

Katı ve Sıvı Kültür Ortamlarında LED Aydınlatmanın *Alternanthera reineckii* Briq.'nin Mikroçoğaltımı Üzerine Etkisi


Ümmügülsüm EKİN¹
Muhammet DOĞAN²

Özet: Işık, bitki büyümesinde önemli çevresel faktörlerden biridir. Birçok avantajından dolayı ışık yayan diyotlar (LED), bitkilerin ışık ortamının düzenlenmesi için önemli ışık kaynaklarından biri haline gelmiştir. Bu çalışmada, Thidiazuron (TDZ) içeren katı ve sıvı kültür ortamları ve farklı LED aydınlatma koşullarının *Alternanthera reineckii* Briq.'nin sürgün rejenerasyon yeteneği üzerindeki etkileri incelenmiştir. Boğum eksplantları 0,25-1 mg/L TDZ içeren Murashige ve Skoog (MS) besin ortamında kültüre alınmıştır. Aydınlatma için kırmızı, mavi ve beyaz LED tek olarak ve kırmızı ve mavi LED ışıkların farklı kombinasyonları kullanılmıştır. Kontrol olarak beyaz floresan tercih edilmiştir. Sürgün rejenerasyon değerleri incelendiğinde, LED ışıkların floresan ışığa göre daha verimli oldukları görülmüştür. Daha fazla sürgün sayısı ve uzun sürgünler kırmızı ve mavi LED ışıkların kombinasyonlarında elde edilmiştir. 0,25 mg/L TDZ ve 1K:2M LED ışık uygulamaları katı kültür ortamında en fazla sayıda sürgünleri vermiştir (9,03 sürgün/eksplant). Sıvı kültür ortamında en fazla sürgün sayısı 0,50 mg/L TDZ ve 2K:1M LED uygulamalarında elde edilmiştir (11,62 sürgün/eksplant). Katı ve sıvı kültürlerde en uzun sürgünler 1K:2M LED ışık altında ve 0,25 mg/L TDZ'li MS besin ortamında tespit edilmiştir. Doku kültürü koşullarında köklendiren bitkiler ardından akvaryum koşullarına başarıyla şekilde alıştırılmıştır.

Anahtar kelimeler: Boğum eksplant, doku kültürü, in vitro üretim, sürgün rejenerasyonu

Influence of LED Lighting on Micropropagation of *Alternanthera reineckii* Briq. in Solid and Liquid Culture Media

Abstract: The light is one of the important environmental factors in plant growth. Due to its many advantages, light emitting diodes (LEDs) have become one of the important light sources for regulating the light environment of plants. In this study, the effects of solid and liquid culture media containing Thidiazuron (TDZ) and different LED lighting conditions on the shoot regeneration ability of *Alternanthera reineckii* Briq were investigated. Nodal explants were cultured in Murashige and Skoog (MS) medium including 0.25-1 mg/L TDZ. Single red, blue and white LEDs and different combinations of red and blue LEDs were used for illumination. White fluorescent was used as a control. When the shoot regeneration values were examined, it was seen that LED lights were more efficient than fluorescent light. Higher shoot numbers and longer shoots were obtained in combinations of red and blue LED lights. The treatment with 0.25 mg/L TDZ and a ratio of 1R:2B LED lights resulted in the highest number of shoots in solid culture medium (9.03 shoots/explants). The maximum number of shoots in liquid culture medium was obtained in 0.50 mg/L TDZ and 2K:1M LED applications (11.62 shoots/explants). The longest shoots in solid

¹Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Kamil Özdağ Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Karaman, Türkiye, ummuekinn@yandex.com,  0000-0002-1462-5955

²Corresponding author, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Karaman, Türkiye, mtdogan1@gmail.com,  0000-0003-3138-5903

and liquid cultures were determined under 1R:2B LED light and in MS nutrient medium with 0.25 mg/L TDZ. The plants rooted in tissue culture conditions were then successfully acclimatized to aquarium conditions.

Keywords: Nodal explant, tissue culture, *in vitro* propagation, shoot regeneration

GİRİŞ

Doku kültürü bir bitkinin hücre, doku veya organının yapay olarak oluşturulmuş bir besin ortamında üretmek için izlenen bir yöntemdir. Aynı zamanda bitkinin özelliklerini iyileştirmenin yollarını da kapsar. Laboratuvar ortamı dışında bitki üretimi, zigotik hücreler kullanılarak tohumlar yoluyla veya somatik hücreler aracılığıyla gerçekleştirilebilir. Bu nedenle, somatik hücrelerin en azından rejenerasyon potansiyeline sahip olması önemlidir. *In vitro* koşullar altında, hem zigotik hem de somatik hücreler (meristematik olmayan dokular dâhil) bitki çoğalmasına katkıda bulunur. Kontrollü bir ortamda bu tür çoğaltma, bitkilerin toplu çoğalmasına yol açar (Haque vd., 2022). Doku kültürü teknikleri kullanılarak ekonomik öneme sahip *Bacopa monnieri* L. Pennell (Dogan & Emsen, 2018), *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. (Kumar vd., 2022), *Dendrobium heterocarpum* Wall. ex. Lindl (Longchar & Deb, 2022), *Bambusa tulda* Roxb. ve *Pseudoxytenanthera stocksii* (Munro) T.Q.Nguyensii Munro. (Choudhary vd., 2022) gibi birçok bitki türü *in vitro* klonlanarak çoğaltılmıştır.

Mikroçoğaltım, bitkiden alınan eksplantlar (bitki doku veya parçaları) kullanarak *in vitro* koşullarda, yapay besin ortamında ve steril koşullarda genotip ve fenotip olarak kalıtsal çeşitliliği olmayan fazla sayıda bitkinin çoğaltılmasına denir (Türker & Hatipoğlu, 2018). Diğer bir ifade ile *in vitro* kültür tekniklerini kullanarak seçilen bir bitkinin hızlı bir şekilde çoğaltılmasıdır (Dogan, 2022; Papafotiou vd., 2023; Ioannidis vd., 2023). Geleneksel vejetatif çoğaltımın üzerinde birçok avantaja sahiptir ve bahçecilik, tarım ve ormancılıktaki ticari kullanımı oldukça yaygındır (Singh, 2015).

