştır (Lakhera ve ark., 2018).

Habtamu ve Mohammed (2016), yaptıkları çalışmada bazı bitkiler için hastaliksız bitki materyali üretiminde doku kültürünün rolünü araştırmışlardır. Sonucunda ananas, muz, patates gibi bitkilerin hastalığa karşı dayanıklı olduğunu ortaya koymuşlardır (Tefera, 2019). Ramgareeb ve ark., 2010 yaptıkları çalışmada, şeker kamışında virüs eliminasyonu ve sürgün çoğaltma için apikal meristem kültür protokolünü oluşturmuştur. Hatira Taşkın ve ark., 2013 yaptıkları çalışmada virüssüz sarımsak üretimi için meristem kültürü ile sürgün ucu tekniğini karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda, meristem doku kültürü ile üretilen bitkiciklerin sağlıklı olduğunu, sürgün kültüründen elde edilen bitkiciklerin ise enfekte olduğunu ortaya koymuşlardır. Tania San Pedro ve ark., 2017 yaptıkları çalışmada virüssüz ana bitkiden tek boğumlu kültür yöntemi kullanılarak üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşidi Monastrell üretimi için protokol geliştirmişlerdir (Lakhera ve ark., 2018).

4.2 Bitkileri Hızlı Çoğaltılması

Mikro çoğaltım ile tek bir bitkiden kısa sürede çok sayıda hastaliksız çoğaltım elde edilebilmesinin yanında, çoğaltmanın tüm yıl boyunca yapılabilmesi ve çoğaltma materyalinin küçük bir alanda barındırılabilmesi, iş gücünün azalmasıdır (Lakhera ve ark., 2018).

Meristem kültürü; mikro bitkiler, yumrular vb. gibi kaliteli bitki kısımlarının büyük ölçekli üretimi için bir teknik olarak endüstriyel önem kazanmıştır. Karla A. Quiroz (2017) enfekte bitkilerden virüsü ortadan kaldıran Şili çileğini (*Fragaria chiloensis* (L.) Duch.) meristem kültürünü üretmiştir ve çiftçiler açısından çoğaltma yeteneği yüksek kaliteli fidan üretimi sağlamıştır. Meristem doku kültürü, mikro çoğaltma potansiyeline bağlı olarak yeni türler arası hibritlerin çoğaltılmasında kullanılmaktadır (Lakhera ve ark., 2018).

4.3 Transgenik Bitki Elde Etmek

Genetik transformasyon, arzu edilen özelliklere sahip genlerin konakçı bitkilere aktarılması ve transgenik bitkilerin geri kazanılması için araçlar sağlayan bitki hücresi ve doku kültürünün en yeni yönüdür (Tefera, 2019; Singh ve Kumar, 2020). Transgenik bitki üretiminde, izole edilen bitki hücreleri ya da dokuları ve aktarıldığı tüm bitkiyi transgenik hale getirmesi gerekmektedir. Doku kültürü ortamında, çevre şartları ve büyüme ortamı kontrol altında tutularak rejenerasyon sıklığı sağlanmaktadır (Lakhera ve ark., 2018). Teknik, bitki biyoteknolojisi ve ıslah programlarına entegre edilerek çeşitli bitkilerin genetik olarak iyileştirilmesinde büyük bir potansiyele sahiptir. Artan verim, daha iyi kalite ve zararlılara ve hastalıklara karşı gelişmiş direnç gibi agronomik önemli özelliklerin tanıtılması için umut verici bir role sahiptir (Tefera, 2019; Singh ve Kumar, 2020). Bitkilerde genetik

transformasyon, vektör aracılı (indirekt gen transferi) veya vektörsüz (direkt gen transferi) yöntemlerle sağlanabilir. Vektör bağımlı gen transfer yöntemleri arasında, bitki hücrelerinde yabancı genlerin ekspresyonu için en yaygın olarak *Agrobacterium* bakterisi aracılı genetik transformasyon kullanılmaktadır (Tefera, 2019). E. C. Ulian vd., 1988'de yaptıkları çalışmada, kanamisin direnci ve beta-glukuronidaz genlerini taşıyan *A. tumefaciens* bakterisini kullanarak sürgün ucu meristem kültüründe gen transferi sağlamışlardır (Lakhera ve ark., 2018).

Son zamanlarda *Jatropha* bitkisinin başarılı transgenik bitkileri, parçacık bombardımanı yöntemiyle tohumdan türetilmiş olgun sürgün uçlarına doğrudan DNA transferi yoluyla elde edilmiştir. Bu teknoloji, çeşitli endüstriyel sektörlerde tohum kullanımının önündeki engeli kaldırma noktasında tohumlardaki toksik maddelerin azaltılmasında önemli bir etkiye sahiptir. Hastalık veya viral dirençli bitkilerin rejenerasyonu artık genetik transformasyon tekniği kullanılarak sağlanmaktadır (Tefera, 2019).