LED'ler yapay aydınlatma alanına giren yeni bir aydınlatma teknolojisidir. Geleneksel aydınlatma sistemlerine göre daha uzun kullanım ömrü, daha küçük boyut, daha yüksek fotosentetik verimlilik, daha az termal radyasyon ve daha yüksek güvenlik performansı gibi çeşitli avantajlar sağlar (Schuerger vd., 1997; Dogan, 2020; Al Murad vd., 2021). Aslında LED'ler bitki büyümesini, besin kalitesini ve verimini iyileştirmek için isteğe bağlı bir ışık kalitesi işlevi görür. LED'lerin bitki üretimi ve geliştirmede verimli kullanımı için bir sistem yaklaşımı geliştirilmesi önemlidir. LED aydınlatmanın potansiyelleri fazladır ve bunlardan bitki büyümesini optimize etmek için türe özgü bir ışık tarifinin geliştirilmesi gereklidir (Al Murad vd., 2021; Gupta & Sood, 2023). Doku kültürü çalışmalarında LED ışıkların kullanımı son yıllarda giderek artış göstermektedir (Martinez & Andreu, 2022; Djangalina vd., 2023; Lim vd., 2023).

Bu nedenle mevcut çalışmada, *A. reineckii*'nin kırmızı, mavi ve beyaz LED ışıklar altında tek olarak, kırmızı ve mavi LED ışıkların farklı kombinasyonları altında doku kültürü teknikleri ile üretilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca etkili bir *in vitro* üretim için sıvı ve katı kültür ortamları karşılaştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bitki yüzey sterilizasyonu daha önce Uğur vd. (2019) tarafından gerçekleştirilmiştir ve KMU Biyoloji Bölümü Laboratuvarında steril olarak mevcuttur. Üretimde bu steril bitkiler kullanılmıştır.

In vitro üretimlerde eksplant kaynağı olarak boğum eksplantlar kullanılmıştır. Kültürlerin hazırlanmasında besin ortamı olarak Murashige and Skoog (1962), (MS) mineral tuz ve vitaminleri kullanılmıştır. Karbon kaynağı olarak %3 oranında sükröz (Duchefa) eklenmiştir. MS ortamına 0,25, 0,50 ve 1 mg/L Thidiazuron (TDZ) ilave edilmiştir. Denemeler sıvı ve agarla katılaştırılmış olarak iki şekilde gerçekleştirilmiştir. Katı besin ortamına %0,65 agar (Duchefa) ilave edilmiştir. Kültürlerin pH

seviyesi 1 N NaOH ve 1 N HCl ile $5,7\pm 1$ olarak düzenlenmiş ve ardından otoklavda steril edilmiştir (121°C'de 20 dk). Eksplant ekilmiş kültürler sıcaklık ve ışık kontrollü iklimlendirme odasına yerleştirilmiştir. Aydınlatmalar için LED ışık sistemleri kullanılmıştır. Kullanılan LED ışıklar kırmızı, mavi ve beyaz LED'lerin tekli kullanımı ile kırmızı ve mavi LED ışıkların farklı kombinasyonları olarak belirlenmiştir. Uygulanan ışık şiddeti 1500 lüks olarak ayarlanmıştır. Kontrol grubu olarak beyaz flouresan ışık kullanılmıştır. Altı hafta sonunda denemeler sonlandırılmıştır.

Uzayan sürgünlerin üst kısımlarından yaklaşık 3 cm kesilmiş ve *in vitro* köklendirme çalışmaları için MS kültür ortamına 0,25-1 mg/L indol-3-asetik asit (IAA) ve naftalin asetik asit (NAA) eklenmiştir. Köklendirme denemeleri dört hafta sonra sonlandırılmıştır. Köklendirmiş bitkiler içerisinde su bulunan akvaryum ortamına aktarılmıştır. Akvaryum taban kısmına dere kumu dökülmüştür. Akvaryum ortamı termostat ile (Tetratec HT-100, 100W) $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ ayarlanmıştır. Aydınlatma için 16 saat beyaz flouresan (Roxin RX-500 12W) ışık kullanılmıştır. Dört hafta sonunda bitkilerin durumu gözlenmiştir.

Denemelerde her besin kabına 5 eksplant yerleştirilmiş ve 3 tekrarlı olarak denemeler yürütülmüştür. Verilerin analizi SPSS 21.0 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Post Hoc testlerinden Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi tercih edilmiş ve anlamlılık derecesi $p < 0,05$ olmak üzere kaydedilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada, TDZ'li sıvı ve katı kültür ortamlarında ve farklı LED aydınlatma koşullarında *A. reineckii* bitkisinin boğum eksplantlarının rejenerasyon kapasiteleri değerlendirilmiştir. Boğum eksplantlar bitki doku kültüründe önemli bir eksplant kaynağıdır. Benzer şekilde, boğum eksplantları *Rosa setigera* (Warhade & Badere, 2017), *Ipomoea purpurea* (L.) Roth (Acemi vd., 2018), *Staurogyne repens* (Nees) Kuntze (Kose vd., 2021) ve *Mansonia altissima* (Oseni vd., 2022) bitkilerinin *in vitro* üretiminde kullanılmıştır.

Agarla Katılaştırılmış MS Besin Ortamı Uygulamaları

Genel olarak TDZ konsantrasyonunun en düşük seviyede kullanıldığı (0,25 mg/L) kültür koşullarında daha yüksek rejenerasyon değerlerine ulaşılmıştır. Sürgün rejenerasyonu 0,25 mg/L TDZ uygulamasında 1K:2M LED ve mavi LED hariç diğer tüm ışık uygulamalarında %100 rejenerasyon değerlerine ulaşılmıştır (Tablo 1). Konsantrasyonu 0,50 mg/L TDZ olan uygulamasında %100 rejenerasyon frekansına 1K:2M LED ışık altında ulaşılmıştır. En düşük rejenerasyon değeri ise (%80) 1K:1M LED ışık altında belirlenmiştir. Sürgün rejenerasyonu 1 mg/L TDZ eklenmiş MS besin ortamında en yüksek %93,33 ile beyaz LED altında, en düşük ise %66,67 ile beyaz flouresan ışık altında tespit edilmiştir.

TDZ eklenmiş katı MS besin ortamında farklı ışık kaynaklarının eksplant başına düşen sürgün sayısı üzerine etkileri araştırılmıştır (Tablo 2). Tüm ışık uygulamaları kıyaslandığında en fazla sürgün sayıları 1K:2M LED ışık altında belirlenirken, en az sayıda sürgünler beyaz flouresan ışık altında belirlenmiştir. TDZ konsantrasyonlarına göre kıyaslandığında maksimum sürgünler 0,25 mg/L TDZ'li besiyerinde gözlemlenirken, en az miktarda sürgünler 1 mg/L TDZ'li besiyerinde elde edilmiştir. Sonuç olarak en yoğun sürgünler 9,03 sürgün/eksplant ile 1K:2M LED ışık altında 0,25 mg/L TDZ'li besiyerinde meydana gelmiştir (Şekil 1).

Tablo 1. Katı MS kültür ortamında farklı TDZ ve ışık uygulamalarının *A. reineckii*'nin sürgün rejenerasyon frekansı üzerine etkisi.

Işık uygulamaları	TDZ (mg/L)		
	0,25	0,50	1
2K:1M	100 ^a	86,67 ^{ab}	80 ^{ab}
1K:2M	93,33 ^a	100 ^a	86,67 ^{ab}
1K:1M	100 ^a	80 ^{ab}	73,33 ^{ab}
Beyaz LED	100 ^a	86,67 ^{ab}	93,33 ^a
Kırmızı LED	100 ^a	93,33 ^{ab}	80 ^{ab}
Mavi LED	93,33 ^a	86,67 ^{ab}	73,33 ^{ab}
Beyaz Flouresan	100 ^a	73,33 ^b	66,67 ^b

Sütunlardaki farklı harflere sahip değerler $p<0,05$ seviyesinde farklılık gösterir.

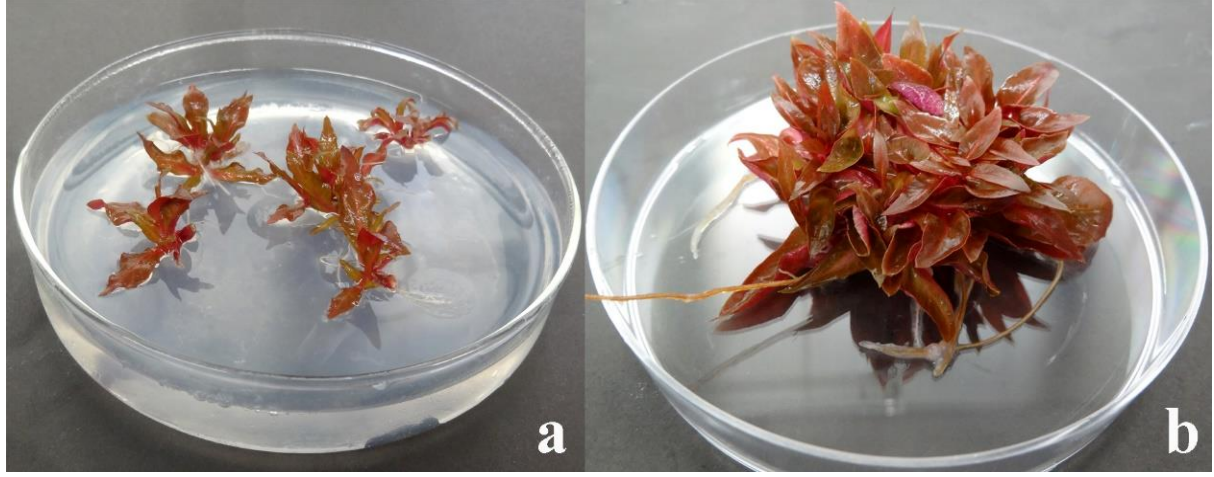
K: Kırmızı LED, M: Mavi LED

Tablo 2. Katı MS kültür ortamında farklı TDZ ve ışık uygulamalarının *A. reineckii*'nin eksplant başına sürgün sayısı üzerine etkisi.

Işık uygulamaları	TDZ (mg/L)		
	0,25	0,50	1
2K:1M	6,47 ^{bc}	5,98 ^{bc}	4,92 ^{bc}
1K:2M	9,03 ^a	8,20 ^a	6,51 ^a
1K:1M	5,83 ^c	4,95 ^{bc}	4,52 ^{bc}
Beyaz LED	7,93 ^{ab}	6,62 ^{ab}	5,55 ^{ab}
Kırmızı LED	6,20 ^{bc}	5,02 ^{bc}	4,47 ^{bc}
Mavi LED	6,35 ^{bc}	5,03 ^{bc}	3,86 ^c
Beyaz Flouresan	4,73 ^c	4,19 ^c	3,75 ^c

Sütunlardaki farklı harflere sahip değerler $p<0,05$ seviyesinde farklılık gösterir.

K: Kırmızı LED, M: Mavi LED



Şekil 1. TDZ içeren katı kültür ortamında *A. reineckii* boğum eksplantlarından sürgün rejenerasyonu. 0,25 mg/L TDZ ve 1K:2M LED ışık altında (a) kültürün üçüncü ve (b) altıncı haftasında rejenerasyon sürgünleri.