4.4 Genetik Kaynakların Korunması

Bitki genetik kaynaklarının korunması, Dünya çapında geniş bir genetik çeşitlilik sunabilmek adına ihtiyaç duyan gıda güvenliği ve tarımsal biyoçeşitlilik için gereklidir. Genetik çeşitlilik, biyolojik ve çevresel stres faktörlerine dayanıklı, yeni ve daha verimli mahsullerin seçimi ve ıslahını sağlamak için alternatif sunmaktadır. Özellikle *in vitro* kültür teknikler ve moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler, bitki genetik kaynaklarının daha iyi korunması için bazı imkanlar sağlamaktadır. *In vitro* kültür, tohum bankacılığının mümkün olmadığı bitkilerin genetiklerinin korunması için uygulanabilir bir alternatiftir.

Yapay kültür ortamlarında bitki germplazmının steril koşullar ve sabit çevresel faktörler altında büyümeyi içeren periyodik alt kültürleme ile bitki materyalinin doku kültürü koşulları altında birkaç yıl tutulmasına izin vermektedir (Tefera, 2019).

4.5 Sekonder Metabolit Üretimi

Sekonder metabolitler; insan ve hayvanda mikrobiyolojik etkiler gösteren bileşiklerdir ve bu durum bu bileşiklerin var oldukları bitkiyi de hastalıklara karşı koruduğunun kanıtıdır. Bunun yanında, sekonder metabolitlerin UV absorpsiyonu yapanları da vardır ve yaprakları ışık zararına karşı korumaktadır (Eray Vuran ve Türker, 2021).

Biyoaktif olan bu bileşikler insan ve hayvanda farmakolojik veya toksikolojik etkileri de vardır. Bu sekonder metabolitlerin, bitkilerden ticari olarak elde edilmesi çok güçtür. Biyoaktif olan bu maddeler yaklaşık bitki ağırlığının %1'inden daha azdır. Bu nedenle bitki doku kültürü teknolojisi değerli bu sekonder metabolitlerin üretiminde alternatif olarak görülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, değerli bu moleküllerin üretiminde tam bitkiyi yetiştirmeden bitki doku kültürü uygulamaları bir alternatif yol olarak düşünülmektedir (Topcu ve Çölgeçen, 2015; Eray Vuran ve Türker, 2021).

4.6 Somatik Hibridizasyon

Somatik hibridizasyon (SH) protoplast füzyonu yoluyla, türler arası ve türler arası hibritlerin üretimi için önemli bir araçtır ve iki farklı genom kaynaştırıcı protoplastlarını, ardından istenen somatik hibrit hücrelerin seçimini ve ardından hibrit bitkinin rejenerasyonunu içermektedir (Tefera, 2019; Singh ve Kumar, 2020). Somatik hibridizasyon, artan verim ve hastalıklara karşı direnç ile yeni melezler oluşturmak için farklı bahçecilik ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca tuz

toleransı, kalite iyileştirme, sitoplazmik erkek kısırlılığının (CMS) transferi, çekirdeksiz triploidler ve anaç iyileştirme için de kullanılmıştır (Tefera, 2019).

Protoplast füzyonu ile somatik hibridizasyon, narenciye üreme özellikleriyle ilgili birçok sorunun üstesinden gelerek yeni genotiplerin elde edilmesine olanak sağlamıştır. Somatik hibridizasyon, turunçgillerde, anacın çeşitli biyotik ve abiyotik streslere karşı direncini ve verimin artırılmasının yanı sıra meyve kalitesinin artmasına neden olmuştur (Tefera, 2019; Singh ve Kumar, 2020).

4.7 Organogenez

Organogenez, doğrudan bir eksplanttan veya bir kallus kültüründen organ üretimine dayanmaktadır. Organogenez yoluyla üç bitki regerasyonu yöntemi vardır. İlk iki yöntem, bir kallus kültüründen veya doğrudan bir eksplanttan kaynaklanan tesadüfi organlara bağlıdır. Alternatif olarak üçüncü yöntem ise, bazı doku kültürü türlerinden tüm bitkiyi yeniden oluşturmak için de kullanılabilen aksiller (axillary) ama oluşum ve büyüme yöntemidir. Organogenez, bitki dokularının doğal plastisitesine dayanmakta ve ortamın bileşenlerini değiştirerek düzenlenmektedir. Özellikle, yenilenen dokunun hangi gelişim yolunu izleyeceğini belirleyen, ortamın oksin sitokinin oranıdır (Lakhera ve ark., 2018).

5 Sonuçlar

Sonuç olarak; bitki doku kültürü, tarımın sürdürülebilir üretiminde önemli bir rol oynama potansiyeline sahiptir. Bununla birlikte, hastalık ve haşere direncini iyileştirmek için bazı vejetatif olarak üretilen bitkilerin genetik manipülasyonu için muazzam bir potansiyel vardır. Bitki doku kültürü, şu anda en umut verici uygulama alanlardan biri oluşturmaktadır. Bu yüzden tarımsal sürdürülebilirlik ve gıda güvenliği noktasında değerlendirilmeli, çalışmalar genişletilmelidir.