Farklı ışık uygulamaları ve TDZ konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri incelenmiştir (Tablo 3). En fazla sürgün uzunluğu (2,58 cm) 0,25 mg/L TDZ içeren konsantrasyonda 1K:2M LED ışık altında, ardından (2,54 cm) 0,25 mg/L TDZ içeren konsantrasyonda 1K:2M LED ışık altında tespit edilmiştir. Buna karşın en kısa sürgün uzunluğu ise 1 mg/L TDZ ilave edilmiş beyaz flouresan ışık altında (1,54 cm), ardından ise 0,50 mg/L TDZ ilave edilmiş beyaz flouresan ışık altında kaydedilmiştir (1,69 cm). Bu sonuçlara göre TDZ içeren besin ortamı için sürgün uzunluğuna en iyi etki eden LED ışık 1K:2M olurken, en az etki eden LED ise beyaz flouresan ışık olmuştur. TDZ konsantrasyonunun artması sürgün uzunluğunu olumsuz yönde etkilemiştir.

Tablo 3. Katı MS kültür ortamında farklı TDZ ve ışık uygulamalarının *A. reineckii*'nin sürgün uzunluğu üzerine etkisi.

Işık uygulamaları	TDZ (mg/L)		
	0,25	0,50	1
2K:1M	2,49 ^{ab}	2,34 ^b	2,11 ^b
1K:2M	2,58 ^a	2,54 ^a	2,32 ^a
1K:1M	2,10 ^c	1,83 ^{ef}	1,63 ^{cd}
Beyaz LED	2,38 ^b	2,12 ^{cd}	2,03 ^b
Kırmızı LED	2,06 ^c	1,95 ^{de}	1,79 ^c
Mavi LED	2,46 ^{ab}	2,19 ^{bc}	2,17 ^{ab}
Beyaz Flouresan	1,98 ^c	1,69 ^f	1,54 ^d

Sütunlardaki farklı harflere sahip değerler $p < 0,05$ seviyesinde farklılık gösterir.

K:Kırmızı LED, M:Mavi LED

Sıvı (agarsız) MS besin ortamı uygulamaları

Bu denemede, farklı TDZ içeren sıvı MS besin ortamında farklı ışık kaynaklarının sürgün rejenerasyon yüzdesi üzerine etkilerine bakılmıştır. Sürgün rejenerasyon değerleri $p < 0,05$ değerinde anlamlı çıkmıştır (Tablo 4). Maksimum sürgün rejenerasyon frekansı 0,25 mg/L TDZ'li kültür ortamında (%100) 2K:1M LED'lerde, 0,50 mg/L TDZ (%100) ve 1 mg/L TDZ (%66,67) içeren kültür ortamında ise 1K:2M LED'lerde saptanmıştır. Minimum rejenerasyon frekansları 0,25 mg/L TDZ içeren besin ortamında (%53,33) beyaz

flouresan ışık altında, 0,50 mg/L TDZ içeren besin ortamında (%60) beyaz LED ışıkta ve 1 mg/L TDZ'li besiyerinde (%40) 1K:1M LED, kırmızı LED ve beyaz flouresan ışık altında olduğu kaydedilmiştir.

Tablo 4. Sıvı MS kültür ortamında farklı TDZ ve ışık uygulamalarının *A. reineckii*'nin sürgün rejenerasyon frekansı üzerine etkisi.

Işık uygulamaları	TDZ (mg/L)		
	0,25	0,50	1
2K:1M	100 ^a	80 ^{ab}	53,33 ^{ab}
1K:2M	80 ^{ab}	100 ^a	66,67 ^a
1K:1M	80 ^{ab}	93,33 ^a	40 ^b
Beyaz LED	86,67 ^{ab}	60 ^b	53,33 ^{ab}
Kırmızı LED	66,67 ^{ab}	80 ^{ab}	40 ^b
Mavi LED	93,33 ^a	86,67 ^{ab}	46,67 ^{ab}
Beyaz Flouresan	53,33 ^b	73,33 ^{ab}	40 ^b

Sütunlardaki farklı harflere sahip değerler $p < 0.05$ seviyesinde farklılık gösterir.

K: Kırmızı LED, M: Mavi LED

Sıvı uygulamalarda, TDZ eklenmiş MS besin ortamında farklı ışık kaynaklarının eksplant başına sürgün sayısı üzerine etkileri incelenmiştir (Tablo 5). LED ışıkların uygulamalarının, beyaz flouresan ışık uygulamasına göre pozitif yönde istatistiksel olarak önemli etkileri görülmüştür ($p < 0,05$). Maksimum sürgünler 0,25 mg/L TDZ'li besiyerinde (8,44 sürgün/eksplant) 1K:2M LED ışıklı ortamda, 0,50 mg/L TDZ konsantrasyonunu içeren ortamda (11,62 sürgün/eksplant) 2K:1M LED ışıklı ortamda (Şekil 2) ve 1 mg/L TDZ içeren ortamda ise (7,83 sürgün/eksplant) 2K:1M LED ışıklı ortamda kaydedilmiştir. En kısa sürgünler ise tüm hormon oranları için beyaz flouresan ışık altında gözlemlenmiştir. Genel anlamda sürgün sayısı için en iyi büyüme düzenleyicisi 0,50 mg/L TDZ'li besiyerinde sırasıyla 2K:1M ve 1K:2M LED ışıklı ortamlar olduğu görülmüştür. Ayrıca LED ışıkların kombinasyon olarak kullanımı, tek kullanımlarına göre daha iyi sonuçlar vermiştir.

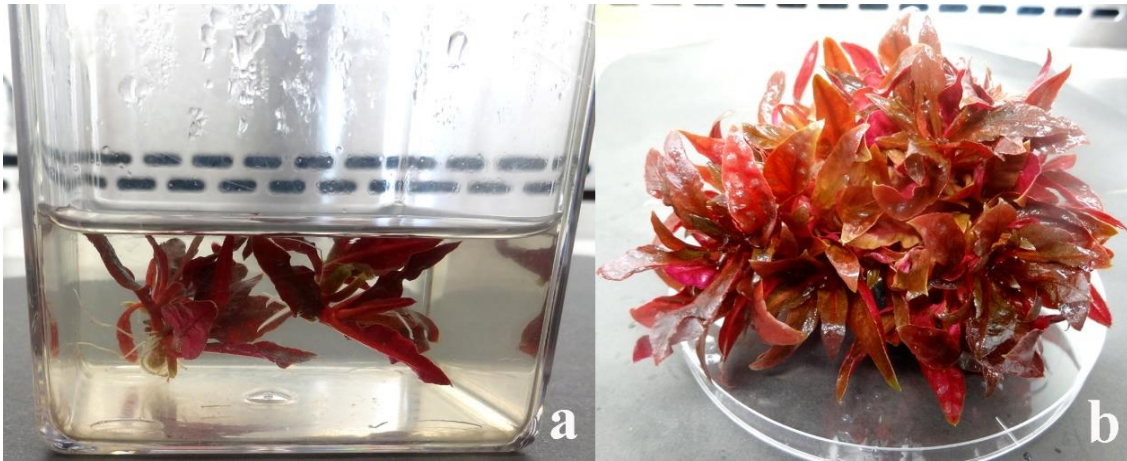
Sürgün uzunlukları yönünden TDZ'li MS besin ortamları ve farklı ışık uygulamaları karşılaştırılmıştır (Tablo 6). Sürgün uzunluk değerleri kontrol grubu uygulamalarına göre istatistiksel olarak önemli farklılıklar göstermiştir ($p < 0,05$). Maksimum sürgün uzunluğu 3,73 cm ile 0,25 mg/L TDZ içeren besin ortamında ve 1K:2M LED ışık altında belirlenmiştir. Bununla beraber 0,50 ve 1 mg/L TDZ li besin ortamlarında en uzun sürgünler 1K:2M LED ışık uygulamalarında tespit edilmiştir. En kısa sürgünler 0,25 mg/L TDZ'li besin ortamında beyaz LED uygulamasında belirlenirken, 0,50 ve 1 mg/L TDZ'li besin ortamlarında kırmızı LED ışık altında belirlenmiştir. Konsantrasyonlar kendi arasında karşılaştırıldığında TDZ içeriğinin kademeli olarak artırılması olumsuz yönde etki etmiş ve sayısal veriler de azalma olduğu gözlemlenmiştir. Sürgün uzunluğu üzerinde en iyi etkileri tüm LED ışıklarda 0,25 mg/L konsantrasyonunda belirlenmiştir.

Tablo 5. Sıvı MS kültür ortamında farklı TDZ ve ışık uygulamalarının *A. reineckii*'nin eksplant başına sürgün sayısı üzerine etkisi.

Işık uygulamaları	TDZ (mg/L)		
	0,25	0,50	1
2K:1M	8,33 ^a	11,62 ^a	7,83 ^a
1K:2M	8,44 ^a	10,13 ^{ab}	7,30 ^{ab}
1K:1M	6,27 ^{ab}	9,67 ^{ab}	7,17 ^{ab}
Beyaz LED	5,44 ^b	7,13 ^b	6,33 ^{ab}
Kırmızı LED	5,45 ^b	6,24 ^c	6,05 ^{ab}
Mavi LED	5,40 ^b	9,91 ^{ab}	5,50 ^b
Beyaz Flouresan	4,33 ^b	5,64 ^c	5,07 ^b

Sütunlardaki farklı harflere sahip değerler $p<0,05$ seviyesinde farklılık gösterir.

K: Kırmızı LED, M: Mavi LED



Şekil 2. TDZ içeren sıvı kültür ortamında *A. reineckii* boğum eksplantlarından sürgün rejenerasyonu. 0,50 mg/L TDZ ve 2K:1M LED ışık altında (a) kültürün üçüncü ve (b) altıncı haftasında rejenerasyon sürgünleri.

Tablo 6. Sıvı MS kültür ortamında farklı TDZ ve ışık uygulamalarının *A. reineckii*'nin sürgün uzunluğu üzerine etkisi.

Işık uygulamaları	TDZ (mg/L)		
	0,25	0,50	1
2K:1M	3,18 ^{ab}	2,79 ^{bc}	2,44 ^b
1K:2M	3,73 ^a	3,46 ^a	3,23 ^a
1K:1M	3,26 ^{ab}	3,10 ^{ab}	2,73 ^{ab}
Beyaz LED	2,87 ^b	2,75 ^{bc}	2,52 ^{ab}
Kırmızı LED	3,00 ^b	2,40 ^c	2,17 ^b
Mavi LED	3,03 ^{ab}	2,68 ^{bc}	2,16 ^b
Beyaz Flouresan	2,93 ^b	2,63 ^{bc}	2,33 ^b

Sütunlardaki farklı harflere sahip değerler $p<0,05$ seviyesinde farklılık gösterir.

K: Kırmızı LED, M: Mavi LED

Doku kültürü teknolojisine dayalı mikroçoğaltma, çok kısa sürede ve çok sınırlı bir alanda ve ayrıca tüm yıl boyunca, çok sayıda bitkinin çoğalmasına izin vermektedir (Abdalla vd., 2022). Mevcut çalışmamızda, sıvı ve katı kültür ortamlarında ve farklı LED ışıklar altında *A. reineckii*'nin mikroçoğaltımı başarıyla gerçekleştirilmiştir. Benzer şekilde mikroçoğaltım ile *Physalis peruviana* L. (Mascarenhas vd., 2019), *Physalis angulata* L. (de Jesús Romo-Paz vd., 2021), *Lilium candidum* (Patil vd., 2021), *Azadirachta indica* A. Juss (Bello vd., 2022) ve *Crataegus monogyna* Jacq. (Dinçer vd., 2023) bitkileri üretilmiştir.