6 Beyanname

Rakip çıkarlar

"Bu çalışmada herhangi bir çıkar çatışması yoktur."

Bu makalede 1.yazar literatür taraması ve makale yazımına, 2. yazar ise makale düzenlenmesine katkıda bulunmuştur.

7 Kaynakça

- Akgün, İ., Tosun, M. ve Sağsöz, S. (1996). Biyoteknoloji ve bitki ıslahındaki kullanım alanları. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27 (2), 312-323.
- Akpınar, G. (2006). Embriyonik kültür yöntemiyle yetiştirilen ve soğukta muhafaza edilen ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkilerinde karyolojik ve anatomik incelemeler. Yüksek Lisans Tezi, Edirne: Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Aktaş, T. ve Çölgeçen, H. (2017). Farklı bitki türlerinden bitki doku kültürü teknikleriyle flavonoidlerin üretimi. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 7 (2), 665-673.
- Balı, E. A., Türkmen, O. S., Baytekin, G., Dardeniz, A. ve Şahin, E. (2020). Bazı üzüm çeşitlerinin doku kültürü yöntemiyle mikroçoğaltımı üzerine bir araştırma. *ÇOMÜ LJAR*, 1 (2), 30-35.
- Bejaoui, R. (2022). *Kalanço (kalanchoe blossfeldiana poelln.)'nun in vitro koşullarda mikroçoğaltımı*. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Bürün, B. (2021). Bitki biyoçeşitliliğinin korunmasında biyoteknolojinin kullanımı ve Türkiye'deki çalışmalar. *Eskişehir Technical University Journal of Science and Technology C- Life Sciences and Biotechnology*, 3 (2), 1-16.
- Dilmen, R. ve Göktürk Baydar, N. (2016). Yağ Güllü (*Rosa damascena* mill.)'nde doku kültürü uygulamaları. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11 (2), 134-141.
- Dinçer, D., Bekçi, B. ve Bekiryazıcı, F. (2016). Türkiye'deki doğal bitki türlerinin üretiminde doku kültürü tekniklerinin kullanımı. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi TARGİD Özel Sayı*, 295-302.
- Ekmekçi, B. A. ve Sözen, E. (2005). Proplast füzyonu ile origanum onites ve origanum majorana arasında somatik hibritlerin eldesi ve bunların moleküler analizle onaylanması. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6 (1), 157-165.
- Elliatioğlu, Ş. Ş. ve Taşkın, H. (2021). Süs bitkileri ıslahında kullanılan doku kültürü, genetik mühendisliği ve mar kır yöntemleri. N. Y. Yalçın Mendi, & S. Kazaz içinde, *Süs Bitkileri Islahı* (s. 203-234). Ankara: Gece Kitaplığı.
- Eray Vuran, N. ve Türker, M. (2021). Bitki doku kültürlerinde sekonder metabolit miktarını arttırmaya yönelik uygulamalar. *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences* 33 (3), 487-498.
- Erdemel, B. H. ve Aygün, A. (2016). Bazı *Prunus* spp türlerinin tohumlarından kallus kültürlerinin oluşturulması . *Akademik Ziraat Dergisi*, 5 (1), 9-12.
- İçigen, H. Ö. (2019). *Bitki doku kültürü yöntemi ile elde edilen bazı bitki türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, FBE, Kütahya.
- Lakhera, K., Kumar, A., Rani, A., Dixit, R., & Rana, S. (2018). Plant tissue culture and its application. *Bulletin of Pure & Applied Sciences- Botany* 37 (6), 32-37.
- Onay, A., Yıldırım, H., Pirinç, V., Tilkat, E., Çiftçi, Y. Ö., Akdemir, H. ve Kılınç, F. M. (2012). Bitkilerin biyoteknolojik yöntemlerle ticari çoğaltımı; mevcut ve gelecekteki durum. *Journal of Life Sciences*, 1 (2), 11-28.
- Singh, J. and Kumar, A. (2020). Plant tissue culture and its application in agriculture as biotechnological tool. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, Special Issue* (11), 274-284.
- Tefera, A. A. (2019). Review on application of plant tissue culture in plant breeding. *Journal of Natural Sciences Research* 9 (3), 20-25.
- Topcu, Ş. ve Çölgeçen, H. (2015). Bitki sekonder metabolitlerinin biyoreaktörlerde üretilmesi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 8 (2), 09-29.
- Uysal, H., Seyis, F. ve Kurt, O. (2006). Tarla bitkilerinde melezleme bariyerlerinin aşılmasında alternatif yöntem: embriyo kültürü. *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 2 (1), 116-122.



© 2020 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).