Denemelerde farklı LED ışıklarının biyoteknolojik olarak üretimde etkinlikleri incelenmiştir. LED ışıklar güncel ışık kaynakları olup, doku kültürü ile üretimde ışık kaynakları olarak kullanılmaktadır. Denemelerde LED ışıklarının, *in vitro* üretim için etkili oldukları belirlenmiştir. Benzer şekilde Cioć vd. (2018) ortamdaki ışık kalitesi ve sitokin içeriğinin *Myrtus communis* L.'nin büyümesi, gelişmesi ve ikincil metabolit içeriği üzerindeki etkisini araştırmışlardır. LED'ler %100 mavi, %100 kırmızı, %70 kırmızı + %30 mavi olacak şekilde uygulamıştır. Kontrol olarak geleneksel bir flouresan lamba ile kullanılmıştır. Aksiller sürgünler 0,5 uM NAA ve farklı konsantrasyonlarda 6-benziladenin (BA): 1, 2,5 ve 5 uM içeren MS besin ortamına yerleştirilmiştir. Kültürler 6 hafta süreyle 23/21±1 °C (gündüz/gece) de, %80 bağıl nem ve 16/8 saat fotoperiyotta tutulmuştur. Uygulanan ışık spektrumları ve BA içeriği, biyometrik ve fitokimyasal olarak *M. communis*'un özelliklerini etkilemiştir. Kırmızı LED'ler ve 5 µM BA, en yüksek çoğaltma hızıyla sonuçlanmıştır. En yüksek sürgünler ortamdaki en düşük sitokin konsantrasyonu ile birlikte kırmızı LED'ler altında elde edilmiştir. Martínez-Estrada vd. (2016) *Anthurium andreaenum* Lind bitkisinin *in vitro* sürgün rejenerasyonu ve büyümesi üzerindeki LED'lerin etkilerini araştırmışlardır. Nodal eksplantlar 2 mg/L BAP ile desteklenmiş MS besiyerine alınmıştır. Tüm eksplantlar flouresan lambalar (545-610 nm), beyaz LED'ler (460 ve 560 nm), kırmızı LED'ler (660 nm), mavi LED'ler (460 nm) ve mavi + kırmızı LED'lerin kombinasyonu (460 ve 660 nm) ile 60 gün boyunca aydınlatmaya maruz bırakılmıştır. En çok adventif sürgün sayısı mavi + kırmızı LED'lerde gözlemlenirken, en fazla büyüme mavi LED'lerde elde edilmiştir. Kamal vd. (2020) *Brassica* cinsinin beş türünü temsil eden 21 çeşidin büyüme karakterizasyonu, besin bileşimi profilini, LED'ler altında değerlendirmişleridir. Bu bitki türleri dört farklı LED oranı (%) altında büyütülmüştür; Kırmızı:Mavi 80:20 ve 20:80 (K80:M20 ve K20:M80) veya kırmızı: yeşil: mavi 70:10:20 ve 20:10:70 (K70: Y10: M20 ve K20: Y10: M70). Sonuçlar, yeşil LED'lerle (K70: Y10: M20) ek aydınlatmanın bitkisel büyümeyi ve morfolojiyi artırdığını, mavi LED'lerin (K20: M80) ise mineral ve vitamin içeriklerini artırdığını göstermiştir. İlginç bir şekilde, optimum LED kurulumunu tanımlamak için besin içeriğini büyüme verimiyle ilişkilendirerek, mikro yeşil büyümeyi teşvik etmek için en iyi aydınlatmanın yeşil LED kombinasyonu olduğunu bildirilmiştir (K70: Y10: M20). Xu vd. (2019) *Cunninghamia* (*C.*) *lanceolata* bitkilerini farklı LED ışık uygulamaları altında doku kültürü tekniği ile kültüre almıştır. Kırmızı-mavi 4:1, 8:1 (4K:1M ve 8K:1M), kırmızı-mavi-mor 8: 1: 1 (8K1:M:1Mr) ve kırmızı-mavi-mor-yeşil 6: 1: 1:1 ve 8: 1: 1: 1 (6K:1M:1Mr:1Y ve 8K:1M:1Mr:1Y) olmak üzere farklı LED ışıkları altında denemeler kurulmuştur. Sonuçlar köklenme oranı, ortalama kök sayısı, kök uzunluğu, kök yüzey alanı ve kök aktivitesi 6K:1M:1Mr:1Y ve 8K:1M:1Mr:1Y LED ışıklarında 4K1M ve 8K1M kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Yürütülen bir çalışmada, bitkilerin doku kültürü koşullarında ışık kaynağı olarak kullanılan mevcut beyaz floresan lambalara alternatif olarak ışık yayan diyot bazlı bir kültür düzeneği geliştirilmiştir. LED ışıkları altında yetiştirilen *in vitro* yetiştirilen *Swertia chirayita* bitkileri, flouresan altında büyüyen bitkilerle karşılaştırıldığında daha yüksek sürgün biyokütlesi ve ikincil metabolit birikimi göstermiştir. LED ışıklar deneyinde, kırmızı LED maksimum biyokütle birikimi (3,56 ± 0,04 g/L) gösterirken ve mavi LED ışık maksimum amarogentin içeriği, toplam fenolikleri, toplam

flavonoidler ve DPPH radikal temizleme aktivitesi göstermiştir (Gupta & Sood, 2023). Araújo vd. (2022) LED aydınlatma koşullarının ve kültür ortamlarının (MS ve MRA) *Adenium obesum* tohum çimlenmesi, fidelerin ilk *in vitro* büyümesi ve fotosentetik pigmentlerin ve çözünür şekerlerin üretimi üzerindeki etkisini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Çalışma, MRA ortamıyla birleştirilmiş kırmızı LED ışığının ve MS ortamıyla birleştirilmiş mor LED'in, en yüksek çimlenme oranlarını ve en düşük ölüm oranlarını teşvik eden önemli bir etkisini gösterdiği görülmüştür. *A. obesum* fidelerinin en iyi başlangıç *in vitro* gelişimi, her iki kültür ortamında da kırmızı LED altında meydana gelmiştir.

In vitro koşullarda üretilen bitkilerin köklendirmesi işlemleri farklı konsantrasyonlarda (0,25-1 mg/L) IAA ve NAA ile gerçekleştirilmiştir. Genel olarak her iki oksin uygulamasında da başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Bununla beraber, kök sayısı bakımından IAA daha iyi sonuçlar verirken, NAA kök uzunlukları yönünden daha iyi sonuçlar göstermiştir. Köklendirilen bitkilerin dış koşullara alıştırılması *in vitro* üretimin son aşaması olup, oldukça önemli bir uygulamadır. Doku kültürü koşullarında üretilen *A. reineckii* bitkileri akvaryum koşullarına başarıyla şekilde alıştırılmıştır.

SONUÇ

A. reineckii'nin mikroçoğaltımı sürecinde, LED ışıkların flouresan ışığa göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Genel olarak en çok sürgün sayısı ve en uzun sürgünler kırmızı ve mavi LED ışıkların kombinasyonlarında elde edilmiştir. Katı kültür ortamında maksimum sürgün sayısı (9,03 sürgün/eksplant) 0,25 mg/L TDZ'li kültürlerde 1K:2M LED ışıkta gözlemlenirken, sıvı kültür ortamında maksimum sürgün sayısı (11,62 sürgün/eksplant) 0,50 mg/L TDZ'li kültürde ve 2K:1M LED altında gözlemlenmiştir. En uzun sürgünler katı kültürler (2,58 cm) ve sıvı kültürlerde (3,73 cm) 1K:2M LED uygulamasında ve 0,25 mg/L TDZ'li MS besin ortamında ulaşılmıştır. *A. reineckii*'nin *in vitro* çoklu üretimi başarıyla ortaya konmuştur. İlerleyen çalışmalarda farklı renkte LED ışıklar (sarı, yeşil gibi) ile yeni denemeler kurulabilir ve yine bu bitki ile gen aktarım çalışmaları yürütülebilir.

Teşekkür

Bu çalışma, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiş (Proje No: 12-YL-20) olup, Muhammet Doğan danışmanlığında, Ümmügülsüm Ekin'nin yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, bu makale ile ilgili başka kişi veya kurumlar ile çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKÇA

- Abdalla, N., El-Ramady, H., Seliem, M. K., El-Mahrouk, M. E., Taha, N., Bayoumi, Y., ... Dobránszki, J. (2022). An academic and technical overview on plant micropropagation challenges. *Horticulturae*, 8(8), 677.
- Acemi, A., Bayrak, B., Çakır, M., Demiryürek, E., Gün, E., El Gueddari, N. E., ... Özen, F. (2018). Comparative analysis of the effects of chitosan and common plant growth regulators on *in vitro* propagation of *Ipomoea purpurea* (L.) Roth from nodal explants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 54, 537-544.
- Al Murad, M., Razi, K., Jeong, B. R., Samy, P. M. A., & Muneer, S. (2021). Light emitting diodes (LEDs) as agricultural lighting: Impact and its potential on improving physiology, flowering, and secondary metabolites of crops. *Sustainability*, 13(4), 1985.

- Araújo, R. C., Rodrigues, F. A., Dória, J., & Pasqual, M. (2022). *In vitro* germination of *Adenium obesum* under the effects of culture medium and light emitting diodes of different colors. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 149(3), 523-533.
- Bello, A. M., Kamali Aliabad, K., Saravi, A. T., & Sodaei Zade, H. (2022). Determination of the Best Culture Medium and plant growth regulators for micropropagation of Neem Tree (*Azadirachta indica* A. Juss). *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 9(2), 237-245.
- Choudhary, A. K., Kumari, P., & Kumari, S. (2022). *In vitro* propagation of two commercially important bamboo species (*Bambusa tulda* Roxb. and *Dendrocalamus stocksii* Munro.). *African Journal of Biotechnology*, 21(2), 83-94.
- Cioć, M., Szewczyk, A., Żupnik, M., Kalisz, A., & Pawłowska, B. (2018). LED lighting affects plant growth, morphogenesis and phytochemical contents of *Myrtus communis* L. *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 132, 433-447.
- de Jesús Romo-Paz, F., Folgado, R., Delgado-Aceves, L., Zamora-Natera, J. F., & Portillo, L. (2021). Tissue culture of *Physalis angulata* L.(Solanaceae): techniques for micropropagation and germplasm long-term preservation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 144, 73-78.
- Dinçer, D., Bekiryazıcı, F., DüNDAR, H., & Ögçe, H. (2023). Germination and Micropropagation of *Crataegus monogyna* Jacq. Seeds by Tissue Culture Method. *Forest Science*, 69(2), 178-186.
- Djangalina, E. D., Kapytina, A. I., Kaigermazova, M. A., Mamirova, A. A., & Shadenova, E. A. (2023). Influence of light-emitting diodes on the efficiency of valuable woody plants micropropagation. *International Journal of Biology and Chemistry*, 16(1), 49-57.
- Dogan, M. (2020). The effectiveness of light emitting diodes on shoot regeneration *in vitro* from shoot tip tissues of *Limnophila aromatica* (Lamk.) Merr. and *Rotala rotundifolia* (Buch-Ham. ex Roxb) Koehne. *Biotechnic & Histochemistry*, 95(3), 225-232.
- Dogan, M. (2022). *In vitro* micropropagation of *Pogostemon erectus* (Dalzell) Kuntze in liquid culture medium. *Natural and Engineering Sciences*, 7(1), 80-88.
- Dogan, M., & Emsen, B. (2018). Anti-cytotoxic-genotoxic influences of *in vitro* propagated *Bacopa monnieri* L. Pennell in cultured human lymphocytes. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 1(2), 48-53.
- Gupta, R., & Sood, H. (2023). Emerging technologies for the production of *in vitro* raised quality rich *Swertia chirayita* by using led lights. *Sustainability*, 15(2), 1714.
- Haque, M. I., Singh, P. K., Ghuge, S., Kumar, A., Rai, A. C., Kumar, A., & Modi, A. (2022). A general introduction to and background of plant tissue culture: Past, current, and future aspects. In *Advances in Plant Tissue Culture* (pp. 1-30). Academic Press.
- Ioannidis, K., Tomprou, I., Panayiotopoulou, D., Boutsios, S., & Daskalaku, E. N. (2023). Potential and constraints on *in vitro* micropropagation of *Juniperus drupacea* Labill. *Forests*, 14(1), 142.

- Kamal, K. Y., Khodaeiaminjan, M., El-Tantawy, A. A., Moneim, D. A., Salam, A. A., Ash-shormillesy, S. M., ... Ramadan, M. F. (2020). Evaluation of growth and nutritional value of Brassica microgreens grown under red, blue and green LEDs combinations. *Physiologia Plantarum*, 169(4), 625-638.
- Kose, M. S. H., Dogan, M., & Sadi, G. (2021). Enhanced *in vitro* shoot proliferation through nodal explants of *Staurogyne repens* (Nees) Kuntze. *Biologia*, 76(3), 1053-1061.
- Kumar, A., Chauhan, S., Rattan, S., Warghat, A. R., Kumar, D., & Bhargava, B. (2022). In vitro propagation and phyto-chemical assessment of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.: An orchid of pharma-horticultural importance. *South African Journal of Botany*, 144, 261-269.
- Lim, M. J., Murthy, H. N., Song, H. Y., Lee, S. Y., & Park, S. Y. (2023). Influence of white, red, blue, and combination of led lights on *in vitro* multiplication of shoots, rooting, and acclimatization of *Gerbera jamesonii* cv. 'Shy Pink' Plants. *Agronomy*, 13(9), 2216.
- Longchar, T. B., & Deb, C. R. (2022). Optimization of in vitro propagation protocol of *Dendrobium heterocarpum* Wall. ex. Lindl. and clonal genetic fidelity assessment of the regenerates: An orchid of horticultural and medicinal importance. *South African Journal of Botany*, 149, 67-78.
- Martinez, L. A. M., & Andreu, L. G. I. (2022). Effect of LED lights on the *in vitro* growth of *Pinus pseudostrobus* Lindl., plants. *Journal of Forest Science*, 68(8), 311-317.
- Martínez-Estrada, E., Caamal-Velázquez, J. H., Morales-Ramos, V., & Bello-Bello, J. J. (2016). Light emitting diodes improve in vitro shoot multiplication and growth of *Anthurium andreanum* Lind. *Propagation of Ornamental Plants*, 16(1), 3-8.
- Mascarenhas, L. M. S., Santana, J. R. F. D., & Brito, A. L. (2019). Micropropagation of *Physalis peruviana* L. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 49, e55603.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- Oseni, O. M., Nailwal, T. K., & Pande, V. (2022). Callus induction and multiple shoot proliferation from nodal explants of *Mansonia altissima*: confirmation of genetic stability using ISSR and RAPD markers. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 58(3), 479-488.
- Papafotiou, M., Vlachou, G., & Martini, A. N. (2023). Investigation of the effects of the explant type and different plant growth regulators on micropropagation of five mediterranean *Salvia* spp. Native to Greece. *Horticulturae*, 9(1), 96.
- Patil, A. M., Gunjal, P. P., & Das, S. (2021). In vitro micropropagation of *Lilium candidum* bulb by application of multiple hormone concentrations using plant tissue culture technique. *International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*, 8(2), 244-253.
- Schuerger, A. C., Brown, C. S., & Stryjewski, E. C. (1997). Anatomical features of pepper plants (*Capsicum annum*L.) grown under red light-emitting diodes supplemented with blue or far-red light. *Annals of Botany*, 79(3), 273-282.

- Singh, A. (2015). Micropropagation of plants. *Plant biology and biotechnology: volume II: plant genomics and biotechnology*, 329-346.
- Türker, A. H., & Hatipoğlu, R. (2018). Dağ kekiği (*Origanum syriacum* L. var. *bevanii* (Holmes) Ietswaart)'nin mikroçoğaltımı. *Ormancılık Araştırma Dergisi*, 5(2), 97-111.
- Uğur, K., Doğan, M., & Kaya, A. (2019). *Alternanthera reineckii* Briq.'nin doku kültürü çalışmaları için yüzey sterilizasyonunun optimizasyonu. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 2(1), 24-28.
- Warhade, M. I., & Badere, R. S. (2017). Seasonal variation in the shoot-regeneration potential of the nodal explants of *Rosa setigera*. *The Journal of Indian Botanical Society*, 96(3-4), 188-197.
- Xu, Y., Liang, Y., & Yang, M. (2019). Effects of composite LED light on root growth and antioxidant capacity of *Cunninghamia lanceolata* tissue culture seedlings. *Scientific reports*, 9(1), 9766.

How to cite this article/Bu makaleye atıf için:

- Ekin, Ü., & Doğan, M. (2023). Katı ve sıvı kültür ortamlarında led aydınlatmanın *Alternanthera reineckii* Briq.'nin mikroçoğaltımı üzerine etkisi. *DÜSTAD-Dünya Sağlık ve Tabiat Bilimleri Dergisi*, 6(2), 64-75. <https://doi.org/10.56728/dustad.1331231